



Université kasdi Merbah Ouargla
Faculté des Sciences Appliquées
Département de Génie des Procédés



Domaine: Sciences et Techniques

Filière: Génie des Procédés

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Génie des Procédés

Option: Génie de l'Environnement

Présenté par: M^{elle}. Siham MEFLAH

Thème

Caractérisation des huiles essentielles de *Citron* (Feuilles, Fruits) de la Région d'Ouargla

Soutenu publiquement le 06/06/2015

Devant le Jury

Mr. Mohamed Hassen SELLAMI	MCB	Président
M^{elle}. Souad ZIGHMI	MAA	Examinatrice
Mr. Segni LADJEL	Pr	Encadreur

Année universitaire 2014/2015

Remerciements

En tout premier lieu, je remercie Dieu de m'avoir donné la force, le courage et la volonté pour réaliser ce travail

Je tiens à remercier le Professeur LADJEL Segni, le promoteur de ce mémoire, pour avoir encadré ce travail. Je tiens à vous remercier pour votre disponibilité, et vos précieux conseils qui m'ont fait progresser

J'adresse mes remerciements aux membres de Jury Mr. Mohamed Hassen SELLAMI et M^{elle} Souad Zighmi qui me font l'honneur de juger ce mémoire.

Je tiens à remercier le personnel de laboratoire de recherche de Génie des Procédés pour leur soutien et leurs conseils

Je tiens également à remercier le personnel du laboratoire de microbiologie à l'hôpital Mohamed Boudiaf pour m'avoir facilité la tâche de réaliser les tests microbiologiques.

Je remercie également mes enseignants pour leurs efforts durant toutes mes années d'étude à l'université et pour leurs soutiens durant la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à remercier le staff administratif du Département de Génie des procédés pour leur souplesse et gentillesse pendant toute la période de mes études.

Je remercie le propriétaire de l'exploitation agricole de Hassi El Kheffif – N'goussa- Ouargla, Mr. Meftah SOUCI pour l'accueil, l'hospitalité et la disponibilité.



Je dédie ce travail à

Mes chers parents

Mes chères sœurs et frères

Toute ma famille

Tous les proches de mon cœur

الملخص:

هذا العمل يتناول دراسة الزيوت الطيارة لشجرة الليمون (الأوراق والثمار) والمتواجدة بمنطقة حاسي الخفيف- بلدية أنقوسة - ورقلة.

عملية استخلاص الزيوت الطيارة والتي تمت بطريقة التقطير المائي، أعطت مردودا بنسبة 1.22% للأوراق و0.33% للثمار.

نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية مطابقة للمعايير الدولية AFNOR.

الفعالية المضادة للبكتيريا *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603),

Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922),
Staphylococcus aureus (ATCC 25923) et *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

أعطت قدرة تثبيطية جد هامة.

الفعالية المضادة للأكسدة تجاه الجذر DPPH أثبتت القدرة التثبيطية الهامة لأوراق الليمون

الكلمات المفتاحية: الليمون، الزيوت الطيارة، الفعالية المضادة للبكتيريا، الفعالية المضادة للأكسدة

Résumé

Ce travail se base principalement sur une étude de caractérisation des huiles essentielles de *Citron* (Feuilles et Fruits) cultivés de la région de Hassi El- kheffif à la commune de N'goussa - Ouargla.

L'extraction des huiles essentielles réalisée par hydrodistillation a donné un rendement pour les feuilles de 1.22 % et pour les fruits de 0.33%.

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'huile essentielle sont conformes avec les normes AFNOR.

Le pouvoir antibactérien vis à vis des souches, *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

a donné une inhibition très importante.

L'activité antioxydante vis-à-vis le DPPH a montré un pouvoir très important des Feuilles de *Citron*

Mots-clés : Citron, Huile essentielle, Activité antibactérienne, activité antioxydante

Sommaire

	Page
Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Préambule (historique du sujet)	III
Introduction générale	01

Partie théorique

I. Systématique botanique	03
II. Techniques d'extraction des huiles essentielles	07
II.1. Hydrodistillation	07
II.2. Entraînement à la vapeur	08
II.3. Hydrodiffusion	09
II.4. Expression froid.....	09
II.5. Enfleurage	10
II.6. Extraction au CO ₂ supercritique	11
II.7. Extraction assistée par micro-ondes	12
III. Méthodes physico-chimique d'identification	14
IV. Marché des huiles essentielles	16

Partie pratique

I. Matériels utilisés	19
II. Extraction des huiles essentielles de <i>Citron</i>	20
II.1.1. Récolte de la plante	20
II.1.2. Protocole d'extraction	21
III. Analyse physico-chimique des huiles essentielles <i>Citron</i>	23
III.1. Rendement	23
III.2. pH	24
III.3. Densité	24
III.4. Indice de réfraction	24
III.5. Indice d'acide	25

IV. Activité antibactérienne	27
IV.1. Aromatogramme	27
IV.2. Mode opératoire	28
V. Activité antioxydante des huiles extraites	30
V.1. DPPH	30
V.2. Principe de la méthode	30
VI. Résultats et discussions	34
Conclusion générale	40
Références bibliographie	41

Liste des figures

N°	Figure	Page
01	Systématique botanique de <i>Citron</i>	06
02	Alambic d'hydrodistillation	07
03	Alambic d'entraînement à la vapeur	08
04	Expression à froids des agrumes	09
05	Procédé d'enfleurage	10
06	Procédé d'extraction au CO ₂ supercritique	11
07	La distillation par micro- ondes	12
08	L'extraction par micro-ondes combinant l'hydrodiffusion et la gravité .	13
09	Récolte de la plante	20
10	Montage d'hydrodistillation	21
11	Protocole d'extraction par hydrodistillation	22
12	Détermination du rendement	23
13	Détermination du pH	24
14	Densimètre	24
15	Réfractomètre	24
16	Montage - Indice d'acide	25
17	Détermination de l'indice d'acide	26
18	Aromatogramme	27
19	Protocole des tests microbiologiques effectués au laboratoire de microbiologie	29
20	Absorbance de DPPH par spectrophotométrie	30
21	Réaction du DPPH• avec un antioxydant	31
22	Matériel et réactifs pour le test au DPPH	31
23	Test de piégeage DPPH	32
24	La lecture des absorbances des échantillons	33
25	Diamètre des zones d'inhibition	35
26	Activité antibactérienne des huiles essentielles de Citron, (Feuilles et fruits)	36
27	Pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en huile essentielle des feuilles	37
28	Pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en huile essentielle des fruits	37
29	Activité antioxydante des huiles essentielles de Citron, (Feuilles et fruits)	38

Liste des tableaux

N°	Tableau	Page
01	Marché mondial des huiles essentielles	16
02	les plus importantes huiles essentielles dans le monde	17
03	propriétés organoleptiques des huiles essentielles de <i>Citron</i>	34
04	Résultats d'analyse physico-chimique des huiles essentielles de <i>Citron</i> .	34
05	Sensibilité des bactéries vis-à-vis les huiles essentielles de <i>Citron</i>	36

Historiques du sujet

- 1- ORLANDO CAMPOLO, ANTONINO MALACRINÒ, LUCIA ZAPPALÀ, FRANCESCA LA UDANI, ELEONORA CHIERA, DEMETRIO SERRA, MARIATERESA RUSSO VINCENZO PALMERI, *Fumigant bioactivity of five Citrus essential oils against Tribolium confusum*, phytoparasitica, **2014**, 233-233
- 2- KEHAL Farida, *Utilisation de l'huile essentielle de Citrus limon comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraîche*, I.N.A.T.A.A, Constantine, **2013**.
- 3- EIRINI SARROU, PASCHALINA CHATZOPOULOU, KORTESSA DIMASSI-THERIOU AND IOANNIS THERIOS, *Volatile Constituents and Antioxidant Activity of Peel, Flowers and Leaf Oils of Citrus aurantium L. Growing in Greece*, MOLECULES ISSN 1420-3049, **2013**
- 4- R. Badr Al-Deen; B. Al-Oklah and L. Al-Amir, *Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils extracted from citrus fruit peels*, National Commission for Biotechnology, Damascus, Syria, **2012**.
- 5- MARIA FURNERI, LUIGI MONDELLO, GIUSEPPINA MANDALARI, DONATELLA PIO PAULINO, PAOLA DUGO, ADRIANA GAROZZO GIUSEPPE BISIGNANO, *In vitro antimycoplasmal activity of citrus bergamia essential oil and its major components* European Journal of Medicinal Chemistry, **2012**
- 6- PARVIZ ABEROUMAND AZAR, MEHDI NEKOEI, KAMBIZ LARIJANI and SAKINEH BAHRAMINASAB, *Chemical composition of the essential oils of Citrus sinensis cv. Valencia and a quantitative structure-retention relationship study for the prediction of retention indices by multiple linear regression*, Department of Chemistry, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran and 2Department of Chemistry, Shahrood branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran, **2011**
- 7- Masayoshi Sawamura, Yuji Onishi, Junko Ikemoto, Nguyen Thi, Minh Tu Nguyen Thi Lan Phi Characteristic odour components of bergamot (Citrus bergamia Risso) essential oil, *Flavour and Fragrance Journal* **2006** 21 (4), 609-615
- 8- Tanizawa H, Ohkawa Y, Takino Y, Miyase T, Ueno A, Kageyama T, Hara S, *Studies on natural antioxidants in citrus species. I. Determination of antioxidative activities of citrus fruits*, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Japan. Chemical & Pharmaceutical Bulletin [1992, 40 (7):1940-1942]

Préambule

Historiques du sujet

- 1- ORLANDO CAMPOLO, ANTONINO MALACRINÒ, LUCIA ZAPPALÀ, FRANCESCA LAUDANI, ELEONORA CHIERA, DEMETRIO SERRA, MARIATERESA RUSSO VINCENZO PALMERI, *Fumigant bioactivity of five Citrus essential oils against Tribolium confusum*, phytoparasitica, **2014**, 233-233
- 2- KEHAL Farida, *Utilisation de l'huile essentielle de Citrus limon comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraîche*, I.N.A.T.A.A, Constantine, **2013**.
- 3- EIRINI SARROU, PASCHALINA CHATZOPOULOU, KORTESSA DIMASSI-THERIOU AND IOANNIS THERIOS, *Volatile Constituents and Antioxidant Activity of Peel, Flowers and Leaf Oils of Citrus aurantium L. Growing in Greece*, MOLECULES ISSN 1420-3049, **2013**
- 4- R. Badr Al-Deen; B. Al-Oklah and L. Al-Amir, *Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils extracted from citrus fruit peels*, National Commission for Biotechnology, Damascus, Syria, **2012**.
- 5- MARIA FURNERI, LUIGI MONDELLO, GIUSEPPINA MANDALARI, DONATELLA PIO PAOULINO, PAOLA DUGO, ADRIANA GAROZZO GIUSEPPE BISIGNANO, *In vitro antimycoplasmal activity of citrus bergamia essential oil and its major components* European Journal of Medicinal Chemistry, **2012**
- 6- PARVIZ ABEROUMAND AZAR, MEHDI NEKOEI, KAMBIZ LARIJANI and SAKINEH BAHRAMINASAB, *Chemical composition of the essential oils of Citrus sinensis cv. Valencia and a quantitative structure-retention relationship study for the prediction of retention indices by multiple linear regression*, Department of Chemistry, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran and 2Department of Chemistry, Shahrood branch, Islamic Azad University, Shahrood, Iran, **2011**
- 7- Masayoshi Sawamura, Yuji Onishi, Junko Ikemoto, Nguyen Thi, Minh Tu Nguyen Thi Lan Phi Characteristic odour components of bergamot (Citrus bergamia Risso) essential oil, *Flavour and Fragrance Journal* **2006** 21 (4), 609-615
- 8- Tanizawa H, Ohkawa Y, Takino Y, Miyase T, Ueno A, Kageyama T, Hara S, *Studies on natural antioxidants in citrus species. I. Determination of antioxidative activities of citrus fruits*, School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Japan. Chemical & Pharmaceutical Bulletin [**1992**, 40 (7):1940-1942]

Introduction générale

Une plante est dite aromatique quand elle contient des substances odorantes volatiles appelées « l'huile essentielle » que l'on peut obtenir suivant des techniques d'extractions connues.

Les plantes aromatiques sont utilisées dans la cuisine, l'industrie alimentaire, la cosmétique et la parfumerie où leur saveur et leur odeur sont appliquées [1].

Ces plantes, sont appelées aromatiques et médicinales si leur usage est dans le but de se soigner grâce aux propriétés de ses huiles essentielles comme principe actif médicamenteux, c'est-à-dire elles possèdent une action thérapeutique [2].

L'objectif principal visé par ce travail est la mise en valeur d'une plante aromatique et médicinale très connue et largement utilisé ; c'est le *Citronnier*, et en particulier, le *Citronnier* de la région de Hassi El Kheffif, la commune de N'goussa-Ouargla, en caractérisant les deux huiles essentielles de la plante, partie feuilles et partie fruits. Afin de déterminer leur composition et d'évaluer leur pouvoir biologique pour bénéficier de cette plante médicinale dans la pharmacie, la cosmétique, l'industrie alimentaire et dans la lutte biologique.

Ce présent document est présenté en deux parties, une théorique et l'autre pratique.

On a commencé notre travail par une présentation de la systématique botanique de la plante étudiée

Deuxièmement, on a parlé des différentes méthodes et techniques d'extraction des huiles essentielles.

Troisièmement on a présenté les méthodes physico-chimiques d'analyses appliquées aux huiles essentielles.

En fin de cette partie théorique, on a fait une étude technico-économique (marché des huiles essentielles dans le monde)

Dans la partie expérimentale on a extrait les huiles essentielles de *Citron*; ensuite on a établi les analyses physico-chimiques; puis on a évalué leur activité biologique (activité anti bactérienne et activité antioxydante).

Enfin, présentation de nos résultats et discussions. On termine notre travail avec une conclusion générale et quelques recommandations.

Partie théorique

I. Systématique botanique

I.1. Systématique:

I.1.1.Ordre, famille.

Le Citronnier appartient à la famille des *Rutaceae*, ordre des *Térébenthales*. Les *Térébenthales* ont des fleurs à disque nectarifère intra-staminal (Disciflores) [3].

Les *Rutaceae* s'identifient par la présence, sur leurs organes aériens, de poches sécrétrices de type Schizolysigène. Certaines *Rutaceae* sont des herbacées à petites baies et au goût poivré dont la plupart sont des arbres odoriférants, à fruits juteux comme le citron. Ils constituent la sous-famille des *Aurantioideae*.

Le caractère distinctif de la sous-tribue des *Citrinae* ou Hespéridées est le fruit appelé Hespéridie: Les parois de ses loges sont garnies de poils vésiculaires, se développant dans la cavité ovarienne en sacs remplis de grosses cellules à paroi mince et contenant le jus. Ce nom est issu de la mythologie grecque où les trois nymphes du couchant aux voix claires, appelées Hespérides, veillaient sur les "Pommes d'or" du verger des Dieux.

Les trois genres *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus* regroupent les plantes fruitières exotiques couramment appelées Agrumes.

I.1.2. Genre et espèce

Le citronnier appartient au genre *Citrus* qui se caractérise par:

- Des petits arbres épineux,
- Des feuilles à une foliole dont le limbe est articulé sur un pétiole plus ou moins ailé,
- Des fleurs à l'aisselle des feuilles, avec un calice odorant à 4 ou 5 sépales, des étamines 4 à 10 fois plus nombreuses que les pétales, un disque nectarifère et un ovaire de 8 à 18 loges et 4 à 8 ovules par loges.

Il peut être cité sous d'autres synonymes comme *Citrus limonum* Risso, *Citrus medica* Linné, v. *limonum*, mais aussi sous divers noms vernaculaires comme limone en italien, lemon en anglais, zitrone en allemand, lymon et limoun en arabe [4].

I.1.3. Variétés

Les variétés de citronnier les plus exploitées sont sélectionnées selon un ou plusieurs de ces trois critères :

- Le rendement en fruits,
- La qualité du jus de citron,
- La résistance de l'arbre aux principales maladies parasitaires.

Les cinq principales variétés de *Citrus limon* (L.) Burman sont : *Euréka* ou des 4 saisons, *Lisbon*, *Femminello*, *Monachello* et *Verna*.

I.2-Description morphologique

2.1. L'arbre

Le citronnier est un arbre de petite taille (3 à 5 m), vigoureux, affectionnant les sols non calcaires sous un climat humide et chaud. Sa longévité naturelle peut approcher les 200 ans, mais en culture, son existence d'arbre productif se limite à 50 - 60 ans.

Les racines principales sont fortement pivotantes et s'enfoncent à plus de 1,5 m; les secondaires sont toutes proches de la surface du sol, entre 15 et 80 cm sous terre.

Le tronc est court et d'un bois dense, jaune veiné.

La frondaison est formée d'une succession de demi-sphères superposées. Son développement s'effectue de trois manières :

1- en trois flux végétatifs, le plus important au printemps, en été et au début de l'automne.

2- le citronnier émet aisément, sur ses branches âgées, des rameaux ou gourmands qui se développent verticalement du fait de la dominance apicale ; ils dépassent alors la frondaison et constituent un nouvel étage [4].

3- des bourgeons adventifs latents, d'origine endogène, existent sur les branches et permettent de régénérer la charpente d'un arbre endommagé.

L'ensemble des caractères des feuilles d'agrumes permet l'identification des genres et espèces. La feuille de citronnier a une foliole. Elle est lancéolée, persistante contrairement au genre *Poncirus*, de couleur verte, brillante sur la face supérieure, constellée de petites glandes riches en huile essentielle et peu nervurée. Le pétiole est articulé au limbe et contrairement aux autres agrumes, très faiblement ailé.

Les fleurs se situent à l'aisselle des feuilles et en bouquets sur les rameaux courts de l'année. La corolle, dite dialypétale, est constituée de 5 pétales, épais et libres, blancs bordés de pourpre, très odorants par leur huile essentielle très recherchée en parfumerie. Le calice, en cloche, est formé de 5 sépales, verts, soudés. Les étamines sont généralement en nombre supérieur à 4 fois celui des pétales. Leurs filets sont soudés à la base en un verticille contenant le disque nectarifère sur lequel est fixé l'ovaire. Ce dernier est pluriloculaire, avec 8 à 12 carpelles entièrement indépendants qui deviendront autant de quartiers dans le fruit. L'ovaire se prolonge par un style de diamètre inférieur à celui du stigmate, comparativement gros. La floraison est dite remontante : en toute saison, des fleurs s'épanouissent alors que les fruits de l'année précédente sont encore parfois sur l'arbre.[4]

2.2. Le Citron

Le fruit du citronnier est une baie cortiquée. Cet agrume de taille moyenne (5 à 10 cm) est dit "limoniforme", c'est-à-dire, ovoïde et avec, à l'extrémité stylaire, un mamelon souvent cerné d'une dépression circulaire, sans persistance d'aucune pièce florale.

La peau du citron est appelée écorce ou zeste. Elle est brillante et d'une couleur variant du vert au jaune vif selon la maturité du fruit. Elle est utilisée pour son arôme et son amertume dans les préparations culinaires et pharmaceutiques, ou en parfumerie. Le zeste se développe à partir des parois externe et moyenne des carpelles floraux. Elle est constituée par le flavédo comprenant l'épicarpe et le mésocarpe externe, et l'albédo ou mésocarpe interne.

L'épiderme interne des carpelles floraux est à l'origine de l'endocarpe ou pulpe. Elle est formée d'un ensemble de poils vésiculeux, à paroi mince, contenant un jus plus ou moins acide, et groupés en 8 à 12 quartiers séparables les uns des autres.

Les pépins, fusiformes, proviennent des deux rangs d'ovules. Ils sont blancs, à un seul embryon et le plus souvent exalbuminés. Un principe amer, la lémonine, et une huile grasse en sont extraits.

La figure suivante résume la classification botanique de la plante étudiée:

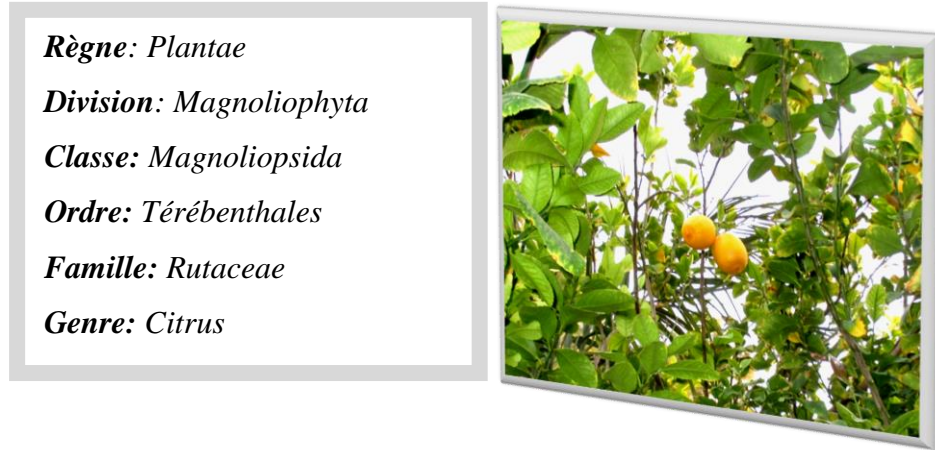


Fig.1. Systématique botanique de *Citron*

II. Techniques d'extraction

II. Techniques d'extraction des huiles essentielles:

Plusieurs techniques et procédés d'extraction ont été employés depuis longtemps et autres ont été développées pour obtenir les huiles essentielles:

II.1. Hydrodistillation:

Est l'un des procédés les plus simples et le plus ancien. Il repose sur le fait que la plupart des matières odorantes peuvent être entraînées à la vapeur d'eau. L'appareil utilisé est un alambic, (voir Fig.2) où la partie végétale est mélangée à l'eau. L'ensemble est porté à ébullition [5,6].

Sous l'action de la chaleur, les cellules des végétaux éclatent et libèrent des composés organiques odorants et volatils. La vapeur d'eau formée entraîne les composés organiques à l'état gazeux vers le col de cygne de l'alambic puis s'acheminent par un serpentin refroidi dans un circuit d'eau [1].

La condensation de ce mélange gazeux, permet de récupérer un condensat liquide. Ce condensat est constitué de deux phases non miscibles:

- Une **phase organique huileuse et très odorante**, appelée "**huile essentielle**", contenant la majorité des composés odorants.
- une **phase aqueuse**, odorante, appelée "**eau aromatique**", qui n'en contient que très peu.

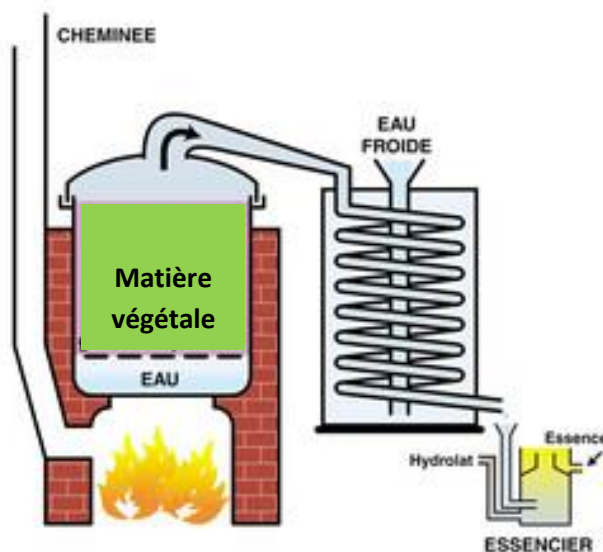


Fig.2. Alambic d'hydrodistillation [6]

La séparation entre eau et huile essentielle se fait par différence de densité, ce qui permet de récupérer facilement l'huile essentielle

La distillation doit être faite à très basse pression et à une température la plus basse possible (100°C environ) pour éviter la décomposition de certains composants et l'odeur de brûlé. [1]

II.2. Entraînement à la vapeur

Cette méthode consiste à faire passer de la vapeur de l'eau à travers la matière végétale placée dans l'alambic. (Voir Fig.3)

La vapeur permet le relâchement des molécules aromatiques de la matière végétale en forçant l'ouverture des cavités qui contiennent l'huile. Les molécules de ces huiles volatiles s'échappent alors de l'élément végétal en s'évaporant. Cette vapeur doit être juste assez chaude pour permettre le relâchement de l'huile essentielle, mais pas trop pour ne pas brûler l'élément végétal ou l'huile essentielle. [5]

La vapeur, qui contient alors l'huile essentielle, est ensuite dirigée à travers un système de refroidissement où elle se liquéfie, ce qui sépare l'huile essentielle de l'eau. Pour que la vapeur soit produite, la pression doit dépasser celle de l'atmosphère. Dans ces conditions, le point d'ébullition se situe au-dessus de 100° C, ce qui permet d'extraire plus vite l'huile essentielle tout en empêchant sa dégradation.[1,5]

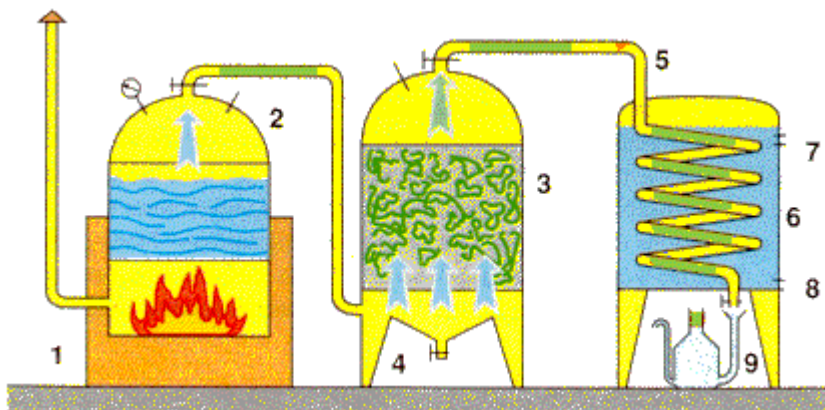


Fig.3. Alambic d'entraînement à la vapeur

II.3. Hydrodiffusion:

L'hydrodiffusion est une forme de distillation à la vapeur, mais contrairement aux autres systèmes de distillation, la vapeur est introduite par le haut pour passer à travers la matière végétale. La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile se produit sous la grille retenant la matière végétale.

II.4. Expression à froid:

On appelle cette méthode d'extraction «pression à froid», car elle n'implique aucune chaleur.

La plupart des huiles essentielles de noix et de graines et d'agrumes sont extraites par pression à froid. En général, cette méthode produit des huiles de bonne qualité. Le procédé consiste à soumettre la matière à une grande pression mécanique. (Voir Fig.4)

De tous les procédés d'extraction par pression, la méthode la plus répandue est sans conteste l'extraction à l'éponge. Dans le passé, cela se faisait à la main. On retirait la pulpe, l'écorce et le cœur du fruit puis on trempait le tout dans l'eau tiède pour rendre l'écorce plus souple.

En absorbant l'eau, le fruit devient plus élastique. On retourne le fruit, ce qui brise les cellules d'huile. On presse ensuite l'écorce sur une éponge pour exprimer l'huile volatile. Celle-ci est ensuite recueillie dans un récipient avant d'être décantée. [5]



Fig.4. Expression à froids des agrumes [6]

II.5. Enfleurage:

L'enfleurage est l'un des plus anciens procédés. Il est basé sur l'affinité des parfums pour les graisses et concerne les plantes qui conservent leur parfum après avoir été cueillies (comme le jasmin) [5].

Les fleurs sont étalées sur des châssis enduits de graisses inodores où le parfum des fleurs est absorbé par les graisses jusqu'à saturation. Les fleurs sont renouvelées régulièrement (toutes les 24 heures pour les jasmins ou toutes les 72 heures pour la tubéreuse). L'opération est terminée quand un kilo de la matière grasse est saturée par deux à trois kilos de fleurs. Elle peut durer environ un mois. On fait alors fondre la pommade qui sera décantée et elle sera ensuite traitée à l'alcool et à froid. (Voir Fig.5)

Cette technique d'extraction est pratiquement en voie de disparition en raison de son coût élevé. Elle nécessite en effet une main d'œuvre importante.

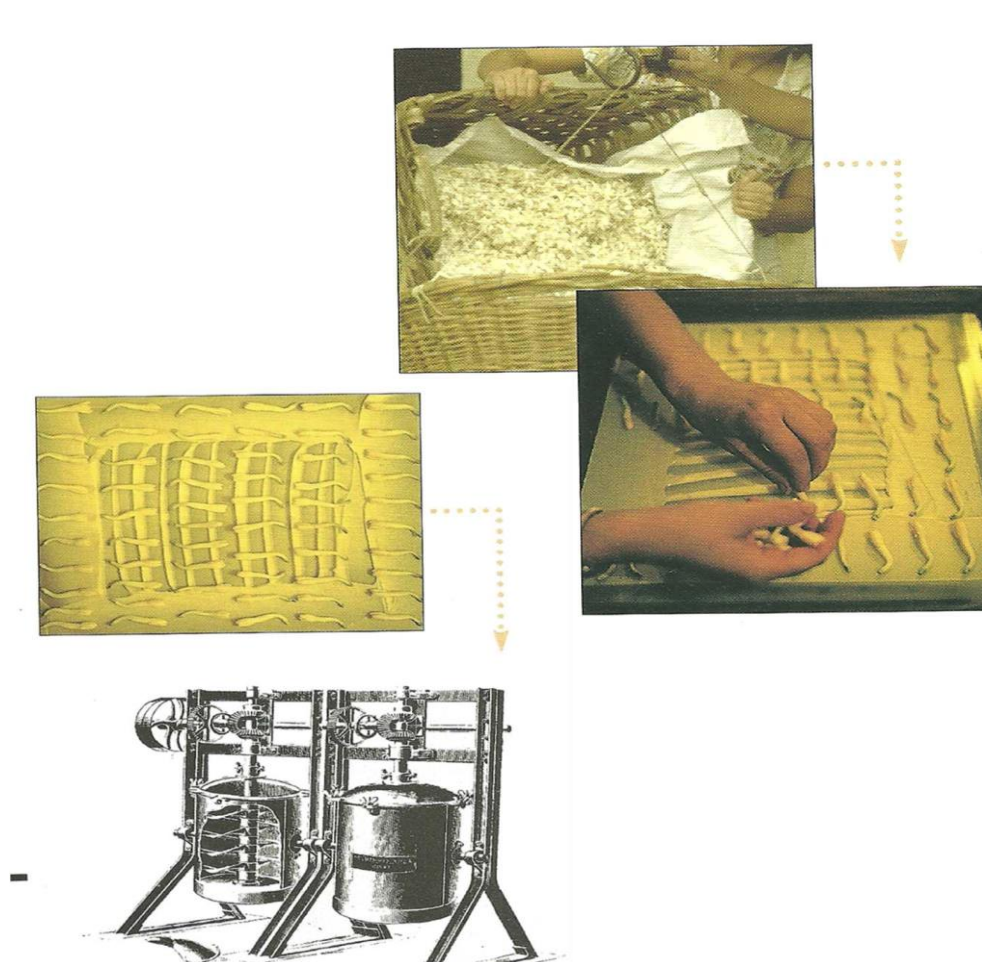


Fig.5. Procédé d'enfleurage [5]

II.6. L'extraction au CO₂ supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique ou CO₂.

Sous pression et à température supérieure à 31°C, le gaz carbonique se trouve dans un état dit « supercritique », intermédiaire entre le gaz et le liquide. Dans cet état, le CO₂ présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organiques [5,8,9].

Cette propriété a été mise à profit pour extraire des matières premières végétales intéressantes pour la parfumerie. Pour cette application, l'extraction au CO₂ supercritique présente de nombreux avantages par rapport aux procédés d'extraction traditionnels.

La matière végétale est chargée dans l'extracteur, puis le CO₂ introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO₂ reprend sa forme gazeuse et est complètement éliminé. L'extract végétal est isolé.

Les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine et sans solvant résiduel.

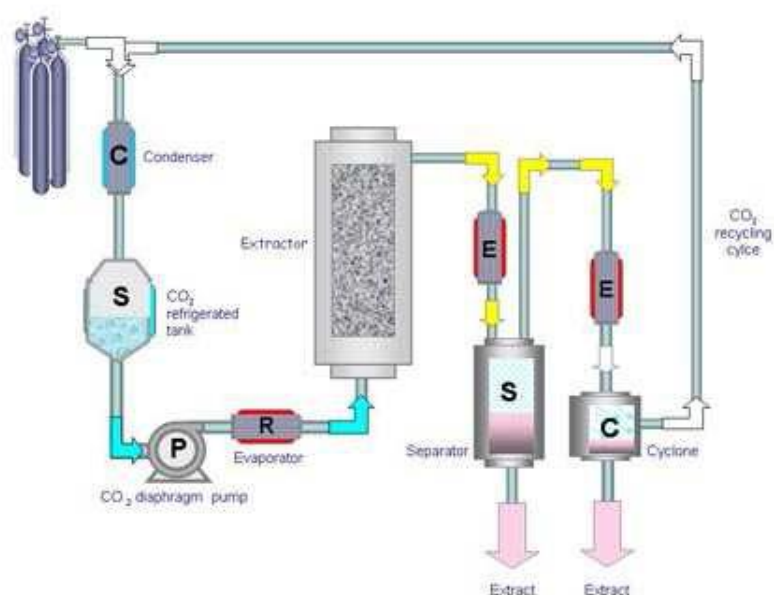


Fig.6. Procédé d'extraction au CO₂ supercritique [8]

II.7. Extraction assistée par Micro-ondes

II.7.1. Extraction par solvant assistée par micro-ondes

Cette technique a d'abord été utilisée pour l'extraction de produits alimentaires (agrumes, plantes aromatiques, céréales ...). la technique repose à irradier le matériel végétal en présence d'un solvant transparent aux micro-ondes tel que l'hexane. Ainsi les micro-ondes atteindraient directement les systèmes glandulaires et vasculaires du végétal.

II.7.2. La distillation par micro-ondes

Cette technologie est une combinaison de chauffage micro-ondes et d'une distillation à la pression atmosphérique. Basée sur un principe relativement simple, cette méthode consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes, sans ajout de solvant organique ou d'eau. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante, permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par le végétal. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation. (voir Fig.7)

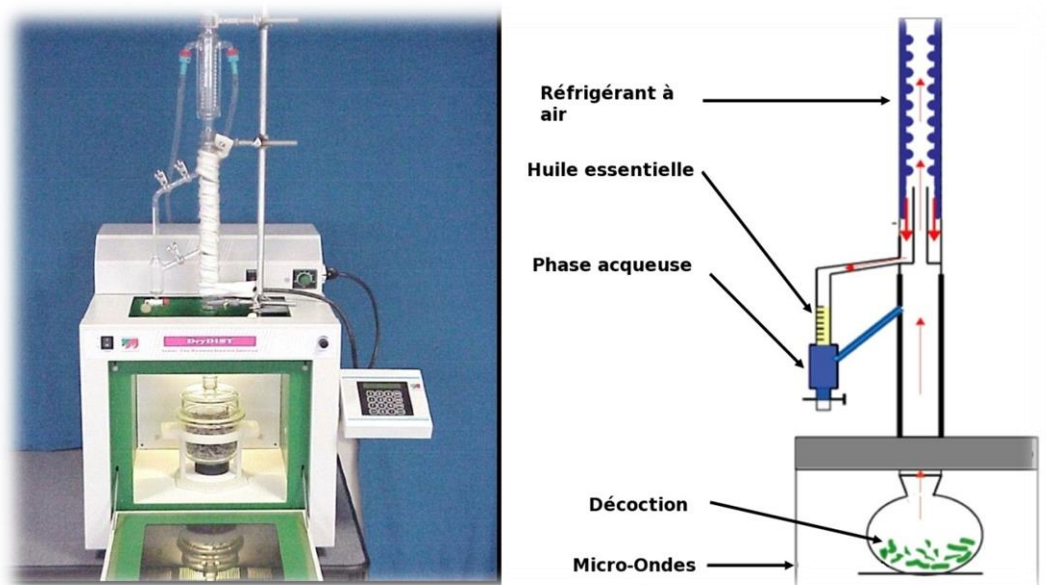


Fig.7. La distillation par micro- ondes [6]

II.7.3.L'extraction par micro-ondes combinant l'hydrodiffusion et la gravité

Cette nouvelle technique d'extraction a pour origine un alambic renversé, utilisant le chauffage micro-ondes en combinant la gravité à pression atmosphérique ou sous pression réduite. Selon ce procédé, la matière végétale fraîche est placée directement dans un réacteur micro-ondes sans ajout de solvant organique ni d'eau. Le chauffage de l'eau de constitution de la matrice provoque un éclatement des cellules de la plante et conduit au relargage des métabolites secondaires. De cette manière, l'action des micro-ondes permet de libérer l'eau intrinsèque du végétal et les métabolites secondaires qui sont transférés de l'intérieur vers l'extérieur de la matière végétale par hydrodiffusion. Ce mélange est ensuite condensé et recueilli à l'aide d'un système de réception utilisant le principe du vase Florentin. L'huile essentielle et l'eau de constitution sont ensuite séparées par simple différence de densité. Il est important de noter que cette méthode verte permet d'extraire les huiles essentielles sans distillation et sans évaporation, qui sont les deux processus les plus consommateurs d'énergie.



Fig.8. L'extraction par micro-ondes combinant l'hydrodiffusion et la gravité [6]

III. Analyses physico-chimiques

III. Analyses physico-chimiques:

Les huiles obtenues par les techniques d'extraction mentionnées précédemment doivent être contrôlées et analysées par des méthodes physico-chimiques en mesurant quelques paramètres:

III.1. Paramètres physico-chimiques:

III.1.1. Paramètres organoleptiques:

- Couleur
- Odeur

III.1.2. Densité:

La densité d'une substance est égale à la masse volumique de la substance divisée par la masse volumique du corps de référence à la même température. Pour les liquides et les solides, l'eau est utilisée comme référence, pour les gaz, la mesure s'effectue par rapport à l'air. Elle est notée d et n'a pas d'unité [10].

La masse volumique de l'eau est mesurée à la température de 4°C, qui correspond à une température où sa masse volumique passe par un maximum. On indique cette température de référence en mettant 4 en indice. La notation devient alors d_4 . Pour des raisons pratiques, la mesure de la masse volumique de la substance s'effectue à la température ambiante et généralement à 20°C. Il est donc usuel de noter la densité d'un solide ou d'un liquide en indiquant les 2 températures : d_{20}^4 qui signifie donc « densité de la substance à 20°C par rapport à de l'eau à 4°C » [10].

III.1.3. Indice de réfraction

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante [10].

III.1.4. Indice d'acide

L'indice d'acide d'une matière grasse est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans 1 g de matière grasse. Il mesure la quantité d'acides gras libre présents dans un corps gras.

Le principe s'agit d'une dissolution de la matière grasse dans de l'éthanol neutralisé, puis titrage des acides gras libres présents au moyen d'une solution titrée de KOH en présence de la phénolphtaléine comme indicateur.

III.1.5. pH

pH est un sigle signifiant potentiel hydrogène, il permet de mesurer la concentration d'une solution aqueuse en protons (H^+) et le degré d'acidité ou de basicité d'une solution.

Le pH se calcule selon la formule $pH = -\log_{10}[H^+]$ où $[H^+]$ est la concentration en ions H^+ exprimée en moles par litre.

En solution aqueuse à température et pression standard, un pH de 7 indique la neutralité. Un pH moins élevé indique une augmentation de l'acidité, et un pH plus élevé indique une augmentation de l'alcalinité, c'est-à-dire de la basicité. Dans le cas de l'eau le pH varie de 0 à 14.

IV. Marché des huiles essentielles

IV.1. Marché des huiles essentielles dans le monde

Les huiles essentielles sont valorisées principalement sur les marchés de l'aromathérapie, de la parfumerie et de la cosmétique. Elles sont recherchées pour leurs propriétés odorantes ou thérapeutiques. Les principaux marchés de consommation sont les pays développés (Europe, Japon et Amérique du Nord) qui représentent 80% des débouchés mondiaux [11].

Tableau 1. **Marché mondial des huiles essentielles** [11]

Marchés	Marché mondial (En Milliards d'Euros)	Part des importations	Part des exportations
Europe de l'Ouest	35	49%	65%
Etat-Unis et Canada	35	-	15%
Japon	14	-	5%
Europe de l'Est	5	8%	2%
Méditerranée	2	3%	1%

Il existe une grande variété d'huiles essentielles connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées. Cependant, de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique des huiles, les différentes utilisations possibles et leur coût de production. On évalue qu'environ 300 produits naturels servent de matières premières pour l'industrie des parfums et des arômes.

Dans le tableau n°2 on a mentionné les plus importantes huiles essentielles dans le monde en fonction de leurs volumes de production et leurs valeurs en **\$ US**.

Tableau 2. Les plus importantes huiles essentielles dans le monde [12]

Huiles essentielles	Espèce	Quantité (tonnes)	Valeur (Millions \$ US)
Orange	<i>Citrus sinensis</i> (L.)	26000	58.5
Menthe (Cornmint)	<i>Mentha arvensis</i> L. f. <i>piperascens</i>	4300	34.4
Citronnelle	<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt et <i>C. nardus</i> (L.) Rendle	2830	10.8
Menthe poivrée	<i>Mentha</i> × <i>piperita</i> L.	2367	28.4
Citron	<i>Citrus limon</i> (L) N. L. Burm.	2158	21.6
Eucalyptus type citronnellal	<i>Eucalyptus citriodora</i> Hook.	2092	7.3
Clou de girofle	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. et L. M. Perry	1915	7.7
Bois de cèdre (États-Unis)	<i>Juniperus virginiana</i> L. et <i>J. ashei</i>	1640	9.8
Litsea cubeba	<i>Litsea cubeba</i> (Lour.) Pers.	1005	17.1
Sassafras (Brésil)	<i>Ocotea pretiosa</i> (Nees) Benth.	1000	4.0
Lime (Brésil)	<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm. & Panz.) Swingle	973	7.3
Menthe verte (Spearmint)	<i>Mentha spicata</i> L.	851	17.0
Bois de cèdre (Chine)	<i>Chamaecyparis funebris</i> (Endl.) Franco	800	3.2
Lavandin	<i>Lavandula intermedia</i> Emeric ex Loisel	768	6.1
<i>Lavandula intermedia</i> Emeric ex Loisel	<i>Cinnamomum micranthum</i> (Hayata) Hayata	750	3.0
Camphre	<i>Cinnamomum camphora</i> (L) J. Presl.	725	3.6
Coriandre (graines)	<i>Coriandrum sativum</i> L.	710	49.7
Pamplemousse	<i>Citrus paradisi</i> Macfady	694	13.9
Patchouli	<i>Pogostemon cablin</i> (Blanco) Benth.	563	6.8

IV.2. La production agrumicole en Algérie

L'agrumiculture occupe une superficie de 65.000 ha, dont 55.000 réservés à la production.

La production agrumicole: 72% d'oranges, 16% de clémentines, 4% de mandarine et 7% de citrons. Les autres variétés (pomelos, pamplemousse, etc.) étant estimées à 1%.

La production agrumicole est estimée à 10 millions de quintaux avec des prix variant de 60 à 150 DA/kg, selon la variété et la qualité.

Il existe 5 ou 6 transformateurs de fruits [13].

Partie pratique

I. Matériels et produits utilisés

II-1 Matériels utilisés et appareillage

II.1.1 Appareillage et équipements

- Spectrophotomètre UV-Visible Biotech. Engineering Management - model spectrophoto scan 80 DV
- Balance sensible KERN ALS 220-4N
- Chauffe ballon 2000 ml
- Agitateur magnétique VELP SCIENTIFICA
- Réfractomètre
- Densimètre DMA 35 N, ANTON Paar
- Microseringue 250 μ l

II.1.2. Verreries:

- Réfrigérant
- Ampoule à décanter 250 ml
- Ballon 2000 ml
- Colonne vigreux
- Deux flacons en verre fumée
- Burette 5 ml
- Fiole 100 ml
- Fiole 500 ml
- Eprouvette 10 ml
- Entonnoir
- Pipette graduée 1 ml
- Tubes à essai

II.2. Réactifs et matières

HE de *Citron* (les deux variétés)- KOH - Ethanol (99.8%)– Phénolphtaléine – DPPH- eau distillée- Acétone

II.3. Matériels pour la microbiologie

Boîtes de pétri – milieu de culture (Gélose Mueller Hinton) – eau physiologique – souches bactériennes- disques (\varnothing 6 mm), tubes à essai, poupinel, étuve, bec bunsen

II.Extraction des huiles essentielles de *Citron*

II. Extraction des huiles essentielles de Citron

II.1. La Récolte de la plante:

Les fruits ont été récoltés dans la ville d’Ouargla (Hassi El Kheffif), durant la période du Mois de Mars 2015. Alors que les feuilles sont récoltés au Mois de Avril 2015. (Voir Fig.9)



Fig.9. Récolte de la plante

II.2. Protocole d'extraction:

On a utilisé la technique d'hydrodistillation pour extraire l'huile essentielle de *Citron*, le montage est réalisé au laboratoire de Génie des Procédés (Fig.10), selon le mode d'extraction suivant:

- On a mis 100 g de la plante dans un ballon de 2 litre (1/3 plante et 2/3 eau)
On a placé le ballon dans un chauffe ballon, on a réglé la température à 100 °C
- Après 3 heures de distillation on a obtenu deux phases huile essentielle et hydrolat (Voir Fig.11)



Fig.10. Montage d'hydrodistillation



Fruits de *Citron*



Feuilles de *Citron*

Hydrodistillation



**Huile essentielle
Fruits de *Citron***



**Huile essentielle
Feuilles de *Citron***



Fig11. Protocole d'extraction par hydrodistillation

III. Analyses physico-chimiques des huiles essentielles de *Citron*

III. Analyses physico-chimiques

III.1. Rendement

Le rendement de nos huiles essentielles est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière végétale, (voir Fig.12). Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$R = \frac{M_{\text{huile}}}{M_{\text{plante}}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

Où

R: Rendement en huile essentielle (%).

M_{huile}: Masse de l'huile en g.

M_{plante}: Masse de la plante en g.

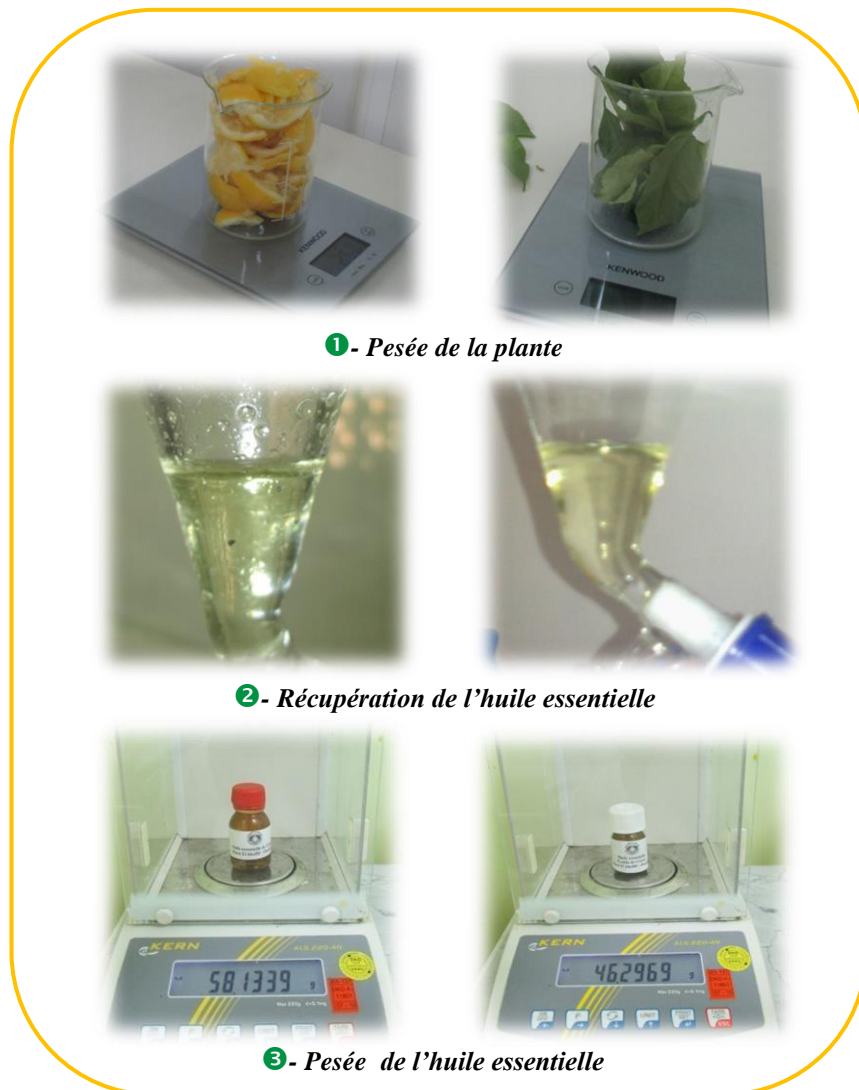


Fig.12. Détermination du rendement

III.2. pH

Pour mesurer le pH on a utilisé le papier pH comme le montre la figure suivante:

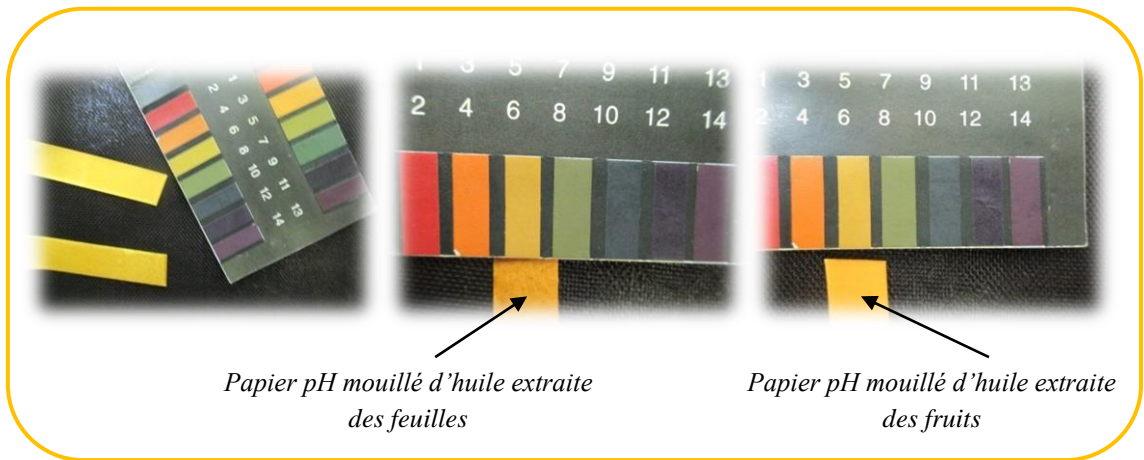


Fig.13. Détermination du pH

III.3. Densité

On a utilisé un densimètre (voir Fig.14), pour mesurer la densité, et on a calculé la densité à 20°C suivant la formule:

$$d^{20} = d^T + (T-20) \times 0.00073 \quad \dots\dots\dots (2)$$



Fig.14. Densimètre

III.4. Indice de réfraction

Afin de mesurer l'indice de réfraction on a utilisé un réfractomètre (voir Fig.15); puis on a calculé cette valeur à 20 °C par la formule suivante:

$$n_D^{20} = n_D^T + (T-20) \times 0.0045 \quad \dots\dots\dots (3)$$



Fig.15. Réfractomètre

III.5. Indice d'acide

Mode opératoire:

La figure suivante, indique le matériel nécessaire et le montage pour déterminer l'indice d'acide :



Fig.16. Montage - Indice d'acide

- On Prépare une solution d'Hydroxyde de potassium (KOH) de 0,1 N dans l'éthanol.
- On introduit 1g de l'échantillon (l'huile extraite) dans un erlenmeyer propre et sec
- On ajoute 10 ml d'éthanol à l'échantillon.
- On ajoute quelques gouttes (2 ou 3) de la phénolphthaléine
- On homogénéise le mélange.
- Après avoir rincé la burette avec la solution de KOH, on la remplit en dépassant la graduation supérieure. Puis on ajuste le zéro.
- On commence le titrage (neutralisation de la solution obtenue avec KOH).
- On agite en même temps l'erlenmeyer pour homogénéiser la solution.

- Une fois la couleur rose apparaît, on arrête le titrage.
- On note le volume de KOH consommé. Comme le montre la figure 17.

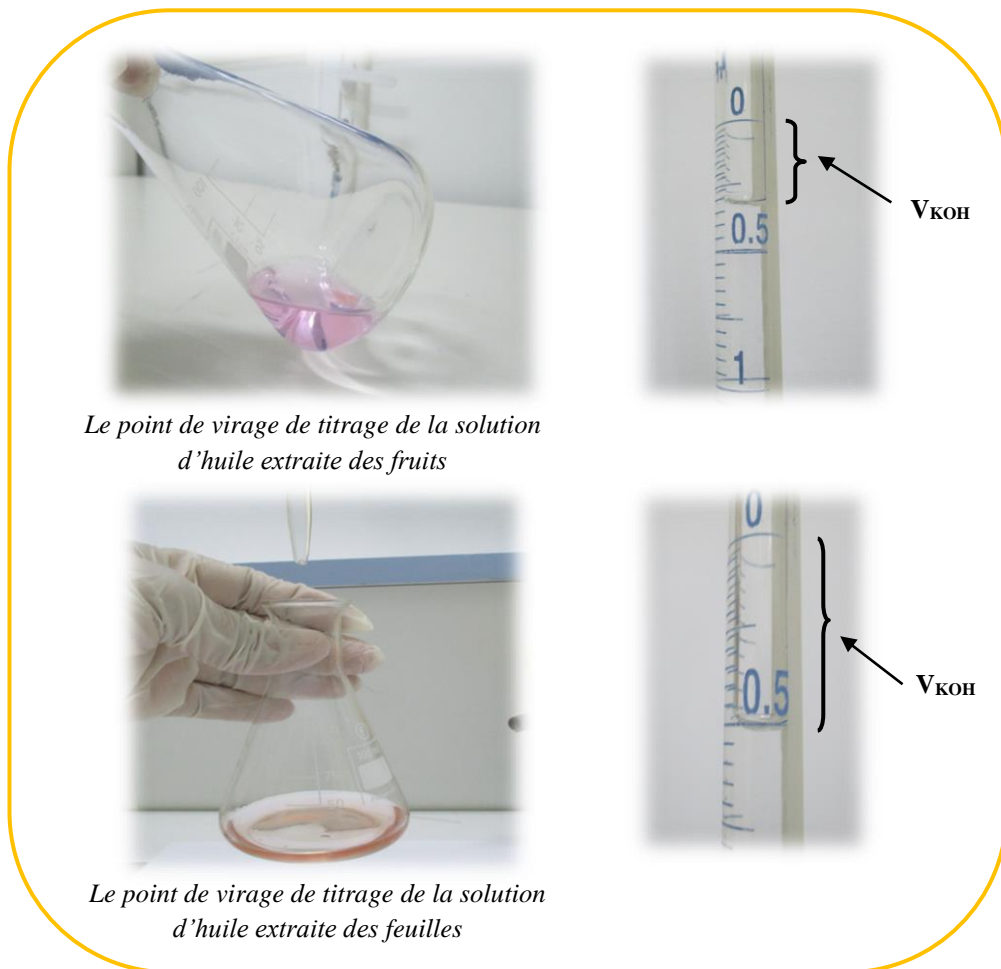


Fig.17. Détermination de l'indice d'acide

Pour calculer l'indice d'acide on a utilisé la formule suivante:

$$\mathbf{IA = \frac{N \times 56.1 \times V}{m}} \dots\dots\dots (4)$$

Où

N: normalité de KOH.

v : le volume consommé de KOH en ml.

m : masse de l'huile en g.

56.1 est la masse molaire de KOH en g/mol

**IV. Activité antibactérienne des huiles
extraites de *Citron***

IV. Activité antibactérienne

Nous visons dans cette étape à évaluer le pouvoir inhibiteur de nos huiles vis-à-vis des agents pathogènes.

IV.1. Aromatogramme

Est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases: [14-16]

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

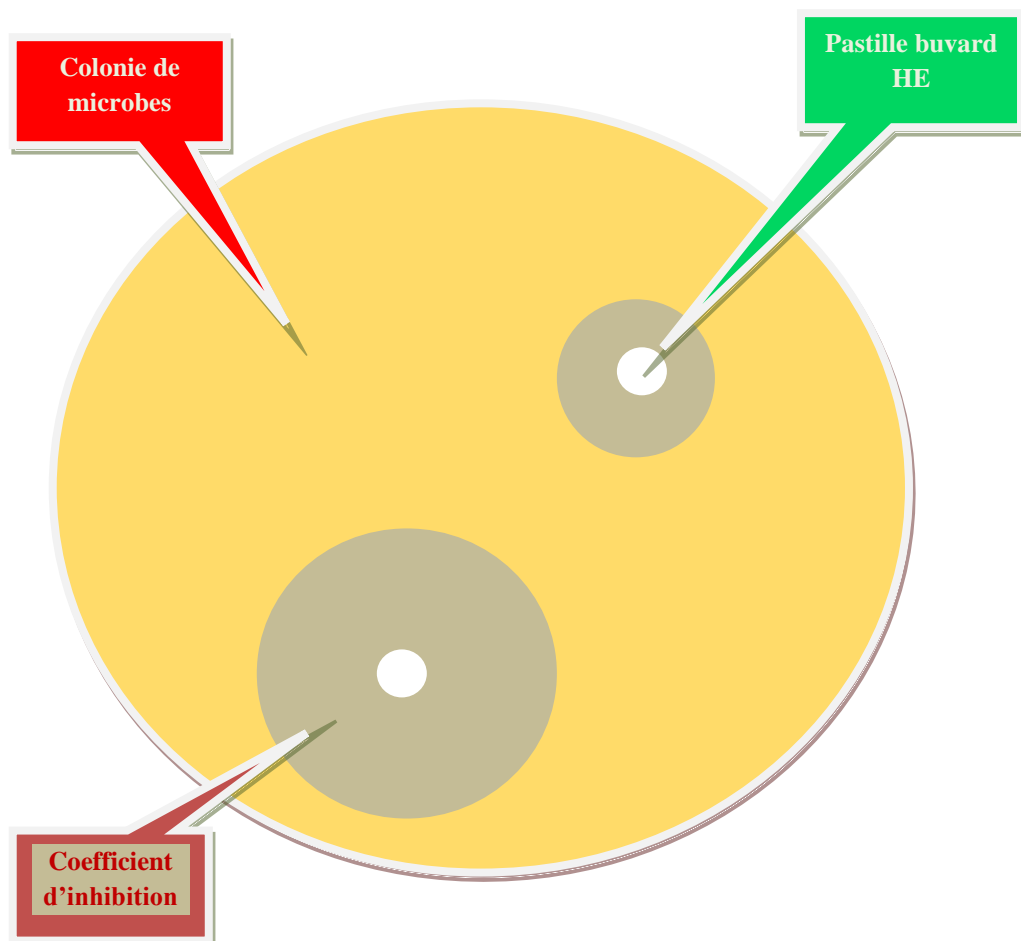


Fig 18. Aromatogramme

IV.2. Mode opératoire

Les tests microbiologiques ont été effectués au laboratoire de microbiologie à l'hôpital de Mohamed Boudiaf, de la Wilaya de Ouargla. (Voir Fig.19)

On a suivi le protocole suivant :

1- Préparation du matériel et produits

- Milieu de culture (Gélose Meuler Hinton).
- Souches microbiennes: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).
- Eau physiologique.
- Boîtes de Pétri.
- Tubes à essai
- Disques de papier filtre (\varnothing 6 mm).
- Pipette pasteur.
- Anse pour prélèvement de colonie microbienne.
- Bec bunsen.
- Etuve.
- Poupinel.

2- Après avoir décongelé le milieu de culture dans un Poupinel, on le colle dans les boîtes de Pétri puis on laisse ces dernières refroidir pendant 20 à 30 mn.

3- On prépare une suspension bactérienne dans l'eau physiologique en prélevant à l'aide d'une anse stérile, une petite quantité de la colonie microbienne, puis on l'émerge dans le tube contenant l'eau physiologique. On laisse le mélange pendant 15 mn.

4- On étale le contenu du tube à la surface du milieu de culture

5- On imbibe les disques par les huiles et les déposés à la surface de la boîte.

6- Incubation à 37°C pendant 24 H

7- Mesure du diamètre de zone d'inhibition.

NB. Toutes les opérations doivent être effectuées dans une zone stérile devant un Bec Bunsen.



1- Flacons de milieu de culture dans un Poupinel



2- Préparation des boîtes de Pétri pour le collage du milieu de culture



3- Boîtes de Pétri collées par le milieu de culture



4- Boîte contenant des disques imbibés d'huiles extraites



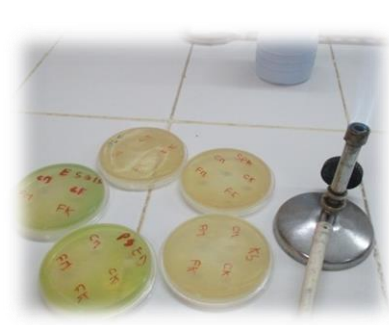
5- Réglage de la température de l'étuve



6- Boîtes placées à l'intérieur de l'étuve



7- Après 24 heures on fait sortir les boîtes de l'étuve



8- La prise des résultats par la mesure du diamètre d'inhibition

Fig.19. Protocole des tests microbiologiques effectués au laboratoire de microbiologie

**V. Activité antioxydante des huiles
extraites de *Citron***

V. Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des deux variétés d'huiles essentielles extraites a été effectuée selon la méthode de piégeage des radicaux libres de DPPH

V.1. DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•) est un radical organique stable, coloré et centré sur l'azote. Le maximum de son absorbance se situe à 517 nm dans le méthanol et l'éthanol. Les antioxydants donneurs d'atome H (RH) sont capables de réduire DPPH•, ce qui conduit au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H) et au radical R•.

Le DPPH• a une couleur violette ou rouge pourpre mais cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux [17]

V.2. Principe de la méthode:

L'addition d'un antioxydant dans une solution de DPPH conduit à une décoloration de ce dernier qui est directement proportionnelle à la capacité antioxydante du produit ajouté. Cette décoloration peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm (Fig.20). Elle fournit donc un moyen pratique de mesurer l'activité antioxydante de nos huiles essentielles. [17-25]

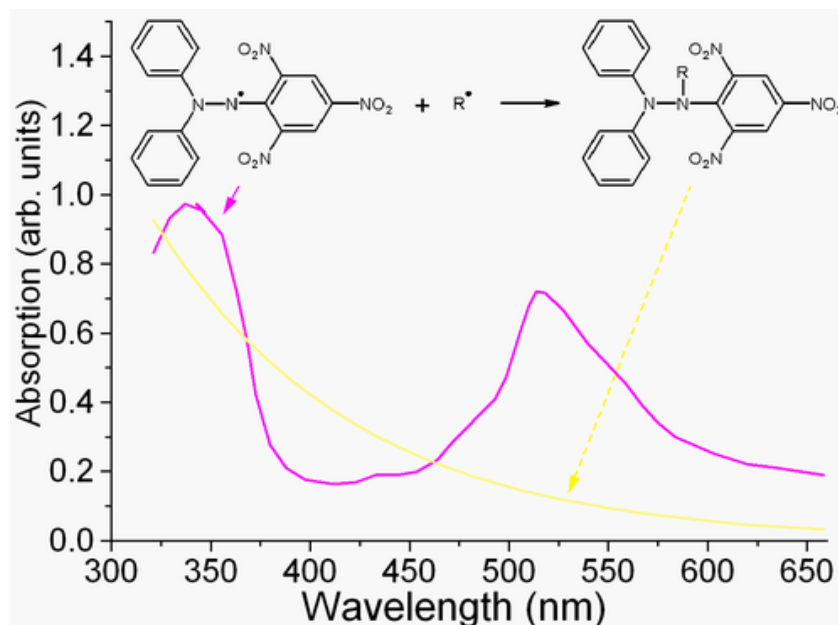


Fig.20. Absorbance de DPPH par spectrophotométrie

Lorsqu'on ajoute un antioxydant au DPPH, la réaction sera comme suit :

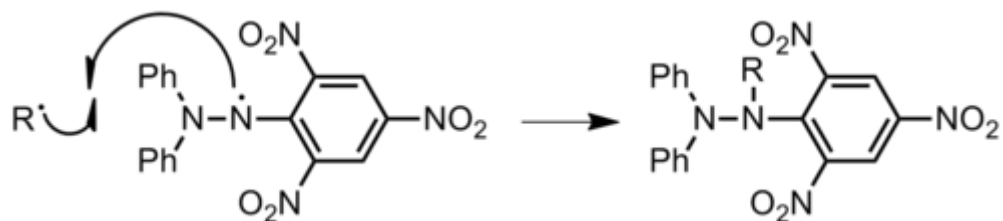


Fig.21. Réaction du DPPH• avec un antioxydant

Les résultats peuvent être exprimés en pourcentage de réduction de DPPH•, pour une concentration en huile connue

Le test de réduction du DPPH• permet aussi de déterminer la concentration en huile qui cause la réduction de 50% du DPPH (IC50)

V.3. Mode opératoire:

La figure suivante indique le Matériel et les réactifs utilisés pour réaliser le test au DPPH



Fig.22. Matériel et réactifs pour le test au DPPH

Une gamme de concentrations (10-40 $\mu\text{g/mL}$) des huiles est préparée dans l'éthanol. Un volume de 1 mL de cette solution, est mélangé à 1 mL de DPPH (100 μM) préparé également dans l'éthanol. Après homogénéisation, le mélange est incubé à la température ambiante (25 °C) à l'abri de la lumière. (Voir Fig.23) Après 30 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 517 nm contre un « blanc » qui ne contient que d'éthanol. (Voir Fig.24)



Fig.23. Test de piégeage DPPH

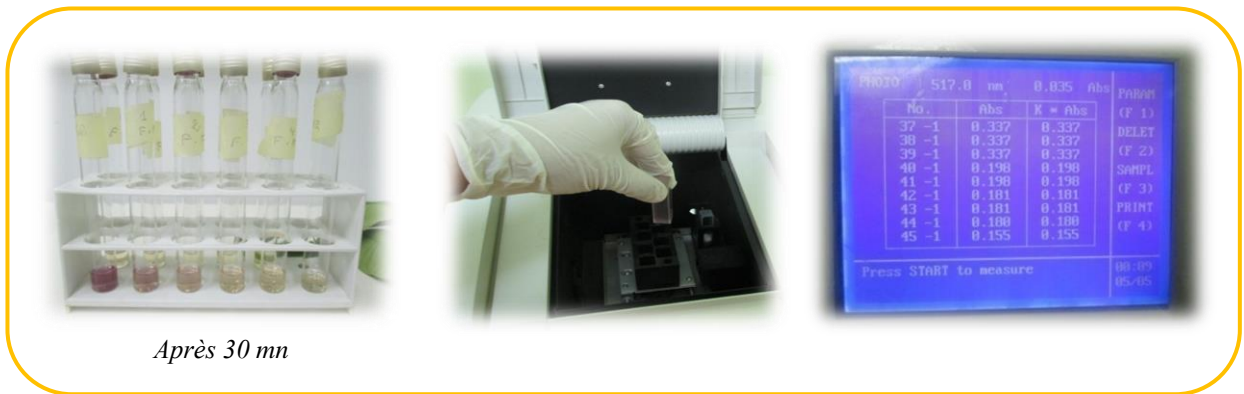


Fig.24. La lecture des absorbances des échantillons

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$I\% = (A_0 - A_i) / A_0 \dots\dots\dots(5)$$

Où

A_0 : Absorbance du DPPH

A_i : Absorbance d'échantillon

VI. Résultats et discussions

VI.1. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de Citron

Les paramètres organoleptiques de nos huiles essentielle aspect, couleur, odeur sont résumé dans le tableau suivant :

Tableau 3. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de *Citron*

	Aspect	Couleur	Odeur
AFNOR ISO 3140	Liquide limpide, fluide et mobile	Jaune très pâle à transparent	Fraîche et épicée
Notre huile	Liquide limpide	Jaune très pâle à transparent	Fraîche et épicée

VI.2. Analyses physico-chimiques:

Les résultats des analyses physico-chimiques des huiles essentielles de *Citron* partie feuilles et partie fruits sont résumés dans le tableau suivant:

Tableau 4. Résultats d'analyse physico-chimique des huiles essentielles de *Citron*

	Feuilles	Fruit	AFNOR- ISO 3140
Rendement (%)	1.22	0.33	0.5-2
pH	6.00	6.00	Acide faible
Densité	0.91028	0.91000	0.905-0.921
Indice de réfraction	1.4780	1.4780	1.4600-1.4760
Indice d'acide	1.67	2.80	0.5 - 3.00

Ces résultats ont montré que nos huiles sont conformes avec ceux de la norme AFNOR ISO 3140. Association Française de Normalisation et Organisation du Système Français.

VI.3. Activité antibactérienne

Après avoir incubé les boîtes dans l'étuve pendant 24 heures. On les a retirées puis on a mesuré les diamètres des zones d'inhibition en millimètre, comme le montre la figure suivante:

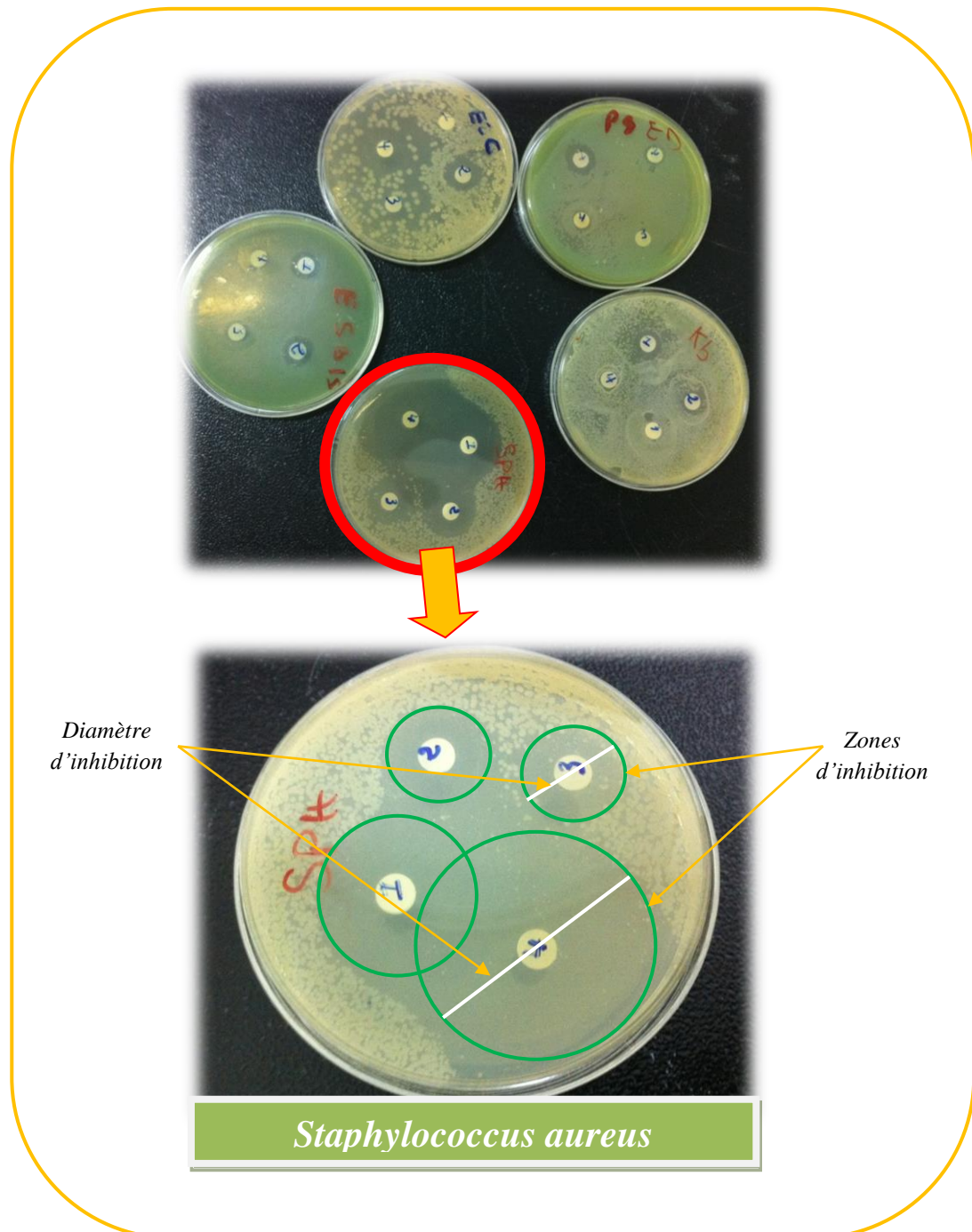


Fig.25. Diamètre des zones d'inhibition

Les résultats de la mesure des zones d'inhibition des huiles essentielles de Citron vis-à-vis les bactéries sont résumés dans le tableau N° 5 (Voir annexe).

La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égale à 8 mm. La sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible [19].

La figure suivante représente le pouvoir inhibiteur des deux huiles de *Citron* contre les cinq souches bactériennes testées :

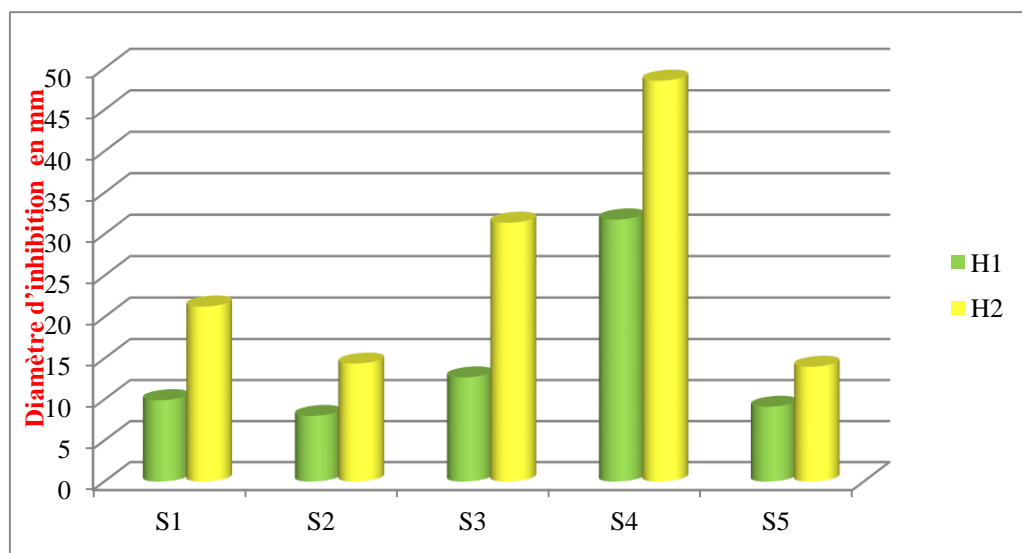


Fig.26. Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Citron*, (Feuilles et fruits)

D'après les résultats précédents on a constaté que les zones d'inhibition des huiles sont importantes ce qui signifie leur pouvoir antibactérien

- Les huiles extraites des fruits ont un pouvoir très important par rapport aux celles extraites des feuilles.
- Il est aussi à signaler que les résultats sont très satisfaisants notamment vis à vis de *Staphylococcus aureus* où on a constaté des grandes zones d'inhibition.

VI.4. Activité antioxydante

Après avoir calculé les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en huile essentielle, et des absorbances des échantillons préparés, on a présenté les résultats sous forme de deux courbes une présente le pouvoir inhibiteur des feuilles (Fig.27), et autre présente le pouvoir inhibiteur des fruits (Fig.28)

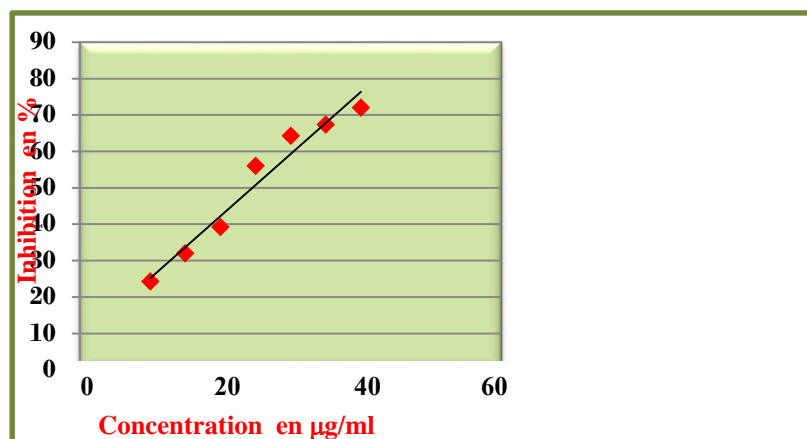


Fig.27. Pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en huile essentielle des feuilles

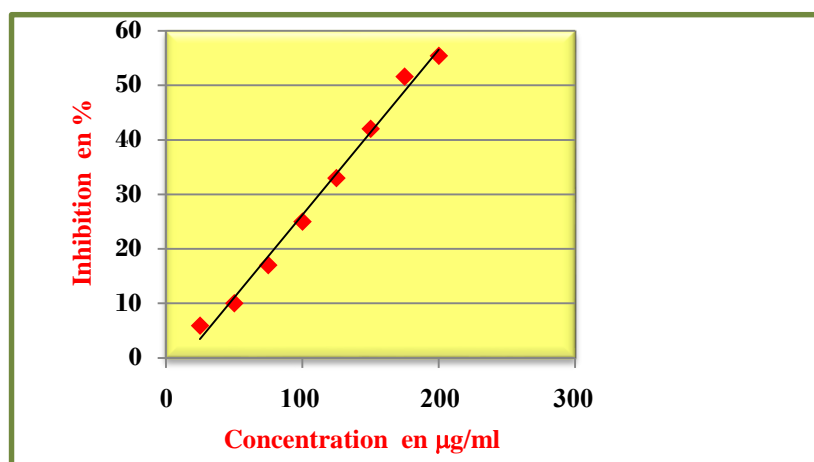


Fig.28. Pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations en huile essentielle des fruits

Ces deux dernières courbes nous permettent de déterminer la concentration inhibitrice des 50% des radicaux pour chaque huile

La figure suivante résume l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Citron* partie feuilles et partie fruits. Elle représente le pourcentage d'inhibition des radicaux libres en fonction de concentration des deux huiles.

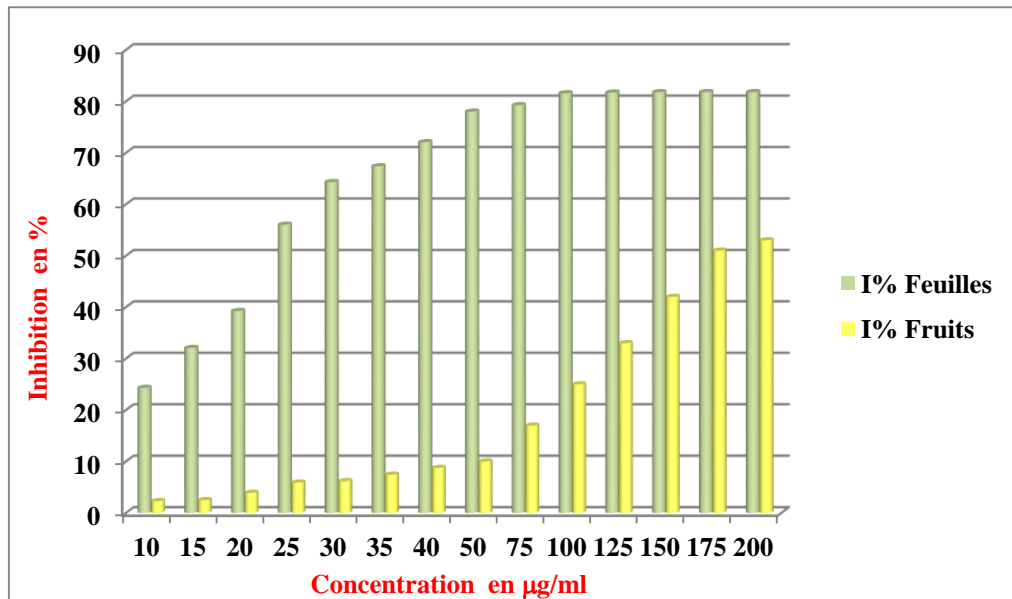


Fig.29. Activité antioxydante des huiles essentielles de *Citron*, (Feuilles et fruits)

D'après les trois figures précédentes, on peut dire que les huiles essentielles extraites de *Citron* ont un pouvoir antioxydant très important, notamment dans les feuilles qui ont inhibé 50% des radicaux de DPPH en une faible concentration.

VI.5. Détermination du coût de l'huile de *Citron* extraite

- La valeur de 1L de HE de *Citron* dans le marché mondial est de 1000 \$ US.
- Le rendement en HE extraite du zeste égale à 0.33%

C'est à dire:

1 tonne de matière végétale → 0.33 kg de HE → 0.36 L de HE
→ **366.66 \$ US**

- Le rendement en HE extraite des feuilles égale à 1.22%

C'est à dire:

1 tonne de matière végétale → 1.22 kg de HE → 1.35 L de HE
→ **1355.55 \$ US**

Après la détermination du coût des deux huiles extraites de *Citron* on peut dire que les feuilles sont rentables par rapport aux fruits, puisqu'une tonne des feuilles va donner un montant très important de 1355.55 \$ US

Conclusion générale

L'objectif visé par ce mémoire de fin d'études est de valoriser le *Citronnier* de la région de Hassi El Kheffif- N'Goussa- Ouargla, pour bénéficier de cette plante aromatique et médicinale dans la pharmacie, la cosmétique, l'industrie alimentaire et dans la lutte biologique

L'extraction des huiles essentielles de *Citron* partie feuilles et partie fruit, a été réalisée par hydrodistillation au laboratoire de recherche de Génie des Procédés, avec un rendement de 1.22% pour les feuilles et de 0.33% pour les fruits

Les propriétés physicochimiques telles que les propriétés organoleptiques, le pH, la densité, l'indice de réfraction et l'indice d'acide sont semblables pour les deux variétés des huiles de *Citron* (feuilles, fruits), en outre sont conforme aux normes AFNOR.

Par contre dans l'activité biologique nos huiles réagissent différemment où l'huile essentielle extraite des fruits a montré un pouvoir antibactérien très important avec une inhibition peut aller jusqu'à 48 mm de diamètre

Et en ce qui concerne l'activité antioxydante, les feuilles ont un pouvoir très important par rapport aux fruits, avec une faible concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres .

Afin de compléter nos études l'analyse des fractions huileuses par GC/MS est obligatoire pour déterminer le chémotype.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1]: PATRICE DE BONNEVAL et FRANK DUBUS, *Manuel pratique d'aromathérapie au quotidien*, édition DésIris, paris 2014.
- [2]: RACHEL DE LA ROQUE, OLIVIER DE LA ROQUE, *Encyclopedia of Medicinal Plants*, 2nd Edition, 1996, 2001 Dorling Kindersley Limited, Londres.
- [3]: P.OZENDA, *Flore de Sahara*, 2^{ème} édition, 1977.
- [4]: MOHAMED FAOUZI KASRAOUI, *Le citronier*, 2006
- [5]: E.BENETEAUD, *Les techniques d'extraction*, Comité français du parfum, 2011.
- [6]: JACQUELINE SMADJA, *Les Huiles Essentielles*, Université de La Réunion, 2009
- [7]: Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants, INTERNATIONAL CENTRE FOR SCIENCE AND HIGH TECHNOLOGY, Trieste, Italy, 2008
- [8]: LUISA. PISTELLI, Comparaison des systèmes d'extraction des huiles essentielles avec une référence particulière aux liquides ioniques.
- [9]: VIRENDRA P. S., RAO DIWAKER, Extraction of essential oil and its applications, Department of Chemical Engineering, National Institute of Technology, Rourkela- 2006
- [10]: JOHNNY L. HOUSTON, DAOU DA NDONG, Amady Ndiokane Cheikh Abdoul Khadir Diop, *Livre de Sciences Physiques Introduction à la physique et à la chimie*
- [11]: USAID, Stratégie nationale de développement du secteur des plantes aromatiques et médicinales au Maroc, 2008
- [12]: JACQUES GRYSOLE, la commercialisation des huiles essentielles, Québec
- [13]: ASSOCIATION DES PRODUCTEURS ALGERIENS DE BOISSONS, *Symposium sur la valorisation des produits agricoles dans les boissons*, Hôtel HILTON – Mars 2013
- [14]: G.LEQUEUX, M.BOUTIN, *aromatogramme : mise en place d'une méthodologie. Résultats préliminaires sur des souches de mammites bovines*, journées nationales GTV, Nantes (France), 2013
- [15]: CHOUITAH OURIDA, *Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de Glycyrrhiza glabra*, université d'Oran, 2012.
- [16]: R. BADR AL-DEEN; B. AL-OKLAH AND L. AL-AMIR, *Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils extracted from citrus fruit peels*, National Commission for Biotechnology, Damascus, Syria, 2012
- [17]: BOUGUERRA ALI, *Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des grains de Foeniculum vulgare Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire*, Université de Mentouri Constantine, 2012
- [18]: BENHAMMOU NABILA, *Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien*, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, 2011
- [19]: LAMAMRA MEBARKA, *Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de Tinguarra sicula (L.) Parl. et de Filipendula hexapetala Gibb.* UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF

Références bibliographiques

- [20]: KEHAL FARIDA, *Utilisation de l'huile essentielle de Citrus limon comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraîche*, I.N.A.T.A.A. Université Constantine1, 2013.
- [21]: MOHAMED BILAL GOUDJIL, SEGNI LADJEL, SALAH EDDINE BENCHEIKH, SOUAD ZIGHMI AND DJAMILA HAMADA, *Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian Laurus nobilis Lauraceae*, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2015
- [22]: Gianni Sacchetti, Silvia Maietti, Mariavittoria Muzzoli, Martina Scaglianti, Stefano Manfredini, Matteo Radice, Renato Bruni, *Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods*, Food Chemistry 91, 2005, 621–632
- [23]: MÁRIO R. MARÓSTICA JUNIOR, THOMAZ A.A. ROCHA E SILVA, GILBERTO C. FRANCHI, ALEXANDRE NOWILL, GLÁUCIA M. PASTORE , STEPHEN HYSLOP, *Antioxidant potential of aroma compounds obtained by limonene biotransformation of orange essential oil*, Food Chemistry 116, 2009, 8–12
- ,
- [24]: BOURKHISS M'BAREK, HNACH MOHAMED, PAOLINI JULIEN, COSTA JEAN, FARAH ABDALLAH ET SATRANI BADR, *Propriétés antioxydante et anti inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de TETRACLINIS ARTICULATA (VAHL) MASTERS DU MAROC* Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 79, 2010
- [25]: NABIL BOUSBIA, *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants _a partir de produits naturels et de co-produits Agroalimentaires*, Ecole Nationale Supérieure Agronomique (Ex – INA El Harrach – Alger, 2011