

N° d'ordre :
N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie



THEME

HYDRODISTILLATION DE L'HUILE ESSENTIELLE
D'UNE ESPECE D'ORANGE : *Citrus sinensis*

Dirigé par :

Mr. HADDAD Larbi

Présenté par :

BERREZGA Soumia

MESSAOUDI Islam

REGUIAI Hasna

ZOUZOU Ibtissam

Année universitaire
2014/2015

Remerciements

*Il est particulièrement agréable d'exprimer toute notre gratitude à **Mr HADDAD LARBI**, qui a bien voulu diriger ce travail et pour sa bienveillance, son attention ainsi que pour ses remarques et critiques constructives.*

*Nous désirons remercier aussi **tout le personnel administratif du département de Biologie et à tous nos enseignants.***

*Nous désirons aussi remercier **M^{elle} GOUBI SANA** ingénieur du laboratoire de la faculté S.N.V. de l'université d'El Oued, pour son aide qui nous a permis d'aboutir dans notre pratique. Aussi l'ensemble du personnel de laboratoire.*

*Nous adressons nos vifs remerciements au **Mr. HADDAD Azzedine** et **M^{elle} KADRI MOUNIRA** qui nous ont donné des informations importantes*

Enfin à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce mémoire

DEDICASE

A mon très cher père "ZOUZOU AISSA" qui ma tout appris, pour toutes les peines et les sacrifices qu'il s'est donné pour me voir réussir dans la vie.

A la mémoire de ma mère "MANA DJAMILA" qui a béni mon désir d'apprendre et m'a toujours encouragé, avec tout mon amour et ma reconnaissance pour être devenue ce qui je suis.

A mon frère "CHEMSSE DINE" et sœurs "SAOUSSAN- SAIDA" sur tous ma petite sœur "NARDJESS", qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde tendresse

A mon frère "CHEMSSE DINE" et sœurs "SAOUSSAN- SAIDA" sur tous ma petite sœur "NARDJESS", qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde tendresse

A la personne que j'ai trouvée aux moments difficiles de ma vie « MON FUTURE MARI » mon fiancé "NANI LAZHARI"

A mes fidèles amies "NOUR- KHAWLA- ACHWAK- WISSAM"

ZOUZOU IBTISSAM

DEDICASE

*Je dédie ce modeste travail à la mémoire de
mon père "REGUIAI MEBROUK "*

*A ma mère "KHELIFI Aicha" qui donne l'espoir dans la vie et
pour suivre mon étude.*

Aussi je dédie ce travail A mon frères AKRAM et ABED ELATIF.

*A mes sœurs : WARDA ,FADILA, HIBA, SOUAD, BASMA, CHAHLA
et MANAL qui m'a toujours encouragé pour avancé .*

*A mes oncles YUCEF et leur enfant WISSAM, MUHAMMED ELSADAK ,
AMIRA, WISSAL ,WAIEL ALA ADINE et FODLE leur petite fille MALOUKA*

A mes tantes MIMI et RABIA et leur bourgeon AFRA .

*A mes amis LAILA, HANA, DONIA ZAD, SARA, FATIMA, NADJLA, SOUMIA, HAYAT,
NAWAL, IBISSEM, RAZIKA*

*A mes cousins et le reste de ma famille FATIMA , AICHOUCH
,REBIHA,FATIHA, ABD ELHAFID et AHMED*

REGUIAI HASNA

DEDICASE

*Dédier ce travail à la fois à la plume et m'a
appris à mes parents et mes frères et toute aucun
de nous fatigués de ce travail et à tous les
professeurs de biologie, et aussi pour dédier ce
travail à mes amis.*

*Et dans la finale, j'espère que ce travail diminue admiration et
je veut présenter comme il se doit avec ce sincères salutations
étudiant:*

Messoudi Islam

DEDICASE

*Au Bon Dieu le tout puissant et le tout
miséricordieux, toute sa paix et sa bénédiction
sur son Prophète, pour m'avoir donné force,
courage et bonne santé pour être arrivée à ce
stade de ma vie.*

*Je dédie ce modeste travail à mon père BELKASSEM et ma mère
FAÏMA AZOUBRA qui m'ont soutenu moralement et tout au long de
mes études a mon grand mère FAÏMA.*

Aussi je dédie ce travail A mon frères MOUHAMMED et ADEL

A mes sœurs : MOUFIDA, KARIMA, AMINA et MEBARKA.

A mes ancles et mes tantes et leur enfant.

A tout les familles: BERREZGA et SLIMANI.

*A tous mes amis et camarades surtout amis viager : DJAMIL, KAWIAR,
FAÏMA, MARYAM, FAÏMA ZAFHA, SAFA, SAIDA et ABIR.*

*A tous personnes que n'aurions nommées ici et tous que
connue moi*

BERREZGA SOUMIA

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Introduction Générale	
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Les Huiles Essentielles	
I.1. Définition.....	02
I.2. Historique.....	02
I.3. Répartition et localisation des huiles essentielles dans les plantes.....	03
I.4. Propriétés et caractéristiques générales.....	04
I.5. Compositions chimiques et biosynthèse.....	05
I.5.1. compositions chimiques.....	05
I.5.1.1. Composés terpéniques.....	05
I.5.1.2. Les composés aromatiques	06
I.5.1.3. Les composés d'origine diverses.....	06
I.5.2. Biosynthèse.....	07
I.6. Fonction biologiques.....	07
I.7. Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	07
I.7.1. Origine botanique.....	07
I.7.2. Le cycle végétatif.....	07
I.7.3. Les facteurs génétiques.....	08
I.7.4. Influence du procédé d'obtention des huiles essentielles.....	08
I.7.5. Influence des facteurs extrinsèques.....	08
I.8. Méthodes d'identifications des huiles essentielles.....	09

I.8.1. Le couplage CG/SM.....	10
I.8.2. Chromatographie sur couche mince	11
I.9. Indices physico-chimiques.....	11
II.9.1. Densimétrie.....	11
II.9.2. Réfractométrie.....	12
II.9.3. Détermination de l'indice d'acide.....	13
II.9. 4. Détermination de l'indice d'ester.....	13
I.10. Utilisations des huiles essentielles.....	14
I. 10.1. En alimentation.....	14
I. 10.2. En parfumerie.....	15
I. 10.3. En cosmétologie.....	15
I. 10. 4. En thérapeutique.....	15
Chapitre II: Méthodes d'Extraction des Huiles Essentielles	
II.1. Historique de l'extraction.....	16
II.2. Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	17
II.2.1. Distillation.....	17
II.2.1.1. Hydrodistillation.....	17
II.2.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	18
II.2.1.3. Hydro-diffusion.....	19
II.2.2. Extraction par solvants.....	19
II.2.3. Extraction par les corps gras.....	20
II.2.4. Extraction par micro-ondes.....	21
II.2.5. Extraction par les gaz supercritiques.....	21

II.3. Hydrodistillation et ses variantes.....	23
Chapitre III : Etude de citrus sinensis	
III.1. Définition.....	26
III.2. Historique.....	26
III.3. L'origine et distribution.....	26
III.4. Position systématique.....	27
III.5. Description botanique.....	28
III.6. Principes constituant de l'orange.....	29
III.6.1. Flavonoïdes.....	29
III.6.2. Limonoïdes.....	29
III.6.3. Caroténoïdes.....	30
III.6.4. Acide critique.....	30
III.7. Domaines d'application.....	30
DEUXIEME PATIE : PARTIE PRATIQUE	
Matériels, Méthodes, Résultats et Discussions	
1. Matériels et méthodes.....	32
1.1. Matériels utilisées.....	32
1.1.1. matière végétal (<i>citrus sinensis</i>)	32
1.1.2. Matériels de laboratoire.....	32
1.2. Méthodes expérimentales.....	33
1.2.1. Préparation de l'échantillon.....	33
1.2.2. L'Hydrodistillation.....	34
1.2.3. Mesure de pH.....	35
2.4. Mesure de la rendement.....	36

2.5. Détermination de la densité relative.....	36
2. Résultats et discisions.....	37
2.1. Analyse de Résultats.....	37
2.2. Discussions.....	38
Conclusion Générale.....	40
Références Bibliographiques.....	41

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 01	(A)Illustration schématique du développement des glandes productrices d'huile essentielle dans les familles de Rutacées, (B) diversités des structures de sécrétion des huiles essentielles	04
Figure 02	Structure chimique de quelques composés terpéniques des huiles essentielles	06
Figure 03	schéma du principe de la chromatographie en phase gazeuse	10
Figure 04	chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM	11
Figure 05	Schéma représentant la technique de l'Hydrodistillation	18
Figure 06	Entraînement à la vapeur d'eau	18
Figure 07	Schéma des étapes de l'hydrodiffusion	19
Figure 08	Schéma d'extraction par solvant assistée par micro-ondes.MAE (Microwave Assisted Extraction) et MAP™ (Microwave Assisted Process)	20
Figure 09	Montage d'une distillation par micro-onde	21
Figure 10	Extraction au CO ₂ supercritique	22
Figure 11	Fleurs, feuilles et fruits de <i>Citrus sinensis</i>	27
Figure 12	Différents organes de l'orange douce (<i>citrus sinensis</i>)	28
Figure 13	Site géographique de récolte	32
Figure 14	Clevenger modifié	33
Figure 15	Echantillon prêt à utiliser (sec)	33
Figure 16	Coloration des huile essentielle obtenue(A-sèche, B-humide)	37

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 01	Avantages et inconvénients des méthodes d'extraction étudiées	24
Tableau 02	propriétés nutritionnelles de l'orange	31
Tableau 03	Protocoles expérimentaux	34
Tableau 04	Propriétés organoleptiques de l'échantillon	34
Tableau 05	Propriétés physicochimiques mesurées	38

LISTE DES ABREVIATIONS

A.F.N.O.R : Association Française de Normalisation

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

DIF : Détecteur a ionisation de flamme.

HE : Huile essentielle

J.C : Jésus-Christ

IRTF : Infrarouge par Transformée de Fourier.

IA : Indice d'acide.

IE : Indice d'ester.

ISO : International Standard Organisation

MVA : Mévalonique

R(%) : Pourcentage du rendement des huiles essentielles

RF : Rapport Frontal

SM : Spectrométrie de masse

VMHD : Vacuum Microwave Hydro distillation

***INTRODUCTION
GENERALE***

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner. L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde (**azalenka k., 2005**).

Mais actuellement, les recherches scientifiques retrouvent que les plantes ont d'autres intérêts. Ces intérêts sont dues à la présence des compositions chimiques bioactives appelées "principe actifs" (**Omrane et Menhour., 2003**).

Parmi les plus importants de ces principe actifs sont les huiles essentielles qui confèrent aux plantes et aux fruits leur propriétés, et elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisations.

On a le genre citrus entre les genres végétales qui sont capable d'élaborées les composants des huiles essentielles.

L'huile essentielle sera extraite par hydrodistillation. Elle sera ensuite isolée par une technique appropriée. Les principes propriétés sont identifié principalement par des analyses physicochimique.

Dans ce contexte, nous avons étudiées l'huile essentielle qui est extrait par l'hydrodistillation de l'espèce de *citrus sinensis* de la région de Blida. Ainsi, nous avons traitées les propriétés, les caractéristiques morphologiques et chimiques de cette espèce. Enfin, fait des études analytiques de l'huile essentielle obtenus.

Pour ce faire, nous avons subdivisé notre travail en deux partie :

- La première partie contient les résultats de la recherche bibliographique et qui est subdivisée en trios chapitres :
 - ✓ Chapitre I : il consiste à la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle, et quelques caractérisations physicochimiques et organoleptiques de ses composés avec les différentes méthodes d'identification.
 - ✓ Chapitre II : il comporte les différentes techniques d'extractions avec leurs principaux avantages et inconvénients.
 - ✓ Chapitre III : il interprète l'espèce cible avec sa position systématique, sa description botanique, ses principaux constituants chimiques et leur domaine d'applications.
- La deuxième partie, fait l'objet de travail expérimental, à savoir, les matériels, les méthodes, les résultats et les discussions.

PREMIER PARTIE
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
GENERALITES
SUR LES HUILES
ESSENTIELLES

Chapitre I : Les Huiles Essentielles

I.1. Définition

Selon les normes AFNOR et ISO : « l'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (ISO, 1997; AFNOR, 2000) (Bougeurra A., 2012).

Par contre, selon NAVES aucune des définitions des huiles essentielles n'a le mérite de la clarté des définitions ni celui de la précision. La meilleure et la plus générale ne peut être que la suivante « les huiles essentielles sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale ; ou animale. Ces mélanges passant avec une certaine proportion lors d'une distillation effectuée dans un courant d'eau » (Slougi N., 2002).

I.2. Historique

L'utilisation des huiles essentielles remonte à la haute antiquité, période à laquelle ces dernières furent connues. En effet, 4000 ans avant J.C., les égyptiens préparaient déjà l'essence de cèdre par distillation sèche et effectuaient aussi les momifications suivant une technique très l'aide d'essences aromatiques dont il savaient remarqué les propriétés antiseptiques.

La première essence signalée dans un traité médical est celle du romarin utilisé au XIII^e siècle pour ses propriétés curatives. Le romarin est connu depuis l'Antiquité pour son parfum balsamique.

L'essence de romarin, à la senteur camphrée pénétrante est utilisée à faible dose comme stimulant digestif et aussi pour soigner les fermentations intestinales. Les Arabes ,experts en alchimie et en médecine ont inventé au Haut Moyen-âge, le serpentini qui permet de perfectionner la réfrigération du produit distillé. Par ailleurs, la découverte en 1754, de l'eau de Cologne par un négociant italien, marque la naissance d'une véritable industrie des parfums. Cette industrie s'est développée au XIX^e siècle, notamment avec l'arrivée sur le marché de produits de synthèse issus du progrès de la chimie.

En 1931, le chimiste français René-Maurice Gatte fossé publia ses découvertes dans son livre intitulé « Aromathérapie ». Il est considéré comme le père de l'aromathérapie moderne.

Durant la guerre de 1939-1945, le Dr. Jean Valnet guérissait les blessures en utilisant des huiles essentielles.

Les vertus curatives des huiles essentielles furent vulgarisées par son premier livre publié en 1964 :

« L'aromathérapie, traitement des maladies par les essences des plantes »

Aujourd'hui cependant, on se rend compte de la supériorité de la valeur olfactive et thérapeutique des huiles essentielles, ainsi que de leur innocuité, d'où l'intérêt pour les essences jusqu'à nos jours (**NOURACHANI I., 2010**) (**VALISOLALAO J., 1989**) (**RAZAKARIVONY, 2009**).

I.3. Répartition et localisation des huiles essentielles dans les plantes

Les huiles essentielles sont presque exclusivement produites par les plantes de l'embranchement des Spermaphytes. Par ailleurs, les genres qui sont capables d'élaborer les principes volatils sont approximativement regroupés dans un nombre assez restreint de familles, notamment les Magnoliacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées.

Les huiles essentielles sont rencontrées dans tous les organes végétaux : fleurs (bergamote rose), feuilles (citronnelle ,laurier), racines (vétiver), rhizomes (cannelle), fruits ou graines (badiane, muscade) (gingembre), bois (santal), écorces .

Si tous les organes d'une même plante peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de celle-ci peut varier selon sa localisation dans la plante.

La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à l'existence de structures histologiques spécialisées, le plus souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. Ces formations sont les suivantes :

- ✓ Cellules à essence, incluses dans l'épiderme (Lauracées, Zingibéracées) ou à l'extrémité des poils (Labiées).
- ✓ poils sécréteurs stipités (pélargonium) ou sessiles et à tête pluricellulaire (Labiées).
- ✓ canaux sécréteurs obtenus par allongement des poches sécrétrices ; (Térébinthacées Ombellifères) (**BRUNETON J., 1987**) (**RANDRIANTSO A., 2004**).

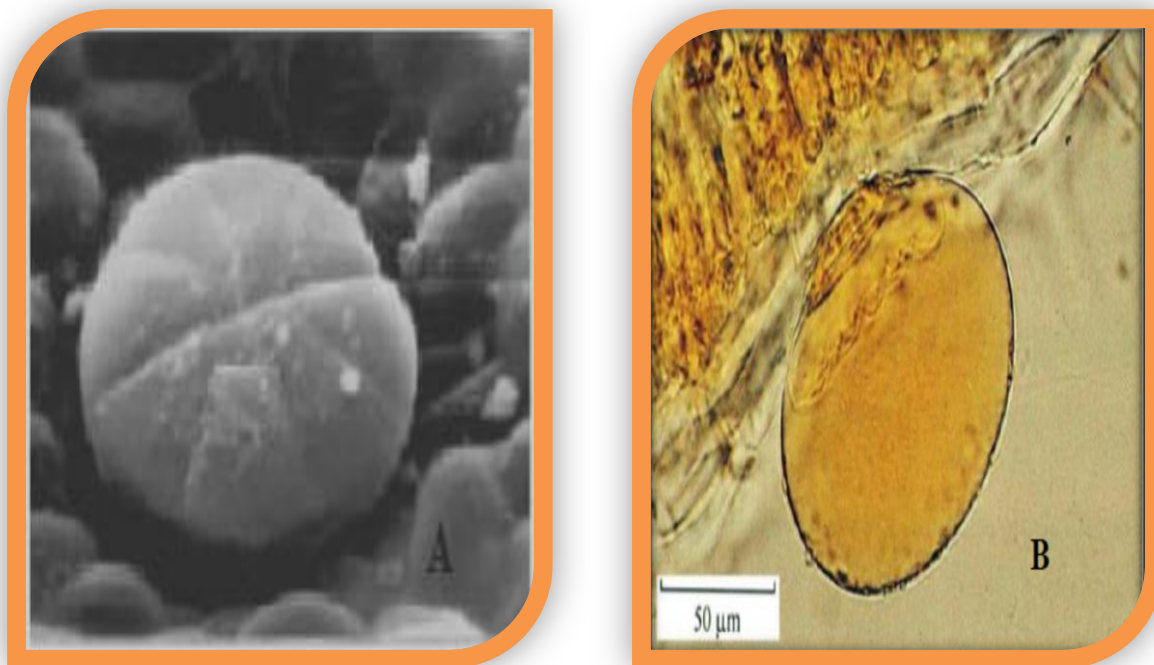


Figure 01: (A) Illustration schématique du développement des glandes productrices d'huile essentielle dans les familles de Rutacées, (B) diversités des structures de sécrétion des huiles essentielles (GASPAR F et JEEKE G., 2004).

I.4. Propriétés et caractéristiques générales

Selon (Bardeau, 1976 ; Legrand, 1978 ; Lemberg, 1982 ; Bruneton, 1999), les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés, elles se distinguent les unes des autres par :

- ✓ **leurs propriétés organoleptiques** : l'aspect, la couleur, la saveur, l'odeur ;
- ✓ **leurs propriétés physiques** : la densité, l'indice de réfraction, le pouvoir rotatoire, la solubilité ;
- ✓ **leurs propriétés chimiques** : la composition chimique, l'indice d'acide et d'ester, l'indice de saponification, d'alcool, de phénol et de composés carbonylés.
- ✓ **Leur propriétés pharmacologiques** : l'activité d'une huile essentielle et celle de la plante dont elle provient ne sont pas forcément identiques. Une telle superposition n'est que rarement possible.
- ✓ **propriétés spasmolytiques et sédatives** : les essences de menthe ou verveine sont réputées puissantes pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux. Par ailleurs, elles stimulent la sécrétion gastrique, aident à soigner certaines insomnies et différents troubles psychosomatiques.

✓ **pouvoir antimicrobien** : ce pouvoir s'exerce à l'encontre de bactéries pathogènes variées, y compris des souches communément résistantes aux antibiotiques. Certaines huiles essentielles sont aussi actives sur les champignons responsables de mycoses et sur les levures (*Candida*).

I.5. Compositions chimiques et biosynthèse

Sur le plan chimique, les huiles essentielles sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les monoterpènes (myrcène, β -pinène, γ -terpinène) et les sesquiterpènes (β - Caryphyllène, α -humulène, β -bisabolène...etc) (CROTEAU R .et al., 2000).

I.5.1. Compositions chimiques

I.5.1.1. Composés terpéniques

- Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes). Les terpènes sont des hydrocarbures naturels ayant une structure cyclique ou une chaîne ouverte. Leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le (x) est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et (n) peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100. La molécule de base est l'isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène) de formule C_5H_8 (COUITAH O., 2012).

Selon le nombre d'unités isoprénique qui les constituent on distingue :

✓ Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (BRUNETON G., 1999) (LAOUER H., 2004).

✓ Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les

alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (**BRUNETON G., 1999**) (**LAOUER H., 2004**).

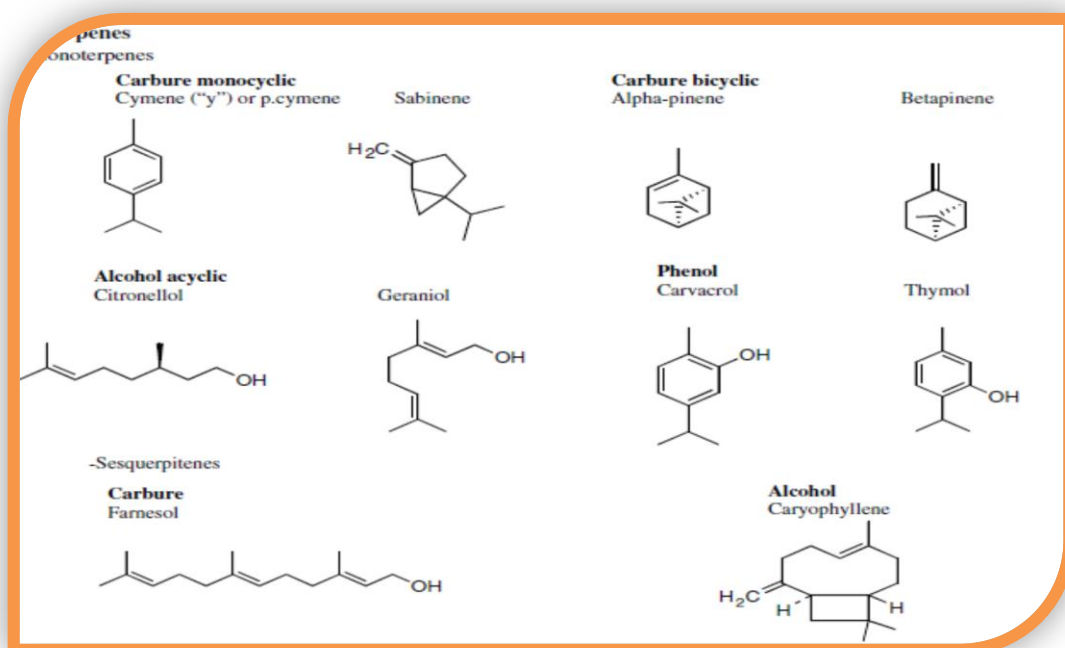


Figure 02: Structure chimique de quelques composés terpéniques des huiles essentielles (**BAKKALI F .et al., 2008**).

I.5.1.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole et bien d'autres.

I.5.1.3. Les composés d'origine diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique et α -linoléique en (3-cis hexanol, décanal, β -ionone) (**PIOCHON M., 2008**).

❖ Notion de chémotype

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'huile essentielle. C'est l'élément qui permet de distinguer des huiles essentielles extraites d'une même variété botanique mais, d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner

les huiles essentielles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace (**PIBIRI M.C., 2005**).

I.5.2. Biosynthèse

Bien que l'isoprène soit l'unité principale dans la composition des terpènes ; il n'est pas pour autant leur véritable précurseur, c'est ce qui est démontré par RUZICA dans la règle isoprénique biogénétique. Les terpènes sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique nommé aussi la voie mévalonique (MVA). Leur biosynthèse végétale prend son origine au niveau de l'acétyl-coenzyme A ($\text{CH}_3 \text{COSCoA}$), produit de la glycolyse (catabolisme des sucres). L'étude des mécanismes réactionnels régissant la biosynthèse des terpènes , a montré l'existence de plusieurs étapes (**NAIT ACHOUR K., 2012**).

I.6. Fonction biologiques

La volatilité et l'odeur caractéristique des huiles essentielles font qu'elles contribuent à la communication entre les végétaux. En effet, ces substances jouent un rôle non négligeable dans la pollinisation et la dispersion des spores. Souvent, elles constituent un moyen de défense vis-à-vis des pathogènes (microorganismes, champignons, insectes et herbivores) et parfois elles semblent avoir une action télétoxique sur la germination. Ces diverses actions sont facilitées par la localisation périphérique des éléments sécréteurs. La complexité de la composition des huiles permet le transfert des « messages » complexes et sélectifs (**Aichouchi S. et Arar H., 2012**).

I.7. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

I.7.1. Origine botanique

La composition d'une huile essentielle varie selon l'espèce productrice. Ainsi, il semble utile de souligner l'importance qu'il convient d'accorder à la nomenclature (**Bruneton J., 1999**).

I.7.2. Le cycle végétatif

Pour une donnée, la proportion des constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long du développement. Des variations parfois très importantes sont couramment observées dans certaines espèces, par exemple, pour la coriandre, la teneur en linalyle est 50% plus élevée chez le fruit mur que le fruit vert. De ce fait, le choix d'une date de récoltes s'impose (**Bruneton J., 1999**).

I.7.3. Les facteurs génétiques

✓ Les hybridations

Les hybridations introduisent l'hétérogénéité dans une population végétale. La composition des huiles essentielles issues de ces hybrides est variable et se situe en général entre celles des huiles essentielles des plantes mères.

✓ Les facteurs de mutation

Par mutation, une nouvelle race chimique peut apparaître. Elle peut être à peine perceptible de provoquer de profondes modification dans la composition de l'huile essentielle (**Abdelouahid D et Bekhechi C., 2010**).

✓ Les races chimiques

Les chimiotypes (ou les races chimiques) sont très fréquentes chez les plantes d'huiles essentielles, et ceci, pour même espèce botanique. Ces races chimiques peuvent fournir, de part leur composition, différentes huiles essentielles (**Abdelouahid D et Bekhechi C., 2010**).

I.7.4. Influence du procédé d'obtention des huiles essentielles

La labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans des organes sécréteurs du végétal. En effet, au cours de l'hydrodistillation, l'eau et température peuvent induire l'hydrolyse des esters, mais aussi, des réarrangements, des isomérisations, des racémisation et des oxydations. Donc, pour assurer la quantité du produit et de sa constance, il faut étudier, définir et contrôler l'ensemble des paramètres, de la culture à l'élaboration du produit final (**Abdelouahid D. Bekhechi C., 2010**).

I.7.5. Influence des facteurs extrinsèques

La nature du sol ainsi que les conditions climatiques influent directement sur la production des huiles essentielles. Parmi ces facteurs, nous avons :

✓ La lumière et la température

Elles sont plus influentes sur la composition des huiles essentielles, d'ailleurs, elles agissent sur celle-ci simultanément. Certains auteurs admettent que la quantité d'essence augmente dans la journée, atteint un maximum dans l'après-midi ou le soir et diminue dans la nuit. D'autres disent, que les plantes destinées à l'extraction des essences doivent être cueillies avant l'aube, lorsque la rosée du matin est encore présente et avant que la chaleur n'en libère la substance aromatique. Cependant, sur d'autres espèces, on signale que la rendement nocturne en essences est de 20% supérieur à celui du jour (**Padrini et Lucheroni., 1996**).

✓ Les problèmes phytosanitaires***Les maladies**

Les plantes malades sont caractérisées par une déformation, une chute prématurée des feuilles ainsi que des rameaux aux taches brunes (**Abdelouahid D. Bekhechi C., 2010**).

***Les ennemis animaux**

Les plus dévastateurs et donc les plus redoublés sont les nématodes pathogènes. Par les attaques qu'ils occasionnent aux parties souterraines, ces derniers diminuent la longévité des cultures et des rendements (**Abdelouahid D. Bekhechi C., 2010**).

***La nature du sol**

Les pratiques culturales sont également déterminantes sur le rendement et qualité du produit final. L'apport d'engrais et l'influence des variations N, P, K, ont été étudiés pour diverses espèces (**Abdelouahid D., Bekhechi C., 2010**).

I.8. Méthodes d'identifications des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des matières premières pour les secteurs de l'industrie pharmaceutique, de l'agroalimentaire et de la cosmétique. La connaissance parfaite de la compositions chimiques de ces substances permettrait aux professionnels des secteurs précités reste une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques qui sont dans certains cas complémentaires.

La technique incontournable pour individualiser les constituant d'un mélange reste la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Cette méthode est souvent combinée avec une technique d'identification spectrale, généralement la spectrométrie de masse (SM) ou la

spectrométrie Infrarouge par Transformée de Fourier (IRTF) ou spectrométrie de masse. Aussi en a le chromatographie sur couche mince (NOURACHANI I., 2010).

I.8.1. Le couplage CG/SM

Le couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse est aujourd'hui une des techniques parmi les plus utilisées de la chimie analytique. L'association des deux techniques fournit un instrument d'analyse particulièrement performant.

La principale difficulté rencontrée lors de ce couplage est due à la grande différence de pression. En effet, la spectrométrie de masse requiert un niveau de pression très bas, alors que la chromatographie en phase gazeuse se déroule à un niveau de pression très élevé. Ainsi le couplage CPG/SM en mode impact électronique (SM-IE) est la technique la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles (CAVALLI J.F., 2002). Le bombardement de substance par un faisceau d'électron d'énergie de l'ordre de 70 eV provoque leur ionisation et leur fragmentation. Les fragments ioniques positifs forment alors le spectre de masse caractéristique du composé. Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés avec ceux des produits de référence contenus dans des bibliothèques informatisées contenant plusieurs milliers de spectres (COUITAH O., 2012).

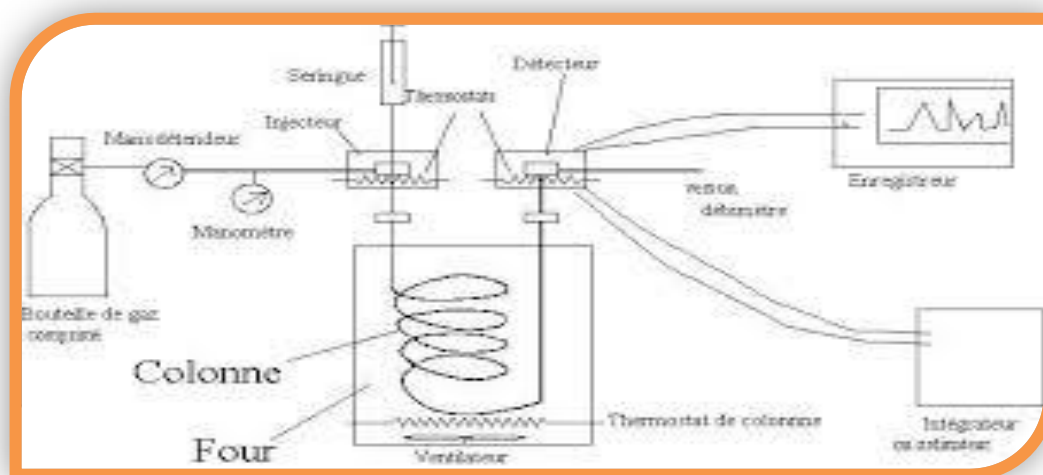


Figure 03: schéma du principe de la chromatographie en phase gazeuse (BESOMBES, 2010).

I.8.2. Chromatographie sur couche mince

La CCM est utilisée comme technique de routine, pour l'analyse rapide de fractions obtenues à la suite d'une séparation initiale. L'efficacité de la CCM comme technique de séparation est souvent mise à profit dans la phase ultime de purification, au moins sur de faibles quantités, lorsque les autres techniques ont montré leurs limites.

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption: la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Après la migration, le repérage des molécules s'effectue soit par ultra-violet (UV), soit par un colorant spécifique ou encore par exposition aux vapeurs d'iode. La distance de migration des composés est ensuite mesurée et comparée à celle du front de la phase mobile, ceci permet de définir la rapport frontal R_f caractéristique de chaque composé (Sylvain S., 2010).

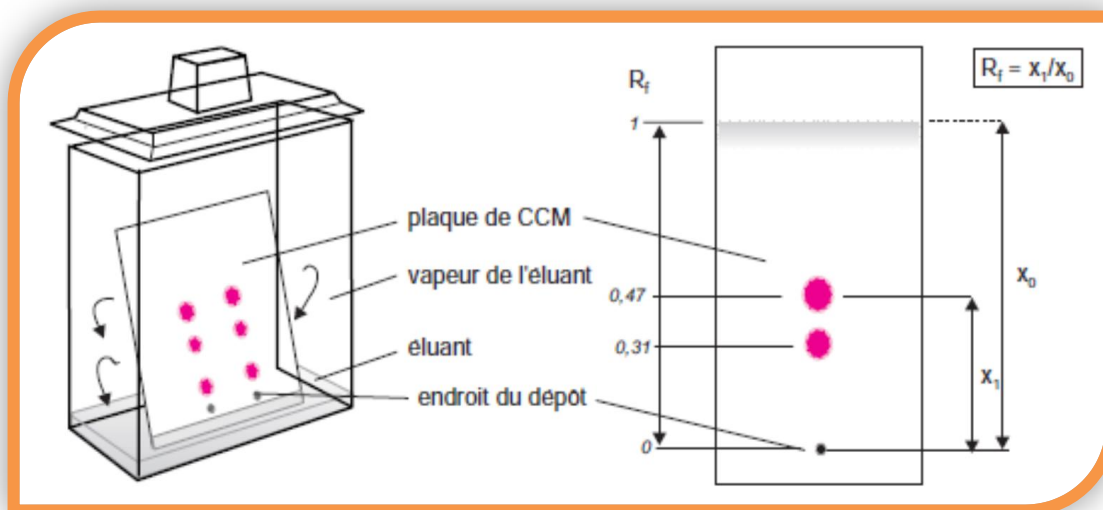


Figure 04 : Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM (Sylvain S., 2010)

I.9. Indices physico-chimiques

II.9.1. Densimétrie

Cette technique vise à déterminer la valeur de la densité relative ou densité d'un échantillon, autrement dit, le rapport entre les masses respectives d'un volume de l'échantillon et d'un même volume d'eau, mesurées à une température définie. Dans le cadre de notre étude, la densimétrie est réalisée suivant les indications de la norme ISO 279 : 1998 (F).

la densité relative à 20°C du produit est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$D_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Où :

m0 = masse en g du pycnomètre vide ;

m1 = masse en g du pycnomètre rempli d'eau distillée ;

m2 = masse en g du pycnomètre rempli d'huile.

II.9.2. Réfractométrie

L'indice de réfraction est une caractéristique physique souvent utilisée dans les analyses des produits industriels ou naturels afin d'en vérifier la pureté. On peut aussi l'utiliser pour caractériser une solution, notamment aqueuse, au cours du processus de fabrication (sucrierie, confitures). L'indice de réfraction relie le sinus de l'angle d'incidence à celui de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.

Pour des températures différentes de 20°C, la valeur de l'indice est donnée par la formule suivante :

$$n^t_D = n^{t'}_D + 0,0004 (t' - t)$$

Où $n^{t'}_D$ est la valeur lue, obtenue à la température t' , à laquelle a été effectuée la détermination et n^t_D est la valeur de l'indice de réfraction à la température de référence $t = 20^\circ\text{C}$. Le résultat est exprimé avec quatre décimales.

Il s'agit d'une opération qui permet de rechercher l'activité optique aléatoire d'un produit en solution ou d'un liquide. Elle est réalisée suivant les indications de la norme ISO 592 : 1998.

Cette technique a pour objectif de déterminer la valeur de l'angle de rotation, exprimée en milliradians ou en degré d'angle du plan de polarisation de la lumière. Ceci après que cette dernière ait traversé certaines substances pouvant faire dévier le plan de vibration. Des substances douées d'une telle propriété appelée « pouvoir rotatoire » sont qualifiées d'optiquement actives. Il s'agit d'isomères appelés énantiomères.

Noté α^t_D , le pouvoir rotatoire du produit est exprimé en milliradians et/ou degrés d'angle, à la température t et se calcule comme suit :

$$\alpha^t_D = A \times 100 / L$$

Où :

A = la valeur de l'angle de rotation, en milliradians et/ ou degrés d'angle ;

L = la longueur du tube utilisé, en mm.

II.9.3. Détermination de l'indice d'acide

Il s'agit du nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaires à la neutralisation des acides libres contenus dans 1 g d'HE. Cet indice est déterminé selon les indications de la norme ISO 1242 : 1999(F).

L'indice d'acide **IA** est calculé par la formule ci-après :

$$IA = V \times C \times M / m$$

Où :

V = volume en ml de KOH utilisé pour le titrage ;

C = concentration exacte en mole/l de la solution de KOH ;

m = masse en g de la prise d'essai.

M = masse molaire de KOH (56,11 g/mole)

II.9. 4. Détermination de l'indice d'ester

Il s'agit du nombre de milligrammes de KOH nécessaires à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'HE. L'indice d'ester est déterminé suivant les indications de la norme ISO 709 : 2001(F).

L'indice d'ester, **IE** est donné par l'équation ci-après :

$$\mathbf{IE = 28.05 \times (V_0 - V_1) / m}$$

Où :

V0 = volume en ml de HCl 0,5 N utilisé pour l'essai à blanc ;

V1 = volume en ml de HCl 0,5 N utilisé pour la prise d'essai ;

m = masse en g d'huile essentielle ;

IA = valeur de l'indice d'acide déterminée conformément à la norme ISO 1242 : 1999(F).

Cette formule est valable si et seulement si l'indice d'ester est déterminé indépendamment de l'indice d'acide.

Dans le cas où la détermination est effectuée sur la solution provenant de la détermination de l'indice d'acide, **IE** est calculé comme suit :

$$\mathbf{IE = 28.05 \times (V_0 - V'_1) / m}$$

Où **V'1** est le volume, en ml, de solution de HCl 0,5 N utilisé dans cette nouvelle détermination . L'indice d'ester est exprimé avec deux chiffres décimaux significatifs s'il est inférieur à 100 et avec trois chiffres décimaux significatifs s'il est supérieur à 100.

(ATTOU A., 2011)

I.10. Utilisations des huiles essentielles

I. 10.1. En alimentation

Les huiles essentielles jouent un rôle capital dans l'aromatisation des aliments. En effet, elles donnent la flaveur aux condiments (poivre, gingembre) et aux aromatisants (menthe, anis, oranger thym, laurier) .

A faible dose, certaines substances ont un effet favorable sur la digestion, ce qui explique leur utilisation en liquoristerie (essence d'anis ou de badiane).

Les huiles essentielles entrent donc, pour leurs diverses propriétés, dans la composition des arômes employés de manière fréquente aujourd'hui dans tous les produits alimentaires comme les plats cuisinés ou prêts à l'emploi.

I. 10.2. En parfumerie

Les huiles essentielles sont des matières premières importantes dans l'industrie des parfums. L'enfleurage se révèle alors être la méthode d'extraction la plus appropriée. L'industrie de la parfumerie traite d'importants tonnages d'essences telles celles de rose, de jasmin, de citron ou de santal.

I. 10.3. En cosmétologie

Beaucoup d'huiles essentielles ont des propriétés intéressantes dans le domaine de la cosmétologie. C'est le cas par exemple :

- ✓ du basilic et du romarin à propriétés tonifiantes;
- ✓ du romarin et du thym qui ont des propriétés antipelluculaire;
- ✓ de la rose et de la lavande qui stimule la régénération des cellules dermiques.

Actuellement, on préfère utiliser des produits naturels qui sont censés ne pas avoir d'effets secondaires graves par rapport aux produits de synthèse. En effet, il ne signifie pas non toxique. «naturel »faut pas oublier que.

I. 10. 4. En thérapeutique

Les huiles essentielles ont depuis longtemps été employées pour leurs effets thérapeutiques. Elles sont utilisées en particulier en raison de leurs vertus antibactériennes, telles l'action antiseptique des voies respiratoires des essences d'eucalyptus ou de niaouli. Elles sont administrées par massages , inhalations, vaporisation ou dans le bain (**KESBI A., 2011**).

CHAPITRE II
METHODES
D'EXTRACTION DES
HUILES ESSENTIELLES

Chapitre II: Méthodes d'Extraction des Huiles Essentielles

II.1. Historique de l'extraction

Si la bibliographie résultante du mot « extraction » révèle un très grand nombre de travaux, aucun d'entre eux ne concerne directement notre approche de l'extraction de la matière végétale assistée par induction directe, et très peu d'entre eux concernent plus particulièrement le domaine des réactions de synthèse assistées du même procédé. En effet, l'extraction est présentée, la plupart du temps, comme un procédé de séparation par lequel un matériau peut être traité par différentes méthodes. Dans le cas particulier des huiles essentielles d'une façon générale, l'extraction est faite par entraînement à la vapeur d'eau. Cette méthode est un procédé de séparation basé après condensation sur la différence de la composition entre l'eau et la vapeur produite pendant l'exécution de l'opération unitaire (**Lawrencet B., 2000**).

Sur le plan historique, le développement des procédés d'extraction à ses origines dès l'antiquité. Par exemple, les colorants ont toujours joué un rôle très important dans la vie de l'homme. Des fragments de tissus teints à partir de garance, datés de 3500 ans avant J.C., ont été découverts dans les ruines de certaines civilisations indiennes. Le bleu maya a été découvert en 1931 sur les peintures murales de Chichen Itza en Yucatan, Mexique (**Cristea D., 2003**).

Plus tard, au cours du 18^{ème} siècle, commence l'utilisation de solvants d'origine pétrochimique pour extraire les matières naturelles. En France, a été breveté par E. Disse en 1855, un procédé pour extraire la graisse à partir d'arêtes, d'os et de bois qui utilise du désulfite de carbone comme solvant. Une année plus tard, le même auteur a développé une méthode pour l'extraction des huiles de graines et a construit une usine productrice d'huile d'olive à Marseille.

En 1870, l'extraction par solvant en batch a été mise en œuvre comme un procédé industriel en Europe ; cette innovation industrielle s'est développée dans toute la France et l'Italie. Par ailleurs, le désulfite de carbone, le naphte, le trichloréthylène et l'éthanol sont commercialisés très tôt comme solvants pour l'extraction des huiles de graines.

Aux alentours de 1905 - 1910, le naphte et le gasoil ont commencés à être des produits recherchés. Pendant et après la première guerre mondiale, l'Europe a stocké des graisses et des huiles pour l'usage alimentaire, produire des explosifs ainsi que pour d'autres usages industriels. Au voisinage des années 1940, l'industrie d'extraction des huiles exige un produit exempt de solvant. Alors, les produits sont portés à ébullition et distillés pour avoir une meilleure pureté (Cristea D., 2003).

II.2. Techniques d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, fruites), le rendement en huile, la fragilité de certains constituants des huiles et la volatilité de l'huile (Chetioui N et Dellabani S., 2012).

II.2.1. Distillation

D'une façon générale, la distillation est un procédé de séparation basé sur la différence de composition entre un liquide et la vapeur engendrée. La technique implique la condensation de la vapeur et la récupération des fraction liquides résultantes. La distillation est dite simple ou fractionnée lorsqu'il s'agit de liquide miscible. On parle également de distillation hétérogène lorsque les liquides sont non miscibles.

II.2.1.1. Hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à ébullition. Les composant d'un tel mélange se comporte comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est-à-dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage couteux. Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réaction d'hydrolyse, de réarrangement, de racémisation, d'oxydation, d'isomérisation ; etc. qui peuvent très sensiblement conduire à une dénaturation (Attou A., 2011).

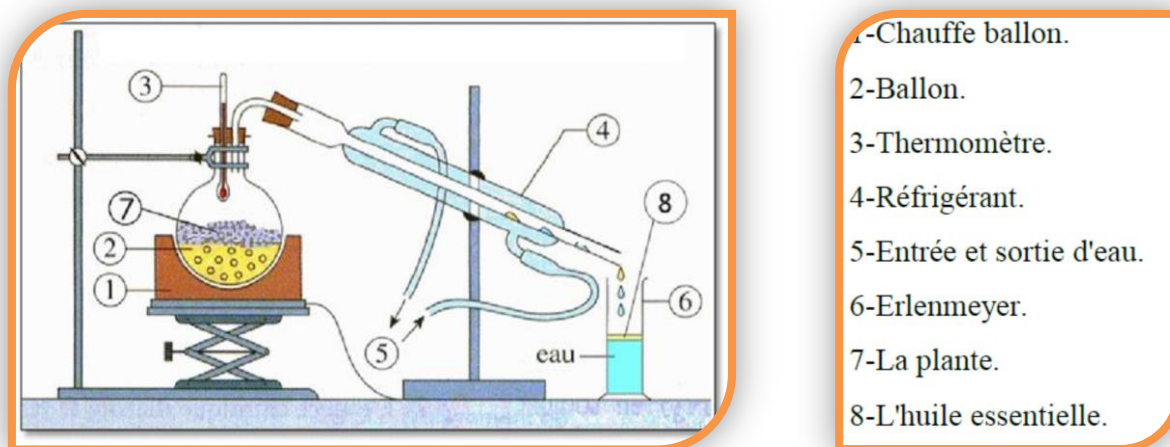


Figure 05: Schéma représentant la technique de l'Hydrodistillation (Lucchesi M E.,2005).

II.2.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange (eau+ huile essentielle). Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Nait Achour K., 2012).

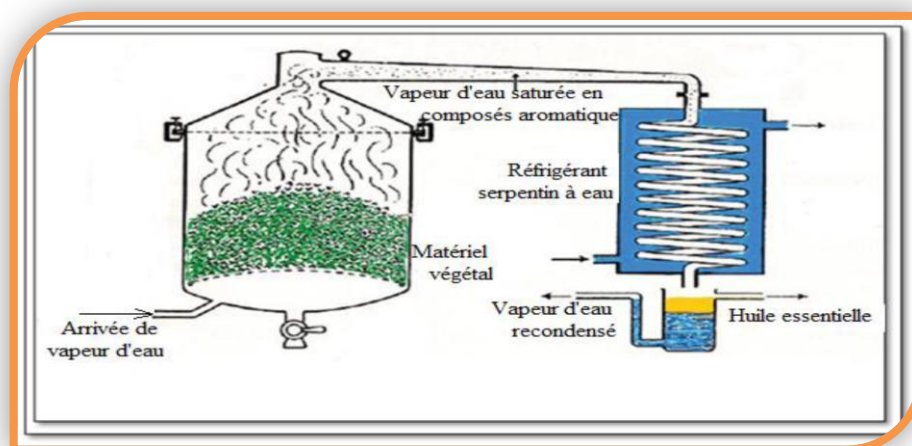


Figure 06 : Entraînement à la vapeur d'eau (Lucchesi M E.,2005).

II.2.1.3. Hydro-diffusion

L'hydro diffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur d'eau. Dans le cas de l'hydro diffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange (vapeur d'eau - huile essentielle) dispersé dans la matière végétale.

Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydro diffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydro diffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

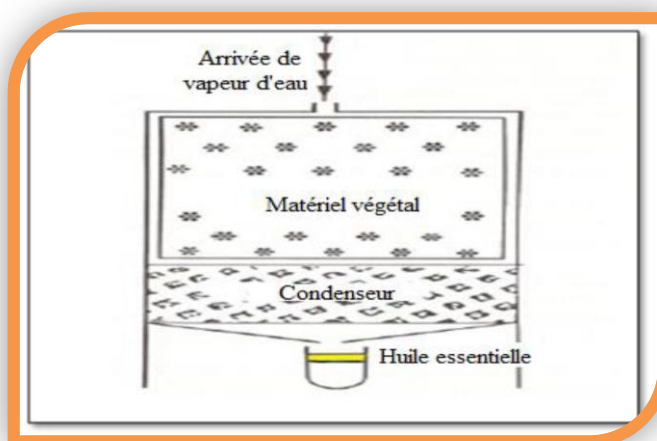


Figure 07 : Schéma des étapes de l'hydrodiffusion (Nait Achour K., 2012).

II.2.2. Extraction par solvants

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se déroule dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par un alcool. L'extraction par solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre désavantage de cette extraite par les solvants est leur manque de sélectivité, de ce fait de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires,

coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure.

Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques. Le pouvoir du solvant à l'égard des constituants odorants (la stabilité, inertie chimique, température d'ébullition) pour permettre son élimination totale, pas trop faible pour éviter les pertes et donc une élévation des coûts, sécurité de manipulation.

Les solvants les plus utilisés sous réserve de législation restrictives particulières, ce sont les hydrocarbures aliphatiques: éther de pétrole, hexane, propane ou butane liquide, après l'extraction le solvant est distillé en fin de l'opération.

Si l'utilisation de solvant à bas point d'ébullition évite les dégradations induites par la présence d'eau et par les pH aides. Diverses modifications ne demeurent néanmoins possibles avec des solvants comme l'acétone ou comme les alcools quoique dans ce dernier cas des traces d'éthers éthyliques ne sont pas toujours nuisibles aux qualités olfactives du produit final (Couitah O., 2012).

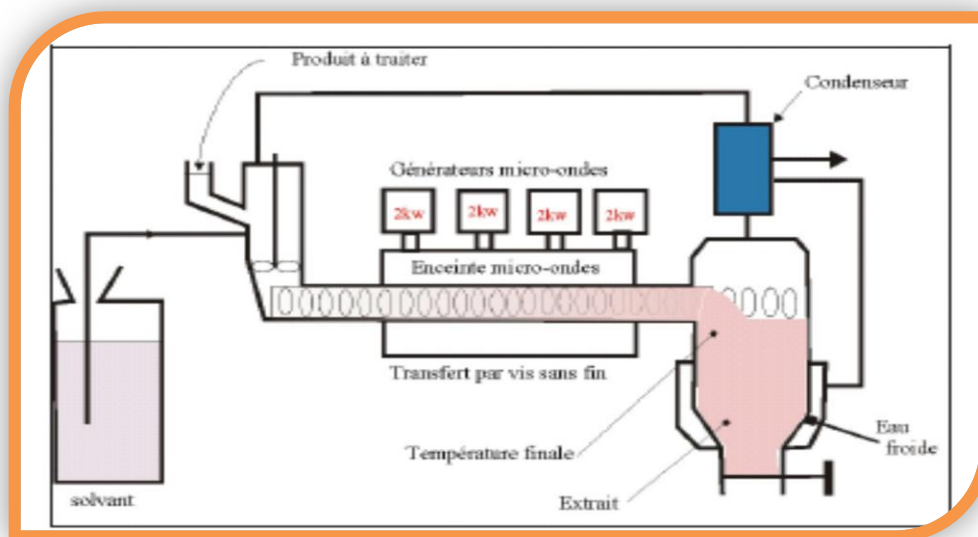


Figure 08: Schéma d'extraction par solvant assistée par micro-ondes. MAE (Microwave Assisted Extraction) et MAP™ (Microwave Assisted Process) (Sylvain S., 2010).

II.2.3.Extraction par les corps gras

Cette méthode est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste

à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite. Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion qui se pratique à chaud; par immersion des oranges végétaux dans le corps gras (Couitah O.,2012).

II.2.4. Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelé : " Vacuum Microwave Hydro distillation (V MHD)" consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extraction du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensat (Selles C., 2012).

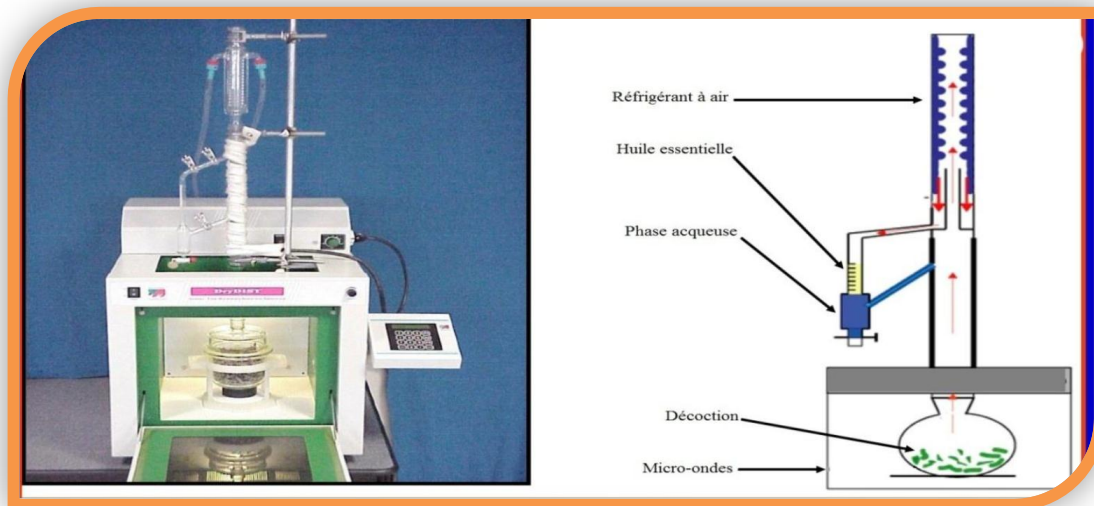


Figure 09 : Montage d'une distillation par micro-onde (Nait Achour K., 2012).

II.2.5. Extraction par les gaz supercritiques

Au-delà du point critique, un fluide peut avoir la densité d'un liquide et la viscosité d'un gaz, d'où une bonne diffusibilité dans les solides et un bon pouvoir solvant. Si plusieurs gaz peuvent en théorie être utilisés, l'intérêt s'est porté initialement sur le dioxyde de carbone, ce qui s'explique si l'on considère ses atouts : produit naturel, inerte chimiquement,

inflammable, strictement atoxique, facile à éliminer totalement, sélectif, aisément disponible, peu réactif chimiquement et peu coûteux. Si les contraintes technologiques sont loin d'être négligeables (point critique se situe à $P=73,8$ bars et $T=31,10^{\circ}\text{C}$) les avantages sont nombreux : capacité à fournir des extraits de composition très proche de celle des produits naturels, possibilité de faire varier la sélectivité, la viscosité jouant sur la température et la pression, absence d'hydrolyse et de réarrangements.

Le dioxyde de carbone refroidi et comprimé à une pression inférieure à la pression critique passe à l'état liquide. Il est comprimé puis chauffé à une pression et température fixées selon la nature de l'extrait voulu (huiles essentielles et oléorésine) le fluide traverse ensuite la cuve d'extraction où se trouve le matériel végétal, le CO_2 supercritique chargé en soluté est en suite d'étendu au dessous de la pression critique avant d'entrer dans le séparateur et passer à l'état gazeux. Il perd ainsi ses propriétés de solvant et permet aux solutés de précipiter et d'être récupérés le CO_2 peut être alors recyclé ou éliminé. Cette technique assure l'obtention d'extrait non hydrolysés, oxydés ou estérifiés et du fait que la température critique de CO_2 est 37°C , les risques de dégradation thermique sont éliminés. La pression critique est facilement atteinte dans une opération de production.

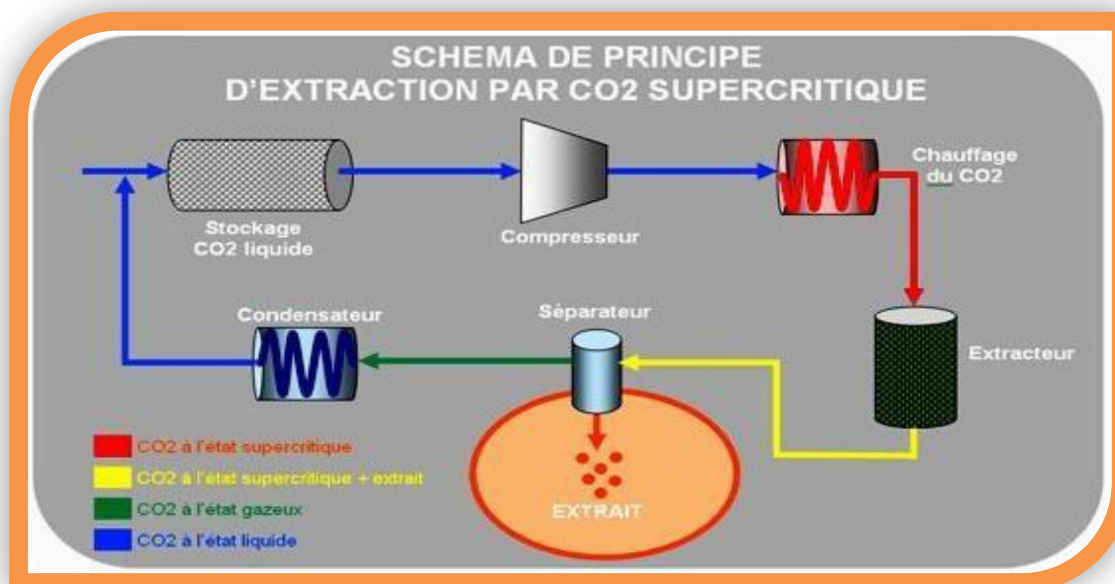


Figure 10 : Extraction au CO_2 supercritique (Couitah O., 2012).

D'après l'entreprise Grassoise Firmenich Cette technique n'est pas facilement recommandée pour le matériel végétal donnant un produit faible valeur ou avec un rendement faible (Couitah O., 2012).

II.3. Hydrodistillation et ses variantes

C'est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle et pour le contrôle de qualité. Le matériel végétale est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. L'ensemble est porté à ébullition. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont entraînées par la vapeur d'eau créée.

Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exception), elle surnage au-dessus de l'hydrolat.

La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé colombage. A l'échelle du laboratoire, le système utilisé pour l'extraction des huiles essentielles en accord avec la pharmacopée Européenne est le "Clevenger".

Pour les essences difficilement distillables, l'Hydrodistillation sous pression est une technique de choix. On traite ainsi certaines matières premières dont les constituants ne peuvent être entraînés par la vapeur à pression atmosphérique du fait de leur masse moléculaire élevée, par exemple le santal, le girofle, les rhizomes de vétiver, de gingembre ou d'iris.

Bien que le procédé sous pression conduise à une amélioration du rapport d'entraînement donc à des économies d'énergie, l'influence d'une température élevée (supérieure à 100°C) sur la qualité des huiles essentielle donne lieu à certains artéfacts. Aussi limite-t-on la suroression instaurée à une valeur de 1,5 bars au-dessus de l'atmosphérique. D'autre part, le prix et les contraintes des équipement nécessaires contribuent à freiner l'utilisation du procédé.

La trubodistillation est aussi un procédé d'hydro distillation , il est mis en place afin de limiter les inconvénients, d'une longue durée d'extraction ou d'une surpression. Pour activer la distillation à pression atmosphérique, l'alambic est équipé d'une turbine qui permet d'une part, la dilacération des matières végétales, d'autre part une agitation turbulente, d'où un meilleur coefficient de transfert technique et une augmentation de la surface de vaporisation.

❖ Afin de récapituler les inconvénients et les avantages de toutes les méthodes étudiées, nous avons dessiné le tableau suivant, pour que le lecteur puisse comparer directement entre les méthodes, et pour qu'il puisse choisir sa méthode convenable.

Tableau 01: Avantages et inconvénients des méthodes d'extraction étudiées (KESBI A., 2011).

Méthode	Avantages	Inconvénients
Hydrodistillation	Rendement plus ou moins considérable	<ul style="list-style-type: none"> - Temps d'extraction plus Long. - Plus grand quantité d'eau. - Hydrolyse des composés non saturé. -pertes de quelques composés volatils.
Extraction par solvant	Rendement plus important par rapport aux autres méthodes.	<ul style="list-style-type: none"> -grand volume de solvant. - Temps de travail très long (plusieurs heures). -Résider des solvants toxiques dans l'extrait. -dégradation des composés non saturés.
Extraction par micro-onde	<ul style="list-style-type: none"> - Economique à l'énergie. -Temps d'extraction est très court. - Produit plus pure. - Pas de solvants chimiques polluants. - Produit de meilleure qualité olfactive. - Économie d'eau et/ou de solvant. 	
Extraction par gaz supercritique	<ul style="list-style-type: none"> -Aucun produit chimique utilisé. - Très peu de perte -par rapport à un solvant ordinaire. - Adaptable à n'importe quel soluté. 	

Extraction par corps gras

-Rendement plus important par rapport aux autres méthodes.

-grand volume de solvant.
- Temps de travail très long (plusieurs heures).
-Résider des solvants toxiques dans l'extrait.
-dégradation des composés Non saturés.

✓ Nous avons choisi la méthode "Hydrodistillation", car c'est la méthode la plus simple parmi les autres méthodes, ainsi, c'est la seule méthode disponible dans notre laboratoires.

CHAPITRE III
ETUDE DE
Citrus sinensis

Chapitre III : Etude de *Citrus sinensis*

III.1. Définition

L'orange est un agrume, fruit des orangers, des arbres de différentes espèces de la famille des Rutacées ou d'hybrides de ceux-ci. Il en existe donc plusieurs types, principalement issus de l'espèce *Citrus sinensis* comme les oranges sanguines, et les oranges amères produites par le bigaradier. Notre espèce d'intérêt est bien le *citrus sinensis* (Jean P.F., 2010).

L'oranger *Citrus sinensis*, est un petit arbre fruitier de la famille végétale qui produit des agrumes, c'est-à-dire la famille des Rutacées. Cultivé dans les régions chaudes, comme les pays méditerranéens par exemple, cet hybride ancien est probablement un croisement entre le pamplemousse (*Citrus maxima*) et la mandarine (*Citrus reticulata*). Ses fruits sucrés et comestibles sont les oranges. Cette espèce est trouvée en Algérie dans la wilaya de Blida exactement dans les agriculteurs de Mitidja qui est classé parmi les meilleurs agrumes au monde (J.S.T.O.R Plants., 2014).

III.2. Historique

La route méditerranéenne fut empruntée, à l'époque des croisades (XI^e siècle-XIII^e siècle), par l'orange amère ou bigarade : transmis par les Perses aux Arabes, ce fruit fut implanté en Sicile, d'où il se diffusa vers le reste de l'Europe. Dans un second temps, au XVI^e siècle, les navigateurs portugais découvrirent l'orange douce en Chine, et la rapportèrent en Europe ; son succès finit par évincer l'orange amère.

Jusqu'à la première moitié du XX^e siècle, l'orange était un fruit de luxe, et souvent offert comme cadeau de Noël et Saint-Nicolas (Pays-Bas) aux enfants. Sa culture en bac a longtemps été un symbole de pouvoir pour les aristocrates qui lui dédiaient des bâtiments spécialisés : les orangeries (Jean P.F., 2010).

III.3. Origine et distribution

L'oranger est originaire du sud-est de l'Asie, foyer du genre *Citrus*, mais on ne sait pas quand exactement il a été domestiqué. Selon un texte datant de 2200 ans avant notre ère, il était déjà connu en Chine à cette époque. Comme bien d'autres plantes qui servaient également en médecine, il suivra la route de la soie vers l'Europe, traversant le Moyen-Orient

et le Proche-Orient où il trouvera un climat adapté à ses besoins. De là, il gagnera le sud de l'Europe, probablement dans les premiers siècles de notre ère, bien qu'on ne trouve pas trace de sa culture sur ce continent avant le XV^e siècle (Desaulniers M., 2003).

Chose certaine, sa véritable expansion dans le sud de l'Europe est le fait des Portugais, qui le ramenèrent d'Asie. Grâce à un intense travail de sélection et à la mise au point de nouvelles méthodes de culture, l'**orange du Portugal** deviendra la norme de qualité et de référence dans toute l'Europe. Sa popularité était telle que, dans les pays arabes, on a cessé de l'appeler narandj pour l'appeler bortugal, nom qui lui est encore accolé. L'oranger *Citrus sinensis* est originaire de Chine. On peut distinguer deux grandes routes de pénétration de ce fruit en Europe (Desaulniers M., 2003).

III.4. Position systématique

D'après GUIGNARD (2001), la position systématique de *citrus sinensis* est comme suit:

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>citrus</i>
Espèces	<i>citrus sinensis</i>
Nom commun	Orange douce

(HELLAL. Z.;2011).



Figure 11 : Fleurs, feuilles et fruits de *Citrus sinensis* (HELLAL. Z.;2011).

III.5. Description botanique

L'orange est un arbre, pouvant atteindre 10m de hauteur environ, avec un feuillage vert sombre persistant et légèrement ailé, la floraison blanche très parfumée. Les fruits mettent 10 à 12 mois pour murir, de taille moyenne, de forme sphérique, et de couleur caractéristique orange. Il existe variété les plus connues la spongille, Thomson Navel, Valencia Latté, Washington Naval Powell, Florida Pineapple, Maltaise Orange Portugaise etc (HELLAL Z., 2011).



Figure 12 : Différents organes de l'orange douce (*citrus sinensis*) (J.S.T.O.R Plants., 2014).

III.6. Principes constituants de l'orange

III.6.1. Flavonoïdes

L'orange renferme différents types de flavonoïdes. Ces composés antioxydants permettent de neutraliser les radicaux libres du corps et, ainsi, de prévenir l'apparition des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies chroniques. L'héspéridine est le principal flavonoïde de l'orange. Il se retrouve en grande quantité dans la partie blanche de la pelure et les membranes du fruit, ainsi qu'en plus petite concentration dans le jus et les pépins (**Garg A. et Garg S., 2001**).

La naringénine est aussi un flavonoïde présent dans l'orange, mais le jus d'orange en contiendrait environ 5 fois moins que l'héspéridine. Il est à noter que le jus d'orange concentré contiendrait plus de flavonoïdes que le jus d'orange frais, en raison des méthodes de broyage industriel qui utilisent le fruit entier. La bigarade, quant à elle, contiendrait principalement de la naringénine, mais aussi de l'héspéridine et de l'ériocitrine (**Benavente-Garcia O. et Castillo J., 2008**).

III.6.2. Limonoïdes

Les principaux Limonoïdes que renferment les agrumes sont la limonène et la nomiline. On les retrouve principalement dans les pépins, mais aussi dans le jus. Selon leur type, ils peuvent ne rien goûter ou engendrer la saveur amère des fruits. Le limonène, ainsi que d'autres Limonoïdes présents dans les jus d'agrumes aurait, selon certaines études, la propriété de diminuer le cholestérol sanguin chez l'animal (**Kurowska EM et al., 2000**) (**Manners GD., 2007**).

Ces composés posséderaient une certaine capacité antioxydant. Ils pourraient aussi entraîner l'apoptose de cellules neuroblastiques cancéreuses (cellules nerveuses embryonnaires, se différenciant ensuite en neurones). D'autres études laissent présager que les Limonoïdes des agrumes pourraient prévenir certains types de cancer chez l'animal. Toutefois, il n'existe pour le moment aucune donnée quant à un effet similaire chez l'humain. L'action synergique de plusieurs Limonoïdes entre eux, ou avec d'autres composés (comme les flavonoïdes), pourrait accentuer leur action sur les cellules cancéreuses (**Tanaka T. et al., 2010**).

III.6.3. Caroténoïdes

L'**orange** contient des quantités non négligeables de différents caroténoïdes, dont le bêta-carotène, la lutéine et la zéaxanthine. Le jus d'orange en contient aussi, mais en moins grande quantité que le fruit entier. La consommation d'aliments riches en caroténoïdes serait reliée à un risque moindre de souffrir de plusieurs maladies, par exemple, le cancer et les maladies cardiovasculaires (bien que certaines études sur le sujet soient controversées) (**Vinson JA et al., 2002**) (**Ito Y. et al., 2006**).

Les oranges et les mandarines contiennent aussi du bêta-cryptozanthine. Une étude épidémiologique a démontré que plus la consommation de ce type de caroténoïde est élevée, plus faible serait le risque de souffrir de maladie inflammatoire (comme l'arthrite rhumatoïde). Les auteurs précisent que pour profiter de cet effet préventif, une augmentation équivalente à un seul verre (environ 250 ml) de jus d'orange par jour suffirait (**Pattison DJ al., 2005**).

III.6.4. Acide citrique

La concentration d'acide citrique du jus d'orange étant élevée (environ 10mg par gramme de jus), sa consommation alcalinise l'urine. Selon une étude, la consommation de 2 tasses (500 ml) de jus d'orange a causé, chez des femmes, une alcalinisation de l'urine pendant 24 heures. Le jus d'orange pourrait ainsi être efficace pour réduire le risque de lithiases urinaires (**Honow R. et al., 2003**).

Les écorces attaquées par des champignons ou moisissures (*moisissure bleue* notamment) peuvent également contenir des mycotoxines.

III.7. Domaines d'application

❖ Le fruit est consommé frais, mais il est aussi utilisé dans d'innombrables recettes comme le jus d'orange (54 % du marché des jus de fruits), les confitures, les pâtisseries, certains alcools, ou le canard à l'orange. Ces divers utilisations de l'orange sont grâce à son propriétés nutritives, qui sont déterminées dans le tableau suivant :

Tableau 02 : Propriétés nutritionnelles de l'orange (Lehrner J., 2000).

Orange crue (valeur nutritive pour 100 g)			
eau : 86,75g	Cendre totale : 0.44mg	fibres : 2,4g	valeur énergétique : 47kcal
glucides : 11,75g	sucres simples : 9,35g	protéines : 940mg	lipides : 120mg
oligo-éléments			
potassium : 181mg	calcium : 40mg	phosphore : 14mg	magnésium : 10mg
fer : 100µg	zinc : 70µg	cuivre : 45µg	sodium : 0mg
vitamines			
vitamine C : 53,2mg	vitamine B1 : 87µg	vitamine B2 : 40µg	vitamine B3 : 282µg
vitamine B5 : 250µg	vitamine B6 : 60µg	vitamine B9 : 0µg	vitamine B12 : 0µg
vitamine A : 225 UI	rétinol : 0µg	vitamine E : 0,18µg	vitamine K : 0µg
acides gras			
saturés : 15mg	mono-insaturés : 23mg	poly-insaturés : 25mg	cholestérol : 0mg

❖ Les huiles essentielles de ce genre de Citrus sont aussi ayant plusieurs emplois importants, elles sont utilisées pour la préparation des parfums, les savons, les désodorisants, les bougies parfumées, en industries alimentaires comme aromatisants, en confiseries, pâtisseries, les glaces. En aromathérapie avec les essences d'huile essentielle de Citrus, il est recommandé pour traiter : insomnies, anxiété, calme les palpitations, antirides, vasodilatatrice (BARDEAU F., 2009).

DEXIEME PARTIE

PARTIE

PRATIQUE

Matériels, Méthodes, Résultats et Discussions

1. Matériels et méthodes

1.1. Matériels utilisées

1.1.1. matière végétal (*citrus sinensis*)

Notre échantillon étudié dans ce travail est identifiée par la dérations de la forêt de la plaine de Mitidja – Blida.

Citrus sinensis peut être cultivé partout pendant l'été et leur récolte est en hiver (25/01/2015), pendant le mois de novembre jusqu'au le mois de mars. La situation géographique de site de récolte est représentée ci-dessous dans la figure (01).



Figure 13 : Site géographique de récolte (www.startimes.com).

1.1.2. Matériels de laboratoire

Pendant notre travail expérimental, nous avons réalisé l'opération d'hydrodistillation en utilisant l'appareil de Clevenger de type (SN 29.2/32), et à l'aide de quelques outils (balance, papier pH), et certains verreries (Bécher, éprouvette graduer).



Figure 14 : Appareil Clevenger modifié

1.2. Méthodes expérimentales

1.2.1. Préparation de l'échantillon

La plante, fraîchement récoltée, a été lavée soigneusement par de l'eau distillée, afin d'éliminer au mieux les produits de conservation, la poussière et toute impureté qui peut dégrader la pureté de l'huile essentielle. Les zestes sont ensuite séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité et les conserver jusqu'au moment de l'extraction. La photo ci-dessous représente les zestes rassemblées après préparation.



Figure 15 : Echantillon prêt à utiliser (sec)

1.2.2. L'Hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale (les zestes de l'orange séchées) dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à l'ébullition généralement à pression atmosphérique pour 3h et 30mn (trois heures et demi). Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière sèche (Attou A., 2011).

Nous avons achevé l'hydrodistillation trois fois pour augmenter la quantité étudiée. C'était l'occasion de savoir le protocole final qui nous donne le rendement le plus élevé. Le tableau suivant montre les protocoles expérimentaux que nous avons utilisés.

Tableau 04 : Protocoles expérimentaux

Espèce	<i>Citrus sinensis</i>	
	M.V. (g)	V H ₂ O (ml)
Echantillon humide 01	60	400
Echantillon sec 02 (séchage de 03 jours)	60	750
Echantillon sec 03 (séchage de 07 jours)	60	400

❖ Le protocole de l'extraction

1- Pesage



2- Hydrodistillation



3- Apparition de l'huile



4- Séparation



5- Conservation

**1.2.3. Mesure de pH**

Nous avons effectué cette mesure à l'aide d'un papier pH, pour cela, nous avons émergé un bout du papier dans l'huile essentielle obtenue, le papier va être coloré selon le degré de l'acidité de l'huile.

2.4. Mesure de rendement

Le rendement de l'huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue par rapport à la masse de la matière végétale à traiter. Les rendements sont mesurés à l'aide de la formule suivant :

$$R(\%) = (m \text{ HE} / m \text{ MV}) \times 100$$

R(%) : rendement en huile essentielle;

m HE : masse matière d'HE (g);

m MV : masse de matière végétale (g).

I.2.5. Détermination de la densité relative

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20°C à la masse d'un volume égale d'eau distillée à 20°C. L'équation décrivant la densité relative à 20°C est la suivante :

$$D_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m0 = masse en g du flacon vide ;

m1 = masse en g du flacon rempli d'eau distillée ;

m2 = masse en g du flacon rempli d'huile.

2. Résultats et discussions

2.1. Analyse des résultats

Durant l'extraction, certains propriétés organoleptiques telles que la couleur et l'odeur nous a attiré l'attention. Le tableau ci-dessous rassemble nos différents remarques.

Tableau 02 : Propriétés organoleptiques de l'échantillon

Echantillon étudié	Odeur	Couleur
Echantillon doux 01	Fort	Jaune claire
Echantillon sec 02 (séchage de 03 jours)	Fort	Jaune
Echantillon sec 03 (séchage de 07 jours)	Fort	Jaune



Figure 16 : Coloration des huiles essentielles obtenues (A-sèche, B-humide)

Après avoir fait l'extraction, nous avons mesuré le pH comme décrit précédemment, et nous avons calculé le rendement et la densité relative de l'huile extraite par la mesure des masses des flacons vides et remplis d'eau et d'huile, le tableau suivant rassemble les résultats obtenus :

Tableau 05 : Propriétés physicochimiques mesurées

Propriétés	pH	Rendement %	Densité relative
Echantillon humide	06	0.44	0.15
Echantillon sec 01 (séchage de 03 jours)	06	0.66	0.06
Echantillon sec 02 (séchage de 07 jours)	06	1	0.15

Après avoir obtenu les résultats, des éventuelles remarques ont été notées :

- ✓ l'échantillon humide a donné le rendement le plus faible (0.44 %) par rapport à l'échantillons sec, où l'échantillon sèche 01 a donné une rendement de (0.66 %), et l'échantillon sèche 02 a donnée le rendement le plus important (1 %).
- ✓ Pour la densité relative, les échantillons humide et sèche 02 ont marquées la même densité (0.15) et le plus élevé par rapport l'échantillon sèche 01 (0.06).
- ✓ En revanche, les trois échantillon nous a donné le même degré d'acidité (pH=6).

IV. 2.2. Discussions

Compte tenu des résultats obtenus, et après les comparer entre eux, les constatations suivantes doivent être signalées :

- ✓ Différence des rendements obtenus d'un échantillon à un autre, cette différence est due à :
 - l'état physique de l'échantillon, lorsque la matière humide est possède un quantité d'eau, cette quantité entraine au cours du processus de l'hydrodistillation, chaque goutte d'eau vaporisé prend un peu d'huile, ce qui va diminuer la quantité d'huile obtenue.
 - Aussi, il faut souligner que le séchage facilite la dégradation de la matière végétale dans la paroi cellulosique.
- ✓ Les densités relatives marquées sont aussi de valeurs varié, car :
 - Dans les deux protocoles expérimentaux choisi, le volume de l'eau distillé utilisé qui est le responsable de l'augmentation ou la diminution de la densité de l'huile obtenu.

✓ La simultanéité des degrés de pH parce que nous avons utilisé la même espèce dans chaque protocole.

***COCLUSION
GENERALE***

L'objectif principal de ce travail est de savoir manipuler l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation de la plante *citrus sinensis* qui pousse dans la région de Blida.

Ce savoir-faire a été initié par des études bibliographiques indispensables. La connaissance des différentes méthodes d'extraction, les différentes caractéristiques de plante échantillonnée et surtout la maîtrise de cette technique d'extraction étaient nécessaires.

Notre étude a montré que l'huile des zestes de *citrus sinensis* est de couleur jaune, avec une odeur agréable et forte. Nous avons effectué des tests pour caractériser nos huiles obtenues. En ce qui concerne l'acidité, nous avons effectué le test à l'aide d'un papier pH et nous avons trouvé que $\text{pH} = 6$ pour les trois cas : humide, sèche 01 et sèche 02 .

Après avoir mesuré les rendements des trois extractions, nous avons trouvé que le rendement de l'huile essentielle de l'échantillon humide (0.44%) est moins élevé par rapport à l'huile essentielle de l'échantillon sèche 01 (0.66%), quoi que ce soit pour la première hydrodistillation ou pour la deuxième hydrodistillation. mais pour l'échantillon sèche 02 (1%) qui est marqué le plus rendement élevé par rapport aux autres échantillons.

Ainsi, nous avons comparé entre les différentes mesures de la densité relative de chaque huile essentielle obtenus dans chaque extraction. Nous avons constatées que la 1^{er} et la 3^{ème} extraction sont données les mêmes résultats (0.15). Par contre la 2^{ème} extraction a donné une valeur diminuée (0.06) par rapport aux autres.

Notre étude était très importante car, nous avons maîtrisé pas mal d'astuces durant notre étude expérimentale. Cependant, à la lumière de ce que nous avons expérimenté, des recommandations doivent être notées:

- ❖ Comparer entre l'extraction d'une seule plante par différentes méthodes et essayer de trouver une relation entre le type d'extraction et l'espèce étudiée.
- ❖ Faire des analyses physico-chimiques et biologiques pour caractériser l'huile obtenue, et par conséquent,
- ❖ Savoir les applications des huiles extraites dans différents domaines, cosmétiques, pharmacologique...etc.
- ❖ Choisir le protocole expérimental qui nous donne le rendement le plus élevé.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdelouahid D. et Bekhechi C., (2010). Les huiles essentielles. Ed. Off. Pub. Univ Ben-Aknoun, Alger. 55p.
- AFNOR (Association Française de Normalisation), (1996), Huiles essentielles, recueil de normes françaises, 5ème éd., 1, échantillonnage et méthode d'analyse, 2, spécifications, Paris.
- Aichouchi S. et Arar H., (2012) Contribution à l'étude de l'effet antimicrobienne des huiles essentielles de *colocynthis vulgaris* (L) schrad. Mém: Microbiologie classique. Ouargla: Université Kasdi Merbah, 57p.
- Attou A. (2011). Contribution à l'étude photochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Thèse Magister: biologie. Tlemcen: Abou Bekr Belkaid, 93p.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M. (2008) – Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- BARDEAU F (2009). Les huiles essentielles : découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale; Edition Lanore, 315
- Bouguerra Ali M. (2012). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Thèse Magister: biotechnologies alimentaire. Constantine: Université Mentouri (I.N.A.T.A.A.), 111p.
- BRUNETON J. (1999) *Eléments de Phytochimie et Pharmacognosie*. Lavoisier Paris : Technique et Documentation, 585 p.
- CAVALLI J.F. (2002). Caractérisation par CPG/SM et RMN du carbone¹³ d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse.
- Cesar TB, Aptekmann NP, et al. Orange juice decreases low-density lipoprotein cholesterol in hypercholesterolemic subjects and improves lipid transfer to high-density lipoprotein in normal and hypercholesterolemic subjects. *Nutr Res* 2010;30:689-94.
- Chetioui N., et Dellabani S. (2012). Toxicité aigüe des *Nigella sativa* chez les souris. Mem. Master: biologie. Biskra : Université de Mohamed Khider.
- Couitah O., (2012). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Thèse de doctorat Es-sciences. Université d'Oran. 288p.
- Cremin P., Donnelly DMX, Wolfender JL, Hostettmann K. (1995). Liquid Chromatographic-Thermospray Mass Spectrometric Analysis of Sesquiterpenes of *Armillaria* (Eumycota : Basidiomycotina) species. *J Chromatogr A*, 710: 273-285.

- Cristea D.(2003).Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.CROTEAU R. KUTCHANT M et LEWIS G(2000).Natural products (secondary metabolites) . In : BUCHANAN B.,GRUISSEM W.,JONES R. (Eds.), Biochemistry and Molecular Biology of plants . American society of plant physiologists, 1250-1268.
- Dugo P, Mondello L, Dugo L, Stancanelli R, Dugo G. 2000.LC-MS for the identification of oxygen heterocyclic compounds in citrus essential oils. J. Pharm. Biomed. Anal. 24: 147-154.
- Garg A, Garg S, et al. Chemistry and pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin. Phytother Res 2001 December;15(8):655-69.
- GASPAR F et JEEKE G., 2004 Essential oil from *Origanum vulgare* L. ssp. *virens* (HOFFM. and LINK) IETSWAART : Content, Composition and Distribution Within the Bracts., J. Essent. Oil Res., 16, pp. 82-84.
- HELLAL Z., 2010.contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (*sardina pilchadus*). Magester en biologie. TIZI- OUZOU. 78p.
- Hernandez Ochoa L-R. (2005) – Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.
- Honow R, Laube N, et al. Influence of grapefruit-, orange- and apple-juice consumption on urinary variables and risk of crystallization. Br J Nutr 2003 August;90(2):295-300.
- Jean-Paul Frétillet, « les petits secrets des pommes », Magazine Ça m'intéresse n° 356, octobre 2010, p. 88
- JSTOR Plants : *Citrus sinensis* (en) (consulté le 9 août 2014)
- KESBI A(2011). Etude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de ouargla universite kasdi marbah ouargla.
- Kurowska EM, Banh C, et al. Regulation of apo B production in HepG2 cells by citrus limonoids. In: Berhow MA, Hasegawa S, Manners GD, editors. Citrus Limonoids Functional Chemicals in Agriculture and Foods. American Chemical Society ed. Washington, DC: 2000. p. 175-84.
- Laouer H. (2004) -Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.

- Lawrencet B., 2000. Essential oils: from agriculture to chemistry. *Journal of Aromatherapy.*, 10: 82-98.
- Lehrner J, Eckersberger C, Walla P, Pötsch G, Deecke L. Ambient odor of orange in a dental office reduces anxiety and improves mood in female patients. *Physiol Behav.* 2000 Oct 1-15;71(1-2):83-6. PMID 11134689
- Lucchesi M E.(2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse Doctorat: Chimie. Univ de Reunion. 143p.
- Manners GD. Citrus limonoids: analysis, bioactivity, and biomedical prospects. *J Agric Food Chem* 2007;55:8285-94
- Moualhi Cherif., 22 février 2015. Djenane Mitidja. Ferme de démonstration de Boufarik. 1-5p.
- Mroczek T, Ndjoko K, Glowniak K, Hostettmann K. 2004. On-line structure characterization of pyrrolizidine alkaloids in *Onosma stellulatum* and *Emilia coccinea* by liquid chromatography-ion-trap mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1056 :91-97.
- M_r NAIT ACHOUR K (2012) Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de TIZI OUZOU .123p.
- NOURACHANI I(2010) Caractérisation physico-chimique et biologique de l'huile essentielle des écorces de *Cryptocarya crassifolia* (LAURACEAE) mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'études approfondies (D.E.A) de biochimie Option : Biochimie Appliquée aux Sciences Médicales.94p.
- Padrini et Lucheroni., (1996) Le grand livre des huiles essentielles. Ed. de Vecchi.
- Pattison DJ, Symmons DP, et al. Dietary beta-cryptoxanthin and inflammatory polyarthritis: results from a population-based prospective study. *Am J Clin Nutr* 2005 August;82(2):451-5.
- PIBIRI M.C (2005) Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctoral. Polytechniques Fédérale de Lausane.
- PIOCHON M (2008) .Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne :composition chimique,activités pharmacologiques et héli-synthèse. Mémoire, Université du Québec à Chicoutimi, Canada.
- RANDRIANTSOA D. R.(2004) Etude comparative de deux huiles essentielles antibactériennes extraites des plantes *Cinnamomum fragrans* et *Citrus sinensis* dans l'élevage de la crevette : *Panaeus monodon* . [Mémoire de DEA : Biochimie]. Antananarivo : Université d'Antananarivo, 78 p.

- RAZAKARIVONY A. A. (2009) Contribution à l'étude chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Callistemon rigidum* (Syn. *Callistemon rigidus* R. Br., 1819, MYRTACEAE). Antananarivo : Université d'Antananarivo.
- Sanchez-Moreno C, Cano MP, et al. High-pressurized orange juice consumption affects plasma vitamin C, antioxidative status and inflammatory markers in healthy humans. *J Nutr* 2003 July;133(7):2204-9
- Selles C.(2012). Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen : *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5M. Thèse Doctorat: Chimie physique. Tlemcen: Univ de Tlemcen.175p.
- Slougui N.(2002). Etude de la rétention de quelques terpènes par chromatographie. – Application à leur analyse dans le "BASILIC" de la région de Ouargla. (MEN MAG), p 42, 16.
- Sylvain SUTOUR., 2010. Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Thèse de chimie organique et analytique. Université de corse pascal paoli. 213p.
- Tanaka T, Kohno H, Tsukio Y et al. Citrus limonoids obacunone and limonin inhibit azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Biofactors* 2000;13(1-4):213-8.
- VALISOLALAO J.(1989) Huile essentielle, inventaire et études des plantes aromatiques et médicinales des Etats de l'Océan Indien. Projet FED/COI/AIRDOI.
- Verpoorte R, Choi YH, Kim HK. (2010). Metabolomics: will it stay? *Phytochem. Anal.* 21 : 2-3.
- Vinson JA, Liang X, et al. Polyphenol antioxidants in citrus juices: in vitro and in vivo studies relevant to heart disease. *Adv Exp Med Biol* 2002 ; 505:113-22.
- www.startimes.com / 15-04-2015/ 20:30.

Résumé

Une huile essentielle est un liquide concentré en substances végétales, obtenue par extraction ou distillation de molécules volatiles de plante d'origine.

Dans notre travail, nous avons étudié l'extraction de la plante *Citrus sinensis* par hydrodistillation utilisant l'appareil Clevenger-modifié. Nous avons trouvé que l'acidité de la plante est $\text{pH} = 6$ dans tous les cas obtenus. Le rendement est calculé par la suite, pour l'huile de la plante humide était 0.44% et 0.66% pour la plante sèche 01, et 1% pour la plante sèche 02.

Mots clés: huile essentielle, appareil Clevenger, hydrodistillation, *citrus sinensis*.

ملخص

الزيت الأساسي هو سائل مركز من مكونات نباتية نحصل عليه عن طريق تقطير المكونات الطيارة للنبات.

في هذه الدراسة قمنا باستخلاص الزيت لنبات البرتقال *citrus sinensis* باستعمال جهاز كليفنجر. وجدنا أن درجة حموضة النبات 6 في جميع الحالات المتحصل عليها، و بعد حساب مردوديتها وجدناها كالتالي: بالنسبة لزيت النبات الرطبة 0.44%، و 0.66% بالنسبة لزيت النبات الجافة 01، و 1% بالنسبة لزيت النبات الجافة 02.

الكلمات المفتاحية: الزيت الأساسي، جهاز كليفنجر استخلاص بالتقطير، *citrus sinensis*.