

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret–

Faculté Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études



En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Génétique moléculaire et amélioration des plantes

Présenté par :

Youcefi Nour el houda

Ziani Siham

Thème :

**Etude du rendement et d'activités biologiques d'huile essentielle
extraite à partir des écorces d'Agrumes (Orange et citron).**

Soutenu publiquement le 25/06/2025

Jury :

Grade :

Président : Melle. Zerrouki M

MCB(Univ.Tiaret)

Encadrant : Mr. MAGHNI Benchohra

Pr (Univ.Tiaret)

Examineur : Mlle. BOUHENI Hasna

MCB (Univ.Tiaret)

Année universitaire 2024-2025



Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu, le Tout-Puissant, qui m'a guidé tout au long de ma vie, qui m'a donné le courage et la patience nécessaires pour surmonter les moments difficiles, et qui m'a permis d'achever ce travail.

Les travaux synthétisés dans ce document n'auraient jamais vu le jour sans la contribution de nombreuses personnes. C'est donc avec un grand plaisir que je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à l'aboutissement des résultats présentés dans ce mémoire.

En premier lieu, j'adresse tout mon respect et ma profonde gratitude à mon encadrant, Monsieur MEGHNI BENCHOHRA, pour m'avoir guidé tout au long de cette étude. Ses remarques pertinentes et ses suggestions constantes ont largement contribué à l'amélioration de la qualité de ce travail.

Je remercie également les membres du jury, Monsieur BOUBKEUR M. A. et Mademoiselle ZERROUKI M., maîtres de conférences à l'Université de Tiaret, qui ont accepté d'examiner ce travail et d'y apporter leur regard d'experts.

Je tiens également à remercier tout le personnel du laboratoire de notre université, en particulier Madame SEMARE et Monsieur KADI, qui m'ont beaucoup aidé tout au long de ce travail.





Dédicace

Louange à Dieu, par Sa grâce s'accomplissent les bonnes œuvres, et par Son aide, les objectifs sont atteints.

À Celui qui est à l'origine de tout bien, à mon Créateur, qui m'a donné la force, la patience et la lumière sur mon chemin.

À mes chers parents, mes piliers dans la vie, dont l'amour et les prières m'ont accompagnée à chaque étape.

À ma famille bien-aimée, source d'affection et de soutien constant.

À mes précieuses amies, Samira, Saly, Ikram, Joujou, Aïcha, Hanan, Souad, Nour, Bouchra, merci pour votre présence, vos sourires et votre affection inestimable.

À mes camarades d'université, Chaïma et Nour El Houda, merci pour les moments partagés, le soutien mutuel et l'amitié sincère.

À mon enseignant et encadrant, Monsieur Maghni Ben Chohra, je vous suis profondément reconnaissante pour votre encadrement rigoureux, vos conseils judicieux et votre disponibilité.

À tout le corps enseignant de notre honorable université, ainsi qu'à l'ensemble du personnel administratif et pédagogique,
recevez toute ma gratitude et mon respect pour vos efforts constants en faveur du savoir et de la réussite de vos étudiants.

SIHAM





Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents, source de mon inspiration et de ma force, pour leur amour inconditionnel et leur soutien inébranlable.

À mes sœurs bien-aimées Basma, Khayra, Mariem et Malak pour leur présence rassurante et leurs encouragements constants.

À mon unique frère, Mehdi, pour sa tendresse discrète et son soutien précieux.

À mes fidèles amies Siham, Chaïma, Chaïma, Jouhayna, Aïcha, Hanan et Iman pour les souvenirs partagés, l'écoute attentive et l'amitié sincère.

À mon oncle, son épouse et leurs enfants, pour leur gentillesse et leurs mots réconfortants.

Et à tous ceux qui m'ont tendu la main, soutenue, encouragée ou simplement cru en moi.

Ce succès est le reflet de votre amour, de votre patience et de votre foi en moi.

Merci du fond du cœur.

NOUR ELHOUDA



Résumé :

Ce travail de recherche vise à évaluer le rendement d'extraction des huiles essentielles à partir des écorces d'oranges et de citrons. Ainsi que leurs activités biologiques, notamment leurs propriétés antibactériennes. L'étude commence par une extraction des huiles essentielles par hydrodistillation, suivie d'une analyse du rendement selon le type d'agrumes. Les écorces d'orange ont fourni un rendement de 2,17 % avec mésocarpe et de 2,86 % sans mésocarpe. Les écorces de citron, quant à elles, ont donné un rendement en huile essentielle de 6,03 %.

Les résultats ont montré que les huiles essentielles exercent un effet sur les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec des zones d'inhibition respectives de 6 mm et 9 mm pour *E. coli*, et de 9 mm et 13 mm pour *S. aureus*.

En fonction de leur sensibilité aux huiles essentielles, *E. coli* a été considérée comme une bactérie à sensibilité intermédiaire, tandis que *S. aureus* a été qualifiée d'extrêmement sensible.

Mots clés : Huiles essentielles, hydrodistillation, écorces ,Agrumes, antibacterienne.

Abstract:

This research aims to evaluate the extraction yield of essential oils from orange and lemon peels, as well as their biological activities, particularly their antibacterial properties.

The study began with the extraction of essential oils using hydrodistillation, followed by an analysis of the yield depending on the type of citrus fruit.

Orange peels yielded 2.17% essential oil with the mesocarp present and 2.86% without it. In contrast, lemon peels provided a higher yield of 6.03%.

The results showed that the essential oils had an inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, with inhibition zones of 6 mm and 9 mm for *E. coli*, and 9 mm and 13 mm for *S. aureus*.

Based on their sensitivity to the essential oils, *E. coli* was considered moderately sensitive, while *S. aureus* was classified as highly sensitive.

Keywords: Essential oils, hydrodistillation, peels, citrus fruits, antibacterial.

الملخص:

يهدف هذا البحث إلى تقييم مردودية استخلاص الزيوت الأساسية من قشور البرتقال والليمون، بالإضافة إلى دراسة أنشطتها البيولوجية، لا سيما الخصائص المضادة للبكتيريا.

بدأت الدراسة بعملية استخلاص الزيوت الأساسية باستخدام تقنية التقطير، تلتها عملية تحليل للمردودية حسب نوع الحمضيات.

أعطت قشور البرتقال مردودية بلغت 2.17% عند وجود الجزء الأبيض (الميزوكارب)، و2.86% عند إزالته. أما قشور الليمون فقد سجلت مردودية أعلى، بلغت 6.03% من الزيت الأساسي.

أظهرت النتائج أن الزيوت الأساسية لها تأثير مضاد على بكتيريا اشيريشا كوللي والبكتيريا العنقودية الذهبية، حيث بلغت مناطق التنشيط 6 مم و9 مم بالنسبة لـ *E. coli*، و9 مم و13 مم بالنسبة لـ *S. aureus*.

وبحسب مدى حساسيتها تجاه الزيوت الأساسية، اعتُبرت *E. coli* بكتيريا متوسطة الحساسية، في حين صنّفت *S. aureus* بكتيريا شديدة الحساسية.

إيريكنبال داضم، تايمحلا، روشقلا، يناملا ريطقتلا، تيساسلا تويلا، تيجاتفملا تاملكلا.

Liste des Abréviations :

C : écorce de citron

E. COLI : *Escherichia Coli*.

G- : Gram négative.

G+ : Gram positive.

H.E : Huile essentielle.

O1 : écorce d'Orange sans mésocarpe.

O2 : écorce d'Orange avec mésocarpe..

STAPH : *Staphylococcus aureus*.

Liste des Figures :

Figure 1 : Origine et dispersion des agrumes à travers le monde	6.
Figure 2 : répartition géographique des agrumes dans Algérie 2019.....	7
Figure3 : Anatomie des agrumes	12
Figure 4: représente les parties de citron.....	13
Figure5 : Mode d'extraction des huiles essentielles	28
Figure 6 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	29
Figure 7 : Schéma du montage de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.	30
Figure8 : Schéma du montage de l'extraction par micro-onde.....	31
Figure 9 : Schéma d'extraction par solvant organique	32
Figure 10 : Schéma extraction par hydrodiffusion.....	33
Figure 11: Schéma de l'extraction par les corps gras.....	34
Figure12 : Fruits d'agrumes (Citrus limon)	37
Figure 13 : Séchage des écorces d'orange et citron.....	38
Figure 14 : Broyage Les écorces d'oranges et citron.....	38
Figure 15: Montage d'extraction (Clevenger)	39
Figure 16: Huile essentielle obtenue	40
Figure 17: Huiles essentielles d'Orange et citron dans des flacons recouverts Par papier aluminium.....	41
Figure 18: Photo d'huile essentielle d'orange	46
Figure 19: Photo d'huile essentielle de Citron.....	46
Figure 20: Rendement en H.E D'Orange avec et sans mésocarpe.....	48
Figure 21: Rendement en H.E de Citron.....	50
Figure 22: Rendement en H.E D'Orange et Citron.....	51
Figure 23: Diamètres moyens de halos d'inhibition des deux bactéries Escherichia coli et Staphylococcus aureus sous l'effet de 25ul d'HE des Oranges et citrons.	53

Figure 24: Diamètres moyens de halos d'inhibition des deux bactéries Escherichia coli et Staphylococcus aureus sous l'effet de 50ul d'HE des Oranges et citrons.....	54
Figure 25: Zones d'inhibitions de Escherichia coli (Gram-)(25ul).....	54
Figure 26: Zones d'inhibitions de Escherichia coli (Gram-) (50ul).....	55
Figure 27: Zones d'inhibitions de Staphylococcus aureus (Gram+) (25ul)	56
Figure 28: Zones d'inhibitions de Staphylococcus aureus (Gram+) (50ul)	57

Liste des Tableaux :

Tableau1 : Classification des agrumes	5
Tableau2.Composition chimique globale des écorces de différentes variétés d'agrumes (g/100gbs).....	14
Tableau 3 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles obtenues	45
Tableau 4 : Valeur des diamètres moyens de la zone d'inhibition et le pourcentage d'inhibition D'HE de des Oranges et citrons vis-à-vis deux bactéries.....	53

Table des Matières

Table des Matières	i
Résumé	ii
Liste des Abréviations	iii
Liste des Figures	iv
Liste des Tableaux	v
Introduction générale	1
I.1. Systématique	4
I.2. Définition	4
I.3. Classification	5
I.4. Répartition géographique	5
I.4.1. Dans le monde	6
I.4.2. En Algérie	6
I.5. Caractéristiques botaniques	8
I.6. Description botanique des agrumes	8
I.6.1. Caractéristiques de Citrus sinensis (Oranger)	8
I.6. 2.Caractéristiques de Citrus limonum (Citron)	9
I.7. Caractéristiques écologiques	9
I.7.1. Exigences climatiques	10
I.7.2. Température	10
I.7.3. Pluviométrie	10
I.7.4. Type de sol	10
I.7.5. Le vent	10

I.8. Conditions édaphiques optimales pour la culture des agrumes	11
I.9. Caractéristiques anatomiques	11
I.9.1. Anatomie des oranges	12
I.9.2. Anatomie des citrons	12
I.10. Composition chimique	13
I.10.1. Composition chimique globale des écorces d'agrumes	14
Chapitre II : généralité sur les huiles essentielles	18
II.1. Définition	18
II.2. Localisation	18
II.3. Propriétés des huiles essentielles	19
II.3.1. Propriétés physiques des huiles essentielles	19
II.3.2. Composition chimique des huiles essentielles	20
II.3.2.1. Terpènes	20
II.3.2.2. Composés aromatiques	21
II.3.2.3. Composés phénoliques	21
II.4. Toxicité des huiles essentielles	21
II.5. Classification des huiles essentielles	22
II.6. Rôle des huiles essentielles	22
II.6.1. Rôle physiologique	22
II.6.2. Rôle thérapeutiques	23
II.7. Propriétés et activités biologiques	23
II.7.1. Activité antioxydante	24
II.7.2. Antibactérienne	24
II.7.3. Activités antifongique	25

II.8. Domaine d'application des huiles essentielles	25
II.8.1. Rôle alimentaire	25
II.8.2. En parfumerie et cosmétologie	26
II.8.3. En thérapeutique	26
II.9. Sélection de la méthode d'extraction	27
II.10. Facteurs influençant l'extraction	27
II.11. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	28
II.11.1. Extraction par L'hydro distillation	28
II.11.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	29
II.11.3. Extraction Assistée par Micro-Ondes (EAM)	30
II.11.4. Extraction par solvants organiques	31
II.11.5. Extraction par fluide à l'état supercritique	32
II.11.6. Extraction par hydrodiffusion	32
II.11.7. Extraction par corps gras (L'enfleurage)	33
II.12. Conservation des huiles essentielles	35
Chapitre III : Matériels et Méthodes	37
III.1. Préparation du matériel végétal	37
III.2. Séchage et broyage des écorces d'orange et citron	37
III .3. Extraction par hydrodistillation	39
III .4. Détermination du rendement en huile essentielle	41
III. 5. Étude de l'activité antibactérienne	41
III .5.1 Souches bactériennes et conditions de culture	41
III.5.2. Préparation de l'inoculum	42
III.5.3. Principe de la méthode de diffusion en milieu gélosé	42

III.5.4. Contact bactérie - huile essentielle d'agrumes (orange et citron)	42
Chapitre IV : Résultats et discussions	46
IV .1. Résultats	46
IV.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle des écorces	46
IV.2. Rendement en huile essentielle	47
IV.2. 1. Rendement en huile essentielle de Orange	47
IV.2. 2. Rendement en huile essentielle de citron	47
IV.3. L'activité antibactérienne des huiles essentielles	52
IV.2.Discussion	59
IV.2.1.Discussion des rendements d'extraction des huiles essentielles	59
IV.2.1. 1. Composition anatomique et densité des glandes à essence	59
IV.2.1.2. Effet du temps de distillation sur le rendement	59
IV.2.1.3. Influence de l'espèce et des facteurs variétaux	59
IV.2.1.4. Comparaison avec la littérature	60
IV.2.2-Discussion de l'activité antibactérienne des huiles essentielles	60
IV.2.2.1. Sensibilité des bactéries Gram + vs Gram-	60
IV.2.2.2. Influence du type d'huile essentielle	60
2.3. Effet de la concentration	61
IV.2.2.4. Comparaison avec la littérature	61
IV.2.2.5. Résultats finaux de l'activité antibactérienne	61
Conclusion générale	62
Bibliographie	63

Introduction générale :

Depuis l'Antiquité, les huiles essentielles tirées des plantes aromatiques sont réputées pour leurs propriétés thérapeutiques et n'ont jamais cessé de susciter la curiosité du monde scientifique. Même à l'ère des avancées spectaculaires de la science moderne, ces substances volatiles continuent de captiver l'attention, en particulier grâce aux progrès accomplis dans le domaine des biotechnologies végétales. Ce qui les rend uniques, c'est la complexité de leur composition : elles renferment parfois plus d'une centaine de molécules différentes, ce qui explique la variété de leurs activités biologiques. C'est cette richesse qui leur confère aujourd'hui un large éventail d'applications industrielles, en offrant une alternative prometteuse aux produits chimiques de synthèse dont les effets toxiques sur la santé et l'environnement sont de plus en plus remis en question (Angane et al, 2022).

Ces huiles sont extraites de différentes parties des plantes feuilles, fleurs ou encore écorces grâce à plusieurs techniques d'extraction (Ghalehnoee et al., 2024).

Les huiles essentielles d'agrumes, en particulier, sont obtenues à partir des écorces de fruits comme l'orange et le citron, principalement par pressage. Elles sont largement utilisées dans l'industrie agroalimentaire pour parfumer aliments et boissons, mais jouent aussi un rôle clé dans la fabrication de médicaments, savons, parfums, cosmétiques et produits ménagers (Anton et al., 2006).

De récentes études ont montré que ces écorces sont une source précieuse de composés bioactifs. Elles sont riches en vitamine C et en métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques, les flavonoïdes et bien sûr les huiles essentielles, qui se distinguent par leurs propriétés antimicrobiennes, antifongiques, anti-inflammatoires et antioxydantes (Lagha-Benamrouche et al., 2018).

Par ailleurs, les huiles essentielles d'agrumes sont aujourd'hui considérées comme une ressource naturelle de grande valeur, appréciée pour la diversité de ses bienfaits, allant des actions antibactériennes et antivirales aux effets calmants et relaxants (Pélerin, 1991). Les agrumes qu'il s'agisse du pamplemousse, du citron, de l'orange, de la clémentine ou de la mandarine occupent une place importante dans notre alimentation. Leur richesse en vitamine C, un antioxydant puissant, aide à neutraliser les radicaux libres responsables de nombreuses maladies, tout en renforçant le système immunitaire et en contribuant à la prévention d'affections courantes comme le rhume ou l'angine (Healthline,2025).

Cette étude se propose d'examiner, d'une part, le rendement en huiles essentielles issues des écorces d'orange et de citron, et d'autre part, d'évaluer leurs activités biologiques, en particulier leur efficacité antibactérienne. À travers cette démarche, nous visons à mettre en évidence l'intérêt de ces huiles comme alternatives naturelles dans le domaine pharmaceutique et à contribuer à la valorisation des sous-produits d'agrumes dans un contexte écologique et économique favorable.

Dans le cadre de cette étude, le mémoire présenté est structuré en deux parties principales.

La première partie comprend deux chapitres, le premier est consacré à une revue bibliographique sur les agrumes, abordant leur définition, leurs caractéristiques botaniques et chimiques, ainsi que leur systématique et leur classification scientifique. Le deuxième chapitre porte sur l'étude des huiles essentielles, en mettant en évidence leurs propriétés chimiques et physiques, ainsi que leur rôle biologique, notamment en ce qui concerne leur valorisation et leurs diverses applications.

La deuxième partie, à caractère expérimental, décrit en détail le matériel végétal utilisé, la méthodologie d'extraction des huiles essentielles, ainsi que l'étude de leur activité antibactérienne. Enfin, les résultats obtenus ont fait l'objet d'une discussion approfondie et ont été comparés aux données de la littérature.

Chapitre I :

Aperçu bibliographique sur les agrumes

Chapitre I : Aperçu bibliographique sur les agrumes

I.1. Systématique :

Les plantes médicinales et aromatiques furent utilisées par l'Homme depuis l'antiquité, de nos jours leur utilisation a pris un essor considérable dans les industries de parfum, produits cosmétiques et pharmaceutiques.

Depuis des milliers d'années, ces plantes ont été utilisées, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies. Les plantes médicinales représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'avoir un très large éventail d'activités biologiques(Bruneton,1999).

L'histoire des agrumes remonte à 4000 ans avant J-C ; Ils se sont développés un peu plus tard au Maghreb et en Espagne par les Arabes. Le bigaradier fut introduit par ces derniers dans l'empire des Almohades, d'ailleurs en Algérie il embellissait déjà les jardins des Beys (Casbah, hauteurs d'Alger et Constantine) pendant la période Ottomane (du 16 au 18 siècle).

Quelque siècle après, les Maures d'Andalousie ont importé l'oranger ; et le Mandarinier fut introduit au début de la colonisation en 1850 par M. Hardy en Algérie, par la suite le père Clément de l'Orphelinat agricole de Misserghin (W. d'Oran), lorsqu'il a effectué un croisement de Mandarinier avec l'Oranger a pu découvrir la Clémentine qui s'est avérée une variété précoce parmi le groupe des mandarines. (Hamdani, 2018).

I.2. Définition :

Les agrumes appartiennent à la famille des Rutaceae. Ils désignent un ensemble de plantes cultivées dans les régions tropicales et subtropicales, regroupant principalement les genres Citrus, Fortunella et Poncirus. Le fruit, appelé hespéride, est une baie particulière composée de trois parties : une écorce externe colorée (flavedo ou épicarpe) riche en poils vésiculeux contenant les huiles essentielles ; une couche interne blanche (albédo ou mésocarpe) ; et un endocarpe divisé en loges contenant les graines (Marouf, 2007). Ces fruits présentent des formes variées, allant de l'oblong (comme le citron) au sphérique (comme l'orange). Selon la FAO, les agrumes constituent l'un des groupes fruitiers les plus produits et consommés au monde, avec une production dépassant les 140 millions de tonnes par an [FAO].

I.3. Classification :

Selon Praloran (1971), la classification taxonomique des agrumes établie par Swingle est dans le tableau suivant :

Règne	Végétal
Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones
Sous-classe	Archichlomydeae
Ordre	Rutales
Famille	Rutaceae
Sous-famille	Aurantioideae
Tribu	Citreae
Sous-tribu	Citrinae.
Genres	Poncirus, Fortunella et Citrus

Tableau1 : Classification des agrumes

I.4. Répartition géographique :

La diffusion des agrumes à travers le monde s'est effectuée de manière progressive. Bien que leur culture couvre aujourd'hui une vaste étendue, la production reste majoritairement concentrée dans les régions méditerranéennes et tropicales. Plus récemment, les agrumes ont été introduits dans toutes les zones du globe où les conditions de production sont favorables. Les principaux pays producteurs se situent dans une ceinture géographique comprise entre le 40ème parallèle nord et sud (FAO).

I.4.1. Dans le monde :

Les agrumes seraient originaires du sud-est asiatique, une région englobant les zones tropicales et subtropicales allant du sud de la Chine et du nord-est de l'Inde jusqu'à l'Australie (Gmitter et Hu, 1990). Toutefois, leur origine géographique exacte demeure

incertaine. On estime que l'orange proviendrait de Chine, tandis que le cédrat et le citron seraient originaires de l'Inde. Grâce à la route de la soie et à la navigation côtière en Extrême-Orient, des échanges d'agrumes ont eu lieu entre l'Inde et la Chine. Par la suite, la navigation dans le golfe Persique a favorisé leur diffusion vers le Moyen-Orient, laquelle s'est poursuivie grâce aux conquêtes grecques, romaines et arabes. C'est ainsi que les agrumes furent introduits dans le bassin méditerranéen dès l'Antiquité.

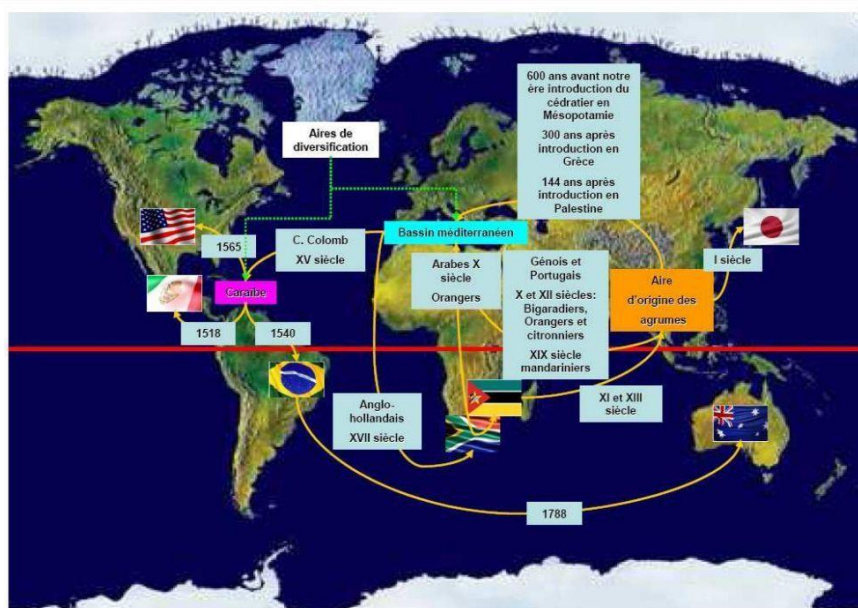


Figure 1 : Origine et dispersion des agrumes à travers le monde(kamiri,2011)

I.4.2. En Algérie :

Les agrumes revêtent une importance économique majeure dans de nombreux pays, y compris en Algérie. Ils représentent une source significative d'emploi et d'activité économique, tant dans le secteur agricole que dans les filières connexes telles que le conditionnement, l'emballage, la transformation ou encore le transport (Farhat et al., 2010).

Outre leur rôle économique, les cultures agrumicoles constituent une ressource stratégique pour le pays, en assurant l'approvisionnement en fruits pour la consommation locale et en offrant des débouchés sur le marché international. D'un point de vue social, la culture des agrumes génère en moyenne 140 jours de travail par hectare et par an, sans compter les emplois indirects liés aux activités de transformation et de commercialisation (I.T.A.F., 2002).

Le verger agrumicole algérien est principalement implanté dans les plaines littorales et sublittorales, bénéficiant de conditions pédoclimatiques favorables (Younsi, 1990). Selon ce même auteur, les principales zones de production sont les suivantes :

La plaine de la Mitidja,

Le périmètre de la Mina et du Bas Chélif,

Le périmètre de l'Habra,

La plaine d'Annaba,

La plaine de Skikda.

La culture des Citrus est essentiellement concentrée dans les zones irrigables du nord du pays, où les températures modérées garantissent une bonne production.

Parmi ces régions, la plaine de la Mitidja, située au centre du pays, constitue le principal bassin agrumicole. En 2013, elle s'étendait sur 36 219 hectares, ce qui représentait environ 56,4 % de la superficie totale dédiée à cette culture.

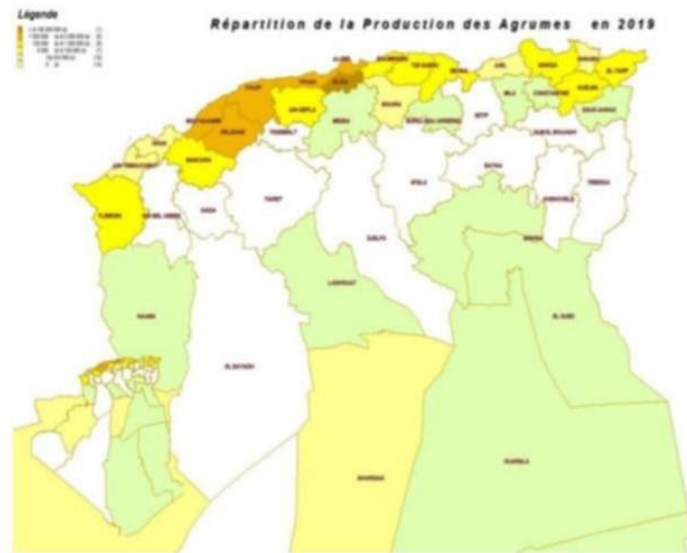


Figure 2: Répartition géographique des agrumes dans Algérie 2019(MADR,2021).

I.5. Caractéristiques botaniques :

D'un point de vue botanique, les agrumes sont des fruits charnus classés parmi les baies, caractérisés par un péricarpe formé de trois couches distinctes : l'épicarpe (appelé aussi

flavédo), le mésocarpe (ou albédo) et l'endocarpe, qui correspond à la pulpe (Albagnac et al,2002).

L'épicarpe constitue la couche externe du fruit. Il contient des pigments caroténoïdes responsables de la coloration caractéristique des agrumes et représente environ 8 à 10 % du poids total du fruit (Albagnac et al,2002). Cette couche est particulièrement riche en glandes sécrétrices d'essences aromatiques, disposées de manière irrégulière dans le tissu végétal (Huet,1991).

Les extraits issus du flavédo, notamment ceux d'agrumes mauriciens, se sont révélés riches en composés phénoliques bioactifs et présentent un potentiel antioxydant notable, ce qui les rend intéressants pour des applications dans les aliments fonctionnels (Ramful et al,2010).

I.6. Description botanique des agrumes :

I.6.1. Caractéristiques de *Citrus sinensis* (Oranger) :

L'oranger est un arbre pouvant atteindre environ 10 mètres de hauteur (Loussert, 1989).

-Feuilles : Persistantes, vert foncé, avec un limbe légèrement ailé.

-Fleurs : De couleur blanche, elles apparaissent au printemps et dégagent un parfum agréable.

-Fruits : Très répandus sur les marchés tout au long de l'année, ils présentent une forme 4 sphérique et une couleur orangée, bien que celles-ci puissent varier selon les variétés. Ces fruits sont largement consommés frais ou sous forme de jus.

I.6. 2.Caractéristiques de *Citrus limonum* (Citron):

Selon Loussert (1989), le citronnier est un petit arbre persistant, mesurant entre 2 et 7 mètres de hauteur. Ses rameaux sont plus ou moins munis d'épines courtes, épaisses et rigides.

-Feuilles : Persistantes, de forme oblongue à ovale, à sommet aigu et bord plus ou moins dentelé. Le limbe est vert et le pétiole, étroit, est souvent ailé.

-Fleurs : Solitaires ou regroupées en petits faisceaux ; les bourgeons présentent une teinte rougeâtre. Les pétales sont blanchâtres à l'intérieur et pourprés à l'extérieur. L'androcée est constitué de 20 à 40 étamines.

-Fruits : De forme ovale, mesurant entre 7 et 12 cm de long et entre 5 et 7 cm de large. Ils peuvent être légèrement renflés ou présenter une forme mamelonnée.

I.7. Caractéristiques écologiques :

Les agrumes sont généralement cultivés dans des régions au climat méditerranéen, caractérisé par des hivers doux et des étés chauds. Ils sont sensibles au gel et préfèrent des sols bien drainés. La diversification variétale des agrumes est en grande partie due à des mutations spontanées, bien que des méthodes de création contrôlées aient été développées au XXe siècle (26).

Les facteurs environnementaux influençant le rendement et la qualité des fruits incluent le climat (température, vent, précipitations, grêle), l'intensité lumineuse, la nature du sol, la localisation du verger (altitude et latitude) ainsi que la pression exercée par divers ravageurs.

Ainsi que, les facteurs environnementaux influençant le rendement et la qualité des fruits incluent le climat (température, vent, précipitations, grêle), l'intensité lumineuse, la nature du sol, la localisation du verger (altitude et latitude) ainsi que la pression exercée par divers ravageurs (Agusti et al ,2014).

I.7.1. Exigences climatiques :

D'après Agusti et al (2014), les températures optimales pour la culture des agrumes se situent entre 10°C et 12°C en hiver et entre 22°C et 24°C en été. La croissance végétative est idéale lorsque les températures varient de 22°C à 26°C, mais elle s'arrête au-delà de 30°C.

Les températures influencent plusieurs aspects du développement des fruits, notamment l'abscission des jeunes fruits, leur taille, l'accumulation des glucides et la coloration. Chez les cultivars parthénocarpiques, une température diurne de 20°C à 22°C et nocturne de 11°C à 13°C favorise la nouaison, tandis que des températures plus élevées, entre 30 °C et 34°C le jour et 21°C à 25°C la nuit, augmentent l'abscission des jeunes fruits.

Enfin, une température diurne inférieure à 13-15°C tend à altérer les caroténoïdes et les chlorophylles, affectant ainsi la coloration des fruits (Agusti et al ,2014).

I.7.2. Température : Les orangers et citronniers poussent de manière optimale entre 13 et 30°C et sont sensibles aux gels prolongés (spiegel et al ,1996).

I.7.3. Pluviométrie : Ils nécessitent en moyenne 900 à 1200 mm de précipitations annuelles, mais peuvent tolérer des climats plus secs avec une irrigation adéquate .(davies et al ,1994).

I.7.4. Type de sol : Les agrumes préfèrent des sols bien drainés, légèrement acides à neutres (pH 5,5-7,5). Un excès de calcaire peut entraîner des carences en fer (Castal ,2010).

I.7.5. Le vent :

Le vent peut constituer un facteur limitant pour le développement des agrumes, car il est susceptible de provoquer des blessures, entraînant ainsi un ralentissement de la croissance et une diminution du rendement. Des vitesses de vent supérieures à 24 km/h sont considérées comme potentiellement nuisibles. Les dommages causés se manifestent par l'apparition de taches brunes irrégulières, affectant principalement les tissus superficiels des feuilles et des fruits. Toutefois, selon l'intensité du vent, la sensibilité de la variété et l'âge de l'organe concerné – les jeunes organes étant plus vulnérables –, ces altérations peuvent s'étendre en profondeur (Agusti et al ,2017).

I.8. Conditions édaphiques optimales pour la culture des agrumes :

Les agrumes peuvent être cultivés sur une grande diversité de sols, à condition que leur pH se situe généralement entre 6 et 7. L'enrichissement en fertilisants et en eau peut améliorer leurs propriétés. Cependant, la nature du sol influence directement la croissance et la qualité des fruits.

Les sols argileux, en limitant le développement des racines, restreignent l'absorption d'eau et de nutriments. Cela entraîne la production de fruits plus petits, moins juteux, avec une écorce épaisse et rugueuse. À l'inverse, les sols sableux favorisent des fruits plus riches en glucides solubles et en vitamine C. Parmi les différentes textures de sol, les sols sableux limoneux sont considérés comme les plus adaptés à la culture des agrumes.

La teneur en matière organique et en minéraux est également un facteur déterminant. Une concentration minimale de 2 à 3 % de matière organique dans les 20 premiers centimètres du sol est requise pour une croissance optimale. En dessous de 1 %, la croissance des agrumes peut être affectée. Par ailleurs, une teneur en calcaire actif supérieure à 8-10 % peut entraver l'assimilation de certains éléments nutritifs, provoquant des chloroses foliaires.

En termes de nutrition minérale, l'azote, l'oxyde de potassium (K_2O) et le pentoxyde de phosphore (P_2O_5) sont essentiels pour le bon développement des agrumes.

Outre la composition du sol, un drainage efficace est indispensable. Une stagnation prolongée de l'eau autour des racines réduit l'aération et nuit à la croissance des agrumes. Un sol présentant une perméabilité comprise entre 10 et 30 cm/h est considéré comme optimal. En revanche, une perméabilité inférieure à 5 cm/h ou supérieure à 40 cm/h diminue la rentabilité du sol. Un mauvais drainage peut aussi entraîner une accumulation de sels, pouvant induire une déshydratation, une chute prématurée des fruits et une baisse du rendement. Les agrumes sont particulièrement sensibles à la salinité : une conductivité électrique du sol dépassant 3,2 dS/m constitue un risque pour leur croissance (Klorane ,2008).

I.9. Caractéristiques anatomiques :

Les agrumes, appartenant à la famille des Rutacées, présentent des caractéristiques anatomiques distinctives.

Anatomiquement, ces arbres à feuillage dense et souvent épineux possèdent des poches sécrétrices d'huile essentielle dans leurs feuilles et l'écorce de leurs fruits. Leurs fruits, appelés hespéridés, se distinguent par un péricarpe brillant, plus ou moins bosselé et criblé de petites glandes (Klorane ,2008).

I.9.1. Anatomie des oranges :

Les oranges sont composées de plusieurs parties distinctes. Leur enveloppe externe, appelée flavédo, est une couche colorée contenant des glandes riches en huiles essentielles, d'où son nom dérivé du mot flaveur. Sous cette couche se trouve l'albédo (ou mésocarpe), une partie blanche et spongieuse particulièrement riche en pectines. Enfin, la portion comestible du fruit correspond à l'endocarpe, aussi appelé épiderme interne. Chaque composant de l'orange joue un rôle spécifique et contribue à ses caractéristiques juteuses et savoureuses (Aliouane ,2015).

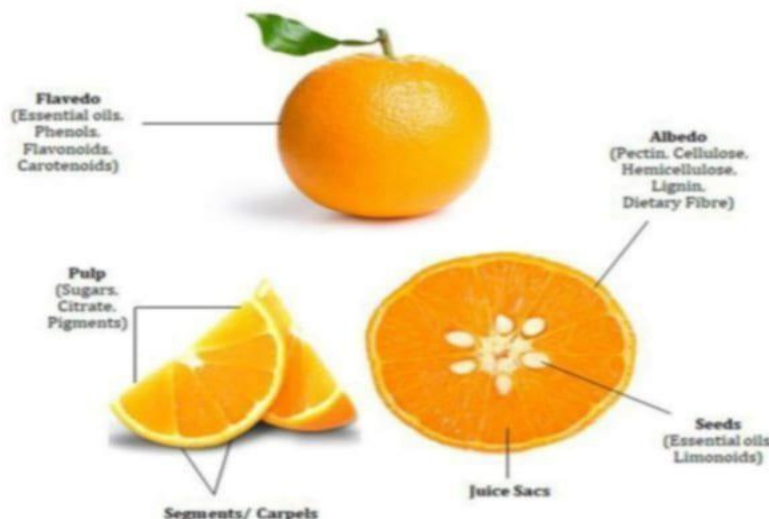


Figure 3 : Anatomie des agrumes (Suri et al., 2022).

I.9.2. Anatomie des citrons :

Le citron, fruit du citronnier (*Citrus limon*), est constitué de plusieurs couches anatomiques bien définies :

Flavédo (exocarpe) : Il s'agit de la couche externe colorée, généralement jaune, riche en glandes à huiles essentielles contenant des composés volatils tels que les monoterpènes. Ces composés sont responsables de l'arôme typique du citron (BOUSBIA N, 2011).

Albédo (mésocarpe) : Située immédiatement sous le flavédo, cette couche blanche, fibreuse et spongieuse, est principalement constituée de pectines, de fibres et de glucides. Son épaisseur varie selon les variétés de citron et elle joue un rôle dans les propriétés technologiques des zestes (BOUSBIA N, 2011).

Endocarpe (ou pulpe) : Partie centrale et comestible du fruit, composée de plusieurs quartiers (loges) contenant des vésicules à jus. Celles-ci sont riches en eau, en acide citrique et en sucres, ce qui confère au citron son goût acidulé distinctif. L'endocarpe représente environ 65 à 70 % de la masse totale du fruit (Dugo et al, 1997).

La peau du citron, souvent utilisée pour l'extraction des huiles essentielles, est constituée de l'ensemble flavédo + albédo. Le flavédo est particulièrement valorisé pour sa richesse en composés aromatiques volatils (BOUSBIA N, 2011).

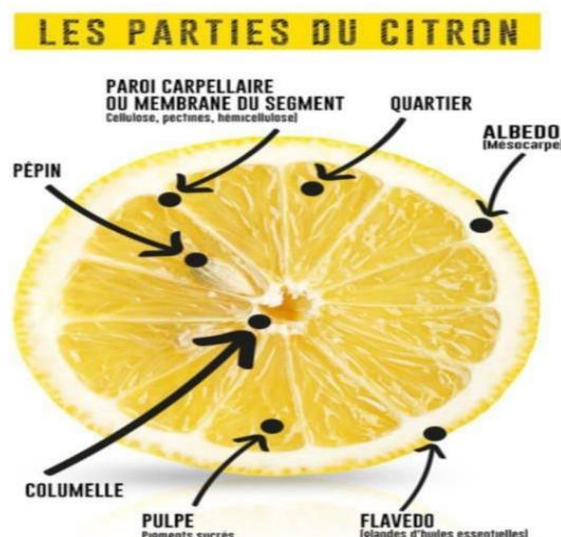


Figure4: Représente les parties de citron (37).

I.10. Composition chimique :

La composition chimique des essences est complexe. Elle varie selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturelles et le mode d'extraction (Guignard, 2015).

I.10.1. Composition chimique globale des écorces d'agrumes :

La composition des écorces d'agrumes varie selon plusieurs facteurs, notamment les conditions climatiques, environnementales et la variété du fruit. Ces écorces contiennent une grande quantité d'eau (de 60 à 75 % en base humide, soit 2,97 à 3,79 g/100 g en base sèche) et de sucres solubles (6,52 à 47,81 g/100 g bs), ce qui les rend très périssables, favorisant ainsi la fermentation et le développement des moisissures. Elles sont également riches en pigments, principalement des caroténoïdes (0,01 à 0,20 g/100 g bs) et, dans certains cas comme les oranges sanguines, en anthocyanes. En plus de cela, les écorces d'agrumes constituent une source intéressante de protéines (1,79 à 9,06 g/100 g bs) et de minéraux (2,52 à 10,03 g/100 g bs), tout en étant pauvres en lipides (0,48 à 4 g/100 g bs). Elles renferment également des essences odorantes et des huiles essentielles, à des taux allant de 0,6 à 1 %. Grâce à leur richesse en composés digestibles, ces coproduits peuvent être valorisés dans l'alimentation fonctionnelle, aussi bien humaine qu'animale. Toutefois, leur utilisation dans l'alimentation

du bétail reste limitée en raison des risques sanitaires potentiels, tels que les mycotoxicoses ou la parakératose du rumen. Les données présentées dans le tableau 2 illustrent les principales teneurs en ces composés pour différentes variétés comestibles, exprimées en grammes pour 100 g de matière sèche (Hamidi et Limam, 2018).

Tableau2.Composition chimique globale des écorces de différentes variétés d'agrumes (g/100gbs).

Variété de citrus	Orange	Mandarine	Citron	Pamplemousse
Eau	2,97a-3,14b	3,79b	3,01b	-
Lipides	0,95a 1,66b 4,00c	1,57a 2,97b -	0,48b 1,51c 1,89d	-
Protéines	1,79b 2,67e 7,90f 8,01a 9,06c	2,16e 7,33c 8,55b - -	5,87b 6,79d 7,88g	-
Glucides	15,01b 46,60a 47,81c	8,50c 18,27b -	6,52c 13,77g 14,89b	-
Minéraux	2,56c 3,31a 3,45b 4,42 ^e	3,96b 4,06e 10,03c -	2,52c 4,68b - -	-
Fibres	6,30c 13,38e 13,90h	7,14e 27,89b -	14,00h - -	82,69j - -

	41,64b 42,13a	- -	- -	- -
Caroténoïdes totaux	0,04k	0,20k	0,01k	-
Huiles essentielles	0,6- 1r	-	-	-
Vitamine c	0,145s- 1,15p	0,280s	0,109s	-
Phénols totaux	0,67 ^e 0,96l 1,13a 1,89b 2,51l 3,94m 7,30n 16,03o 19,62p	0,78e 2,91b 17,21o - - - - - -	2,45e 4,40b 13,01o - - - - - -	22,32o - - - - - - -

Chapitre II :

Généralités sur les huiles essentielles

Chapitre II : généralités sur les huiles essentielles

II.1. Définition :

Le terme huile essentielle dérive de « quinta essentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelse aux extraits de plantes obtenues par distillation ; il signifie la fragrance et la quintessence de la plante (Hart et al,2008).

Les huiles essentielles (HEs), également appelées essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par diverses plantes. Elles se présentent sous forme de microgouttelettes localisées dans différentes parties de la plante, telles que les feuilles, l'écorce des fruits, la résine, les branches ou encore le bois. Bien que présentes en faible quantité par rapport à la masse végétale, elles sont caractérisées par leur forte odeur et leur grande volatilité, ce qui signifie qu'elles s'évaporent rapidement au contact de l'air (Bekhechi,2010).

Ces composés aromatiques se trouvent dans divers organes producteurs des végétaux, tels que les fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorces, herbes, bois, fruits et racines. Ils sont stockés dans des structures spécialisées, notamment les poils, les canaux sécréteurs et les poches à essences (González et al,2010).

II.2. Localisation :

Les huiles essentielles ne se trouvent que dans une fraction restreinte de végétaux supérieurs, représentant environ 10 % des espèces (Dabir et al ,2011).

Tous les organes des plantes, y compris les bourgeons, les fleurs, les feuilles, les tiges, les rameaux, les graines, les fruits, les racines, le bois et l'écorce, ont la capacité de produire des huiles essentielles. Celles-ci sont ensuite stockées dans des structures spécialisées telles que les cellules sécrétrices, les cavités, les canaux, les cellules épidermiques ou les trichomes glandulaires (Bassolé et al,2012).

Les huiles essentielles sont synthétisées par des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont ensuite stockées dans différentes structures selon la famille botanique : dans des cellules spécifiques chez les Lauraceae et Zingiberaceae, dans des poils sécréteurs chez les Lamiaceae, dans des poches sécrétrices chez les Myrtaceae et Rutaceae, ou

encore dans des canaux sécréteurs chez les Apiaceae et Asteraceae. Lorsque les poches à essences sont situées au sein des tissus internes, les huiles essentielles peuvent également être transportées dans l'espace intracellulaire.

Sur leur site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont enveloppées par des membranes spécifiques composées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur nature lipophile, ces membranes présentent une très faible perméabilité aux gaz, ce qui limite considérablement l'évaporation et l'oxydation des huiles essentielles au contact de l'air (Bruneton, 1993).

II.3. Propriétés des huiles essentielles :

Depuis l'Antiquité, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs multiples vertus thérapeutiques. Leur richesse en composés aux structures variées leur confère une large gamme de propriétés biologiques et fonctionnelles (Valnet, 1984).

II.3.1. Propriétés physiques des huiles essentielles :

D'après Bardeau (1976), Legrand (1978) et Bruneton (1999), les huiles essentielles partagent plusieurs caractéristiques physiques :

Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et la plupart des solvants organiques, mais peu solubles dans l'eau, à laquelle elles transmettent néanmoins leur odeur.

Leur point d'ébullition se situe entre 160°C et 240°C.

Leur densité varie de 0,75 à 0,99, à l'exception de certaines huiles comme celles de saffron, de girofle ou de cannelle.

Elles présentent un indice de réfraction élevé.

Elles ont la capacité de dissoudre les graisses, l'iode, le soufre et le phosphore, et peuvent réduire certains sels.

De nature huileuse, elles peuvent être plus ou moins fluides, voire visqueuses, et se caractérisent par une forte volatilité et une odeur marquée.

À température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaune pâle, bien que certaines, comme celles contenant de l'azulène, affichent une teinte bleue (Bardeau et al, 1976).

II.3.2. Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont constituées d'une grande diversité de composés, principalement des hydrocarbures comme les terpènes, ainsi que des molécules oxygénées telles que les esters, les aldéhydes et les cétones. Certaines peuvent également contenir des composés azotés et soufrés, qui participent à leurs propriétés spécifiques.

Cette richesse chimique est à l'origine des caractéristiques uniques des huiles essentielles, tant sur le plan aromatique que thérapeutique. Par exemple, les terpènes sont souvent impliqués dans les effets antibactériens et anti-inflammatoires, tandis que les esters sont reconnus pour leurs vertus apaisantes et relaxantes. Les aldéhydes et les cétones, quant à eux, contribuent aux propriétés antifongiques et antispasmodiques.

Grâce à cette complexité moléculaire, les huiles essentielles sont largement utilisées dans divers domaines, notamment l'aromathérapie, la cosmétique et la pharmacologie (Raul et al, 2005).

Les huiles essentielles sont principalement composées de deux groupes de substances aux origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes, majoritaires, et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, plus rares. Elles peuvent également contenir divers produits issus de processus de dégradation impliquant des constituants non volatils (Bruneton et al, 1999).

II.3.2.1. Terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, pouvant être à structure cyclique ou à chaîne ouverte. Leur caractéristique structurale principale réside dans la présence d'unités isopréniques (C_5H_8) dans leur squelette. En fonction du nombre de ces unités, ils sont classés en différentes catégories : les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), constitués de deux unités isopréniques ; les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), formés de trois unités ; les diterpènes ($C_{20}H_{32}$), composés de quatre unités ; et enfin les tétraterpènes, qui comptent huit unités et donnent naissance aux caroténoïdes.

II.3.2.2. Composés aromatiques :

Les composés aromatiques constituent une autre catégorie importante de substances volatiles, dérivées du phénylpropane. Cette classe regroupe plusieurs molécules odorantes bien connues, telles que la vanilline, l'eugénol, l'anéthol ou encore l'estragol.

II.3.2.3. Composés phénoliques :

Les composés phénoliques font partie des métabolites secondaires des plantes aromatiques. Ils se caractérisent par la présence d'au moins un noyau benzénique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction. Ces molécules, reconnues pour leur intérêt biologique, sont largement présentes dans les végétaux (fruits, légumes, céréales...) ainsi que dans leurs dérivés, tels que le thé, les jus de fruits, le vin ou la bière (Alioune, 2015).

II.4. Toxicité des huiles essentielles :

Les plantes aromatiques ne sont pas toxiques en elles-mêmes, mais les huiles essentielles qui en sont extraites peuvent l'être. En raison de leur nature lipophile, elles sont rapidement absorbées par l'organisme, que ce soit par voie respiratoire, cutanée ou digestive. Cette caractéristique, à l'origine de leur grande efficacité, est aussi la source de leur toxicité. Leur composition chimique impose une utilisation avec une extrême prudence, car une application aléatoire et non encadrée peut entraîner de graves dangers. Pourtant, la facilité d'emploi de ces essences, notamment en ingestion ou en application cutanée, attire de nombreux consommateurs (Bernadet, 1983).

L'application locale des huiles essentielles, qu'elles soient utilisées en parfumerie ou en cosmétique, peut provoquer des irritations et des réactions allergiques. Les essences d'agrumes, comme celles de pamplemousse et de citron, sont particulièrement photosensibilisantes et peuvent entraîner des réactions cutanées après une exposition au soleil.

L'utilisation des huiles essentielles requiert donc de nombreuses précautions. Étant majoritairement composés de molécules lipophiles, leurs constituants sont rapidement absorbés, quelle que soit la voie d'administration. Plusieurs facteurs influencent leur potentiel de toxicité, notamment la concentration en molécules actives, le mode d'application, la dose employée et la durée d'exposition.

Il est donc essentiel de tester une huile essentielle avant toute utilisation. Par ailleurs, il ne faut jamais appliquer une huile essentielle pure sur les muqueuses (nez, yeux, etc.), une

dilution préalable étant impérative. Enfin, leur usage est déconseillé aux femmes enceintes et allaitantes (CHavanne,2011).

II.5. Classification des huiles essentielles :

En fonction de leur action spécifique sur les micro-organismes et de l'indice aromatique déterminé par aromatogramme, les huiles essentielles sont réparties en plusieurs groupes :

Huiles majeures

Huiles médiums

Huiles terrains (Bassereau,2007).

II.6. Rôle des huiles essentielles :

Les huiles essentielles, extraites de plantes aromatiques, sont utilisées depuis des millénaires pour diverses applications. Elles sont particulièrement reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques, notamment leur action anti-infectieuse, souvent exploitées dans des produits non médicamenteux. En tant que composés volatils, elles participent également à la protection des plantes et des écosystèmes forestiers contre les agressions naturelles. De plus, elles contribuent à la régulation de l'humidité en favorisant la formation des précipitations, jouant ainsi un rôle dans la lutte contre la sécheresse (54).

II.6.1. Rôle physiologique :

Le rôle exact des huiles essentielles reste incertain. Elles sont souvent considérées comme des produits résiduels du métabolisme. Cependant, certains chercheurs suggèrent qu'elles jouent un rôle dans les interactions végétales, notamment en agissant comme agents allélopathiques, inhibant la germination. Elles pourraient également intervenir dans les interactions entre plantes et animaux, en contribuant à la protection contre les prédateurs (insectes, champignons) et en attirant les pollinisateurs (Bruneton ,1993 ; BEKHECHI et al,2010).

Certains chercheurs estiment que les huiles essentielles favorisent certaines réactions chimiques et aident à maintenir l'humidité essentielle à la survie des plantes dans des environnements désertiques (Belaïche,1979).

II.6.2. Rôles thérapeutiques :

Les huiles essentielles possèdent diverses vertus médicinales communes. Elles sont efficaces contre de nombreux germes, virus et mycoses. Toutefois, chaque huile essentielle se distingue par des propriétés thérapeutiques spécifiques (Laboheva,2020).

Les agrumes sont une source abondante de composés aux effets bénéfiques sur la santé, notamment les polyphénols, l'acide ascorbique, les caroténoïdes et les tocophérols (Ecran et al,2011).

Les agrumes possèdent diverses activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, antibiotiques, antiseptiques, antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Del rio et al,2004). Grâce à leur richesse en caroténoïdes, ils favorisent la production de cellules osseuses et améliorent l'absorption du calcium, faisant de l'orange un excellent allié pour la santé des os. De plus, la pulpe d'orange fraîche est traditionnellement utilisée pour traiter les affections cutanées telles que l'acné et pour les soins du visage (Valnet ,2001). Ils contribuent également à la régulation de la pression artérielle (Ramful et al,2011).

II.7. Propriétés et activités biologiques :

Les huiles essentielles possèdent une vaste gamme de propriétés biologiques qui les rendent précieuses pour de nombreuses applications thérapeutiques et industrielles. Elles se distinguent notamment par leurs effets antibactériens, antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires. Ces propriétés sont principalement attribuées aux composés actifs qu'elles contiennent, tels que les terpènes, les phénols et les aldéhydes, qui leur permettent de lutter efficacement contre divers pathogènes, y compris ceux résistants aux antibiotiques conventionnels.

En outre, certaines huiles essentielles présentent une activité antioxydante notable, contribuant à neutraliser les radicaux libres et à protéger les cellules du stress oxydatif. Cette action joue un rôle clé dans la prévention des maladies chroniques et du vieillissement cellulaire. Par ailleurs, elles possèdent des propriétés immunomodulatrices qui renforcent le système immunitaire et augmentent la résistance de l'organisme aux infections.

Enfin, l'utilisation des huiles essentielles en aromathérapie est associée à des effets psychotropes bénéfiques, favorisant l'amélioration de l'humeur, la réduction du stress et de l'anxiété, ainsi que la relaxation et le bien-être général (Ouis,2015)

II.7.1. Activité antioxydante :

L'effet antioxydant des huiles essentielles est principalement attribué à la présence de certains composés monoterpéniques, notamment des alcools, éthers, cétones et aldéhydes. Parmi eux, on retrouve le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol, le néral, le citronellal, l'isomenthone et la menthone. De plus, certains monoterpènes, tels que l' α -terpinène et le γ -terpinène, contribuent également à cette activité (Edris et al, 2003).

II.7.2. Antibactérienne :

Depuis, de nombreuses huiles essentielles ont été étudiées pour leur activité antibactérienne (Burt, 2004).

La première mise en évidence de l'action antibactérienne des huiles essentielles remonte à 1881, grâce aux travaux de Delacroix (Boyle, 1955).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram-positives que sur les bactéries Gram-négatives. Toutefois, ces dernières paraissent plus sensibles à leur effet, en raison de la structure particulière de leur paroi cellulaire (Brut, 2004).

L'évaluation de l'activité antibactérienne d'un principe actif repose sur la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI). Cette dernière correspond à la plus faible concentration de principe actif capable d'empêcher toute croissance bactérienne après 24 heures d'incubation. Ce paramètre est également utilisé pour évaluer l'activité antifongique (Jehl, 2014). La CMI se distingue de la CMI50, de la CMI90 ainsi que de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB).

L'activité antimicrobienne est évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition formée autour de chaque disque.

Selon les travaux de BELLETI et al. (2004) et FISHER et al. (2007), les huiles essentielles de Citrus présentent une efficacité contre les bactéries pathogènes, y compris les spores bactériennes. Elles agissent également sur certaines bactéries responsables de toxico-infections alimentaires, telles que *Mycobacterium jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157 :H7, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* et *Arcobacter butzleri*.

II.7.3. Activités antifongiques :

Les champignons, des organismes saprophytes largement répandus, se classent généralement en deux groupes : les levures et les champignons filamenteux. Chez l'homme, les infections fongiques, appelées mycoses à levures, peuvent affecter différentes parties du corps, notamment la peau, les cheveux, les ongles, ainsi que les tissus sous-cutanés ou les organes internes en cas d'infection systémique (Hay,2006).

L'étude menée par Saadoune Z et Meguenni F en 2016 a révélé que l'huile essentielle de Citrus présentait une activité antifongique marquée contre l'ensemble des espèces fongiques testées, notamment *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* et *Saccharomyces cerevisiae*, et ce, pour les deux méthodes d'évaluation : l'aromatogramme et la micro-atmosphère.

II.8. Domaine d'application des huiles essentielles :

II.8.1. Rôle alimentaire :

Depuis l'Antiquité, les plantes aromatiques ont été utilisées par l'homme pour rehausser la saveur des aliments. Les Égyptiens, par exemple, faisaient chauffer des mélanges contenant des huiles essentielles afin de diffuser des arômes, dans le but de stimuler l'appétit des personnes malades (Baser et Buchbauer, 2009).

L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser la saveur, parfumer et parfois colorer les aliments. Le secteur des boissons gazeuses en est particulièrement friand, représentant l'un des plus grands consommateurs. Parmi elles, l'huile essentielle d'orange est la plus utilisée à l'échelle mondiale (Grysole,2005).

Grâce à leurs propriétés antiseptiques et aromatiques, les huiles essentielles sont couramment utilisées dans les préparations culinaires, notamment avec l'ail, le laurier et le thym. Elles sont également très appréciées en liquoristerie (boissons anisées, kummel) et en confiserie (bonbons, chocolat). Leur pouvoir antioxydant permet de prolonger la conservation des aliments en limitant le développement des moisissures (Ouis,2015).

II.8.2. En parfumerie et cosmétologie :

Les huiles essentielles (H.E.) de *Citrus sinensis* occupent une place essentielle dans les industries de la parfumerie et de la cosmétologie en raison de leurs propriétés aromatiques remarquables. L'industrie des parfums en utilise environ 60 % pour la fabrication de fragrances et de savons, mettant en avant leur capacité à offrir des senteurs agréables et durables.

En cosmétologie, les huiles essentielles de *Citrus sinensis* sont intégrées à une large gamme de produits pour leur parfum naturel et envoûtant. Elles entrent notamment dans la composition des crèmes hydratantes et solaires, des shampoings, des dentifrices et des rouges à lèvres, apportant une note olfactive douce et rafraîchissante (Hamadou,2017).

II.8.3. En thérapeutique :

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés médicinales variées. La majorité de leurs constituants ont une action antimicrobienne, ce qui explique leur utilisation comme antiseptiques. Certaines huiles essentielles favorisent la digestion, tandis que d'autres ont des effets antispasmodiques, sédatifs ou cicatrisants. Ces bienfaits sont principalement attribués à leurs composés terpéniques.

De plus, plusieurs huiles essentielles soulagent divers types de douleurs et sont largement employées pour traiter les affections articulaires inflammatoires. Elles jouent également un rôle dans le renforcement et la stimulation du système immunitaire. C'est pourquoi elles sont qualifiées de cytophylactiques, c'est-à-dire protectrices des cellules vivantes.

Par ailleurs, certaines huiles essentielles, comme celles de nigelle et de mélisse officinale, présentent des propriétés antitumorales et sont utilisées dans la prévention de certains cancers (Ouis,2015).

II.9. Sélection de la méthode d'extraction :

En raison de la diversité et de la complexité des huiles essentielles, le choix du procédé d'extraction est une étape délicate. La méthode adoptée doit préserver l'ensemble des composés, qu'ils soient polaires ou apolaires, tout en évitant toute réaction biochimique, dégradation thermique, oxydation, réduction, hydrolyse, modification du pH ou perte de composés volatils. Ainsi, plusieurs paramètres et propriétés doivent être pris en compte pour garantir une extraction optimale.

Les principaux critères à considérer dans l'extraction des matières premières naturelles aromatiques incluent :

La volatilité des composés,

Leur solubilité,

La taille et la structure des molécules,

Le phénomène d'adsorption.

II.10. Facteurs influençant l'extraction :

Divers paramètres influencent l'efficacité du procédé, notamment :

La nature de la matière végétale,

L'état physique du solide et du soluté,

Le type de solvant utilisé, sa concentration et son volume,

Les conditions opératoires : méthode d'extraction, durée, température et pression (Bousiba,2011).

II.11. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles repose sur différentes méthodes, dont le choix dépend des caractéristiques de la plante et des propriétés de l'essence recherchée. Le processus débute par l'isolement des molécules aromatiques contenues dans la matière végétale, suivi de leur séparation par distillation. Les principales techniques employées sont présentées dans le schéma ci-dessous.

Les huiles essentielles sont des substances très délicates, elles s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile (Aliouan,2015).

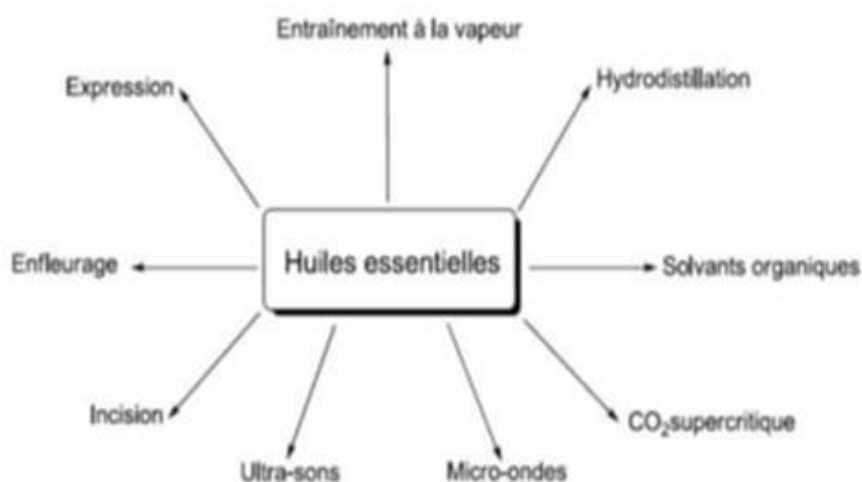


Figure5 : Mode d'extraction des huiles essentielles (Ouis, N. (2015).

II.11.1. Extraction par L'hydro distillation :

Est une méthode ancestrale utilisée pour extraire certaines substances d'un mélange liquide. Cette technique repose sur l'utilisation d'un appareil de type Clevenger, composé d'un chauffe-ballon, d'une colonne de condensation (réfrigérant) et d'un collecteur en verre destiné à recueillir les extraits distillés. L'huile essentielle obtenue est ensuite conservée dans un flacon en verre brun hermétiquement fermé, placé à l'abri de la lumière et au réfrigérateur (Fadil ET AL).

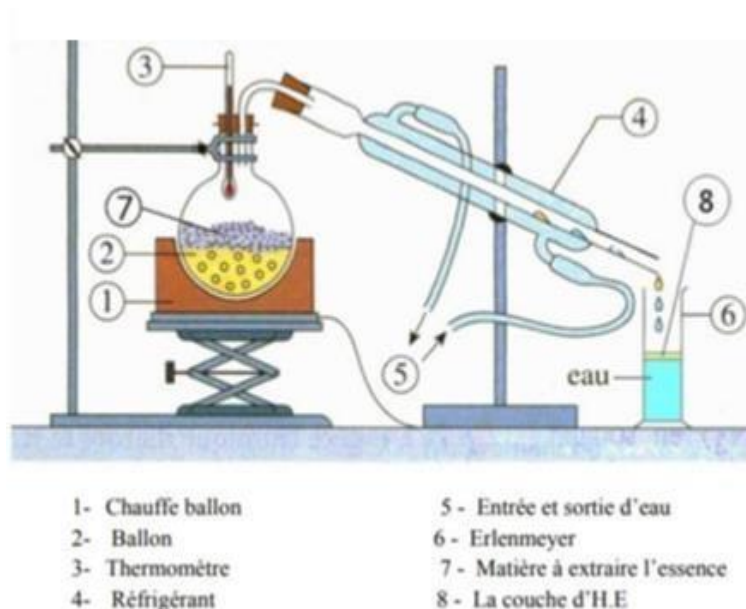


Figure 6 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (LUCCHESI M.E,2005)

II.11.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

L'extraction par entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes les plus anciennes utilisées pour obtenir des huiles essentielles. Ce procédé consiste à exposer le matériau végétal à un flux de vapeur, ascendant ou descendant, sans nécessiter de macération préalable. L'eau et la matière végétale ne sont pas en contact direct ; la technique repose sur le principe selon lequel la majorité des composés odorants volatils présents dans les plantes peuvent être

entraînés par la vapeur. Généralement, la vapeur générée par une chaudière traverse la matière végétale placée sur une grille perforée (Chenni, 2016).

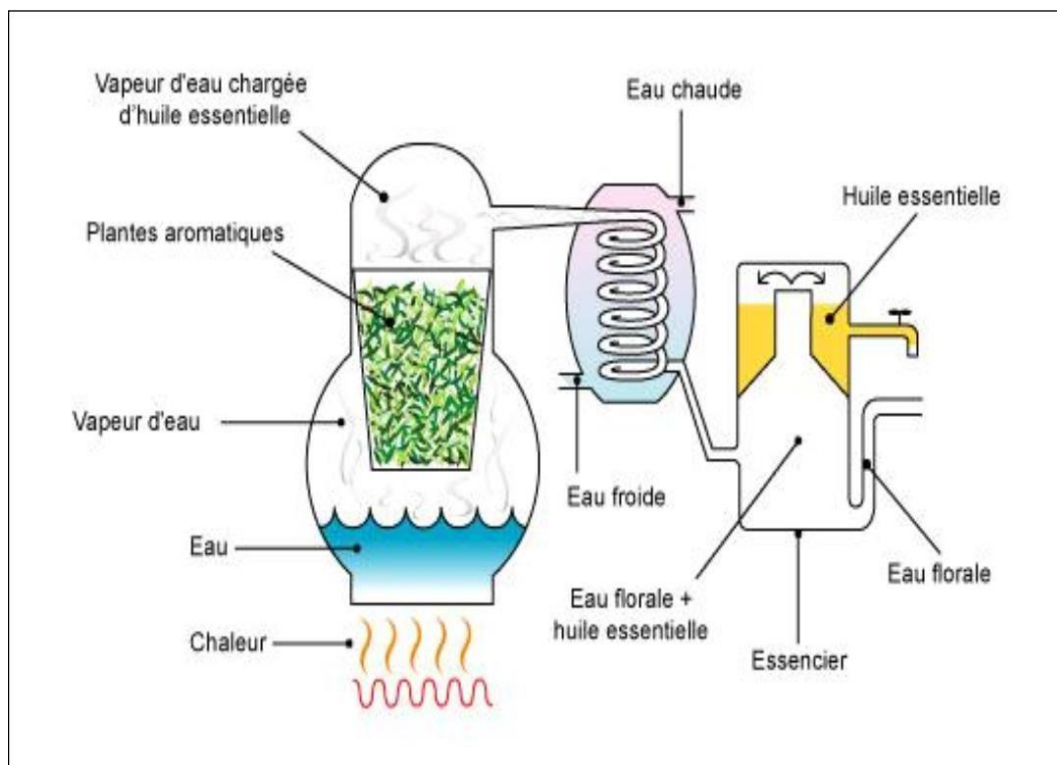


Figure 7 : Schéma du montage de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Boutamani, 2013).

II.11.3. Extraction Assistée par Micro-Ondes (EAM) :

L'extraction assistée par micro-ondes est une technique qui utilise l'énergie des micro-ondes pour accélérer le processus d'extraction. Ce procédé favorise la rupture des cellules en provoquant une élévation rapide de la température et de la pression interne au sein des parois cellulaires des végétaux, facilitant ainsi la libération des composés d'intérêt (M'hiri, 2015).

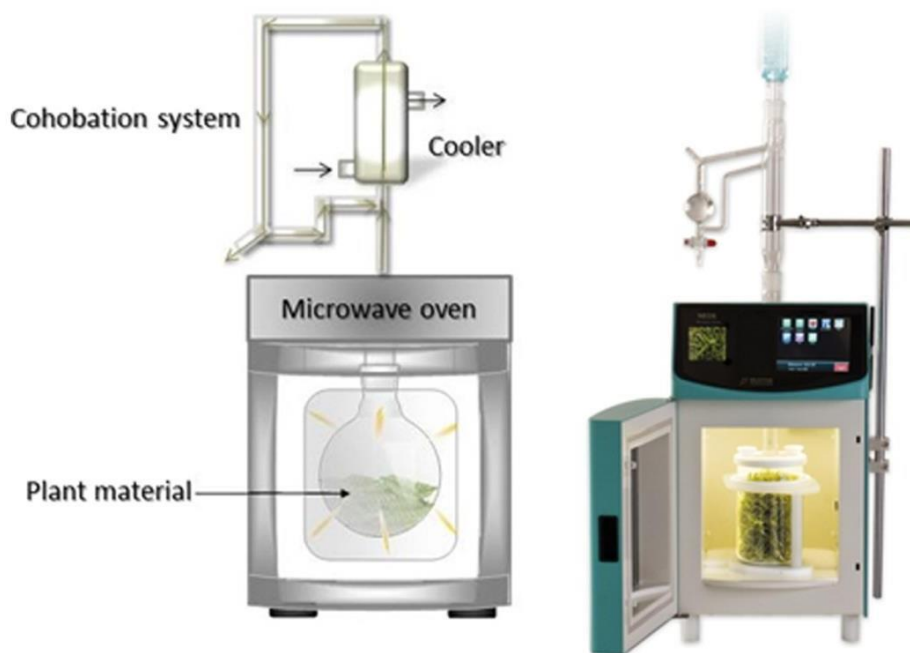


Figure 8 : Schéma du montage de l'extraction par micro-onde (Ying et al,2013).

II.11.4. Extraction par solvants organiques :

Certaines huiles essentielles possèdent une densité proche de celle de l'eau, rendant inapplicable la distillation à la vapeur d'eau. Dans ces cas, on utilise un solvant pour macérer la plante, permettant ainsi l'extraction des substances odorantes.

-Solvants pétroliers :

Cette technique repose sur l'utilisation de solvants organiques tels que le pentane, l'hexane ou l'heptane. Elle est spécifiquement employée pour les huiles essentielles dont la densité est similaire à celle de l'eau.

-Forane :

Le Forane 113 ($F_2CCl-CCl_2F$) permet d'extraire simultanément l'huile essentielle et l'huile lipidique, optimisant ainsi le rendement de la plante.

-Dioxyde de carbone :

L'extraction par dioxyde de carbone, sous forme liquide ou supercritique, utilise un flux de CO_2 sous haute pression pour faire éclater les poches d'essence. Comparée à l'hydrodistillation, cette méthode est plus avantageuse en termes de coûts, d'économie

d'énergie, de rendement et de qualité du produit final. De plus, le CO_2 est un solvant incolore, inodore, non inflammable et non toxique (Pallerin et al,1991).

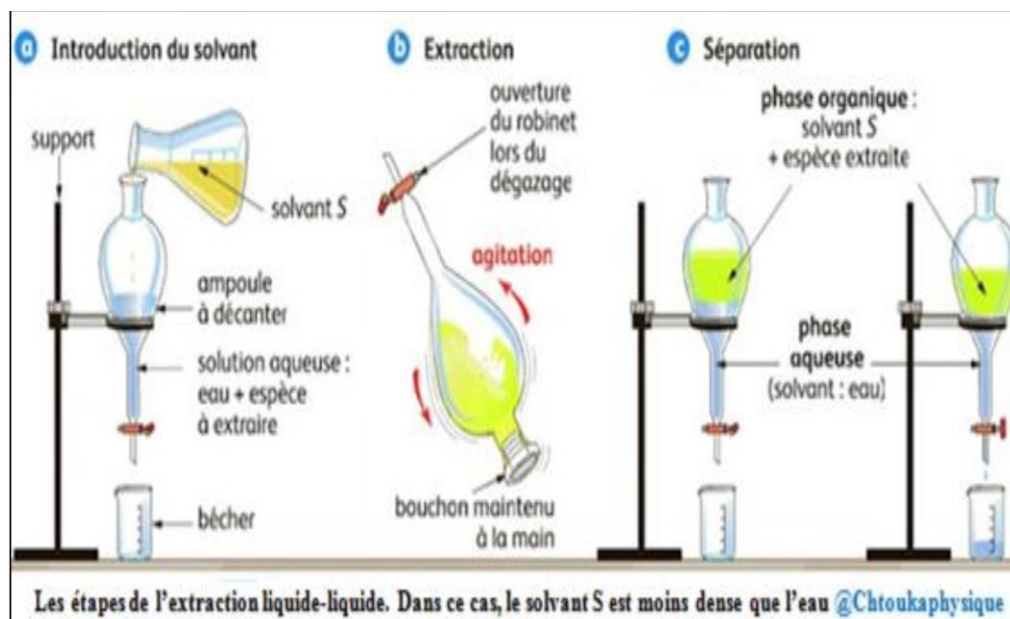


Figure 9 : Schéma d'extraction par solvant organique(Lawless, 2013).

II.11.5. Extraction par fluide à l'état supercritique :

Cette technique se distingue par l'utilisation d'un solvant particulier : le dioxyde de carbone (CO_2) en phase supercritique. Le principe repose sur la compression du CO_2 à des pressions et températures dépassant son point critique ($P = 72,8$ bars et $T = 31,1$ °C). Dans cet état, le CO_2 ne se comporte ni comme un liquide ni comme un gaz, lui conférant ainsi un excellent pouvoir d'extraction, ajustable en modifiant la température d'application. Les fluides supercritiques, tels que le CO_2 , possèdent d'excellentes propriétés solvant dans cet état, mais deviennent de mauvais solvants à l'état gazeux (Bouras,2018)

II.11.6. Extraction par hydrodiffusion :

Repose sur l'envoi de vapeur d'eau du haut vers le bas à travers la plante. Cette méthode permet de saturer rapidement le végétal en vapeur. Les extracteurs à hydro-diffusion exploitent l'effet osmotique de la vapeur d'eau, qui entraîne la libération de l'huile essentielle sous forme azéotrope. Ce phénomène d'osmose est à la base du processus d'hydro- diffusion.

Le principe consiste à extraire et condenser l'azéotrope généré par la vapeur, en utilisant la gravité pour faciliter la séparation des composants. Grâce à cette action, la diffusion des huiles essentielles est optimisée. L'huile essentielle obtenue est collectée au bas de l'alambic.

Comparé à l'hydrodistillation, ce procédé est plus performant, offrant un meilleur rendement. Il présente également plusieurs avantages : une réduction de la consommation énergétique grâce à un temps de distillation plus court et l'absence d'hydrolyse des composés aromatiques, puisque la plante n'est jamais en contact direct avec l'eau, mais uniquement avec la vapeur (Rakotomalala).

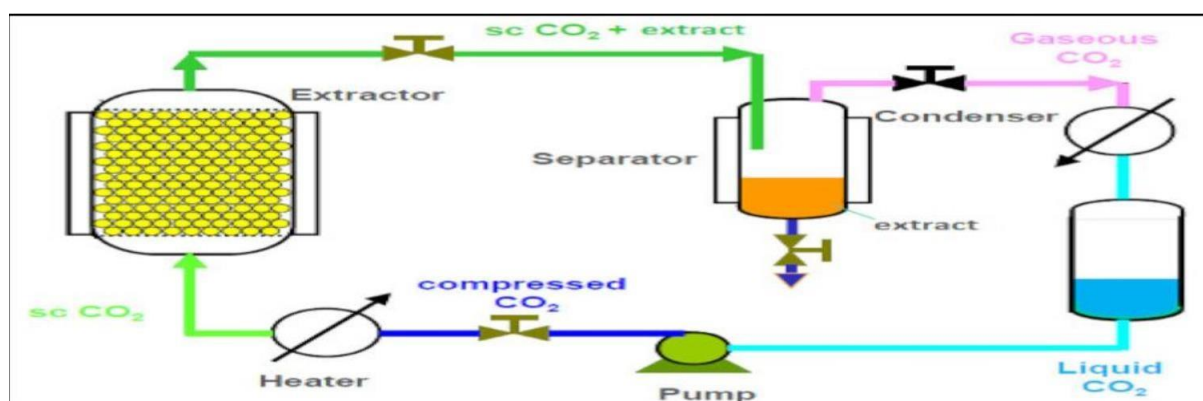


Figure 10 : Extraction par hydrodiffusion

II.11.7. Extraction par corps gras (L'enfleurage) :

L'enfleurage est une ancienne technique d'extraction des parfums floraux, largement pratiquée à Grasse (Alpes-Maritimes) jusqu'aux années 1930. Cette méthode repose sur l'absorption à froid des substances odorantes par des corps gras.

Le processus consiste à étaler une couche de graisse sur une surface plane (tamis ou plateau), sur laquelle les fleurs sont déposées manuellement, une à une. Grâce à son fort pouvoir absorbant, la graisse capte progressivement le parfum des fleurs. Pour optimiser l'extraction, ces dernières sont remplacées régulièrement jusqu'à saturation de la graisse. Une fois saturée, celle-ci est récupérée sous forme de « pommade », qui subit ensuite plusieurs lavages à l'alcool afin de transférer les substances odorantes. L'alcool est ensuite évaporé pour obtenir l'absolu d'enfleurage.

Contrairement à la distillation, l'enfleurage ne permet pas d'obtenir des huiles essentielles, mais plutôt des bases parfumées utilisées en parfumerie. Cette technique est particulièrement adaptée aux fleurs qui continuent de dégager leur parfum après la cueillette, comme le jasmin

Dans ce cas, les fleurs sont renouvelées toutes les 24 heures sur une période d'environ 70 jours.

L'enfleurage exige un savoir-faire manuel précis, nécessitant une main-d'œuvre qualifiée, ce qui en fait un procédé long et coûteux. Une variante, l'extraction par les graisses chaudes, repose sur le même principe mais avec un chauffage modéré de la matière grasse et des fleurs pendant une à deux heures. Après filtration, la graisse est réutilisée avec de nouvelles fleurs jusqu'à saturation. Le produit final obtenu après traitement à l'alcool est appelé absolue de macération.

Cette méthode présente l'avantage de réduire le temps de contact entre les fleurs et la graisse, tout en nécessitant moins de main-d'œuvre que l'enfleurage traditionnel (Deschepper,2017).

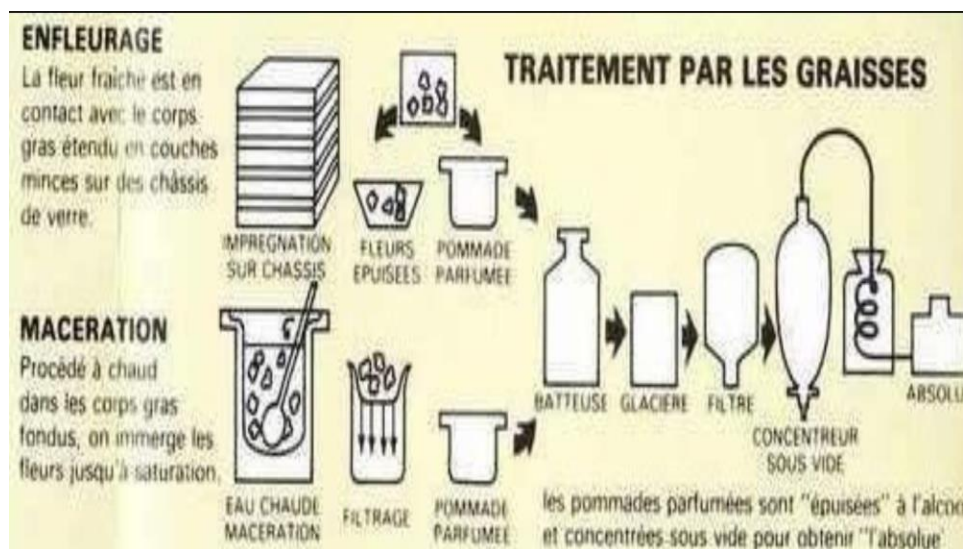


Figure11: Schéma de l'extraction par les corps gras (Balach,2024)

II.12. Conservation des huiles essentielles :

Pour préserver leurs propriétés, les huiles essentielles doivent être stockées dans des conditions spécifiques :

- Elles doivent être protégées de la lumière, d'où l'utilisation de flacons en verre ambré ou foncé.
- Il est essentiel de les conserver à l'écart des sources de chaleur.
- L'oxydation étant favorisée par la présence d'air, il est préférable d'opter pour plusieurs petits flacons plutôt qu'un seul grand contenant lors de l'embouteillage et de l'achat.
- Les flacons doivent être soigneusement refermés après chaque utilisation, car les huiles essentielles sont volatiles et risquent de s'évaporer, ce qui altère progressivement leur parfum et leurs propriétés.
- Il est recommandé de les stocker en position verticale, car une inclinaison prolongée pourrait détériorer le bouchon en raison de l'action corrosive de certaines huiles sur le plastique.

En respectant ces précautions, les huiles essentielles peuvent se conserver plusieurs années et, dans certains cas, se bonifier avec le temps. Toutefois, celles issues des zestes d'agrumes ont une durée de conservation plus limitée, ne dépassant généralement pas deux ans (Abadlia et al ,2002).

Chapitre III :

Matériels et Méthodes

III. Matériels et Méthodes :

III.1. Préparation du matériel végétal :

La matière première utilisée pour cette étude est constituée des écorces d'agrumes, à savoir l'orange (*Citrus sinensis*) et le citron (*Citrus limon*). Les fruits ont été achetés à partir d'un marché local situé dans la ville de Tiaret. Aucune distinction de variété n'a été effectuée lors de l'acquisition des fruits. Seules les écorces ont été utilisées pour l'extraction des huiles essentielles, après séparation de la pulpe.



Figure 12 : Les fruits d'agrumes (*Citrus limon*)

III.2. Séchage et broyage des écorces d'orange et citron :

Les fruits d'agrumes ont été soigneusement lavés, puis épluchés à l'aide d'un économe selon deux méthodes différentes : la première en conservant la couche blanche interne (l'albédo), et la seconde après avoir retiré cette couche.

Ensuite, les écorces ont été découpées en petits morceaux puis séchées à l'abri de la lumière à une température ambiante pendant 10 jours



Figure 13 : Séchage des écorces d'orange et citron.

Afin d'augmenter la surface de contact avec l'eau, les écorces d'orange et de citron ont été broyées puis tamisées.



Figure 14: Broyage Les écorces d'oranges et citron.

Concernant l'orange, deux types de zestes ont été préparés afin de comparer l'influence de la partie blanche (albédo) sur le rendement :

Le premier lot a été obtenu en retirant soigneusement la partie blanche, ne conservant que l'écorce externe colorée (flavedo). La masse de ce lot était de 260 g. Le second lot a conservé l'écorce avec la partie blanche intacte (flavedo + albédo), pour une masse de 260g.

En ce qui concerne le citron, nous avons utilisé 100 g d'écorces broyées pour le processus d'extraction.

III .3. Extraction par hydrodistillation :

Dans le cadre de ce travail, nous avons procédé à la préparation des écorces d'orange et de citron afin d'en extraire les huiles essentielles par hydrodistillation dans un appareil de Clevenger.

Une méthode d'extraction fractionnée a été adoptée afin de suivre l'évolution du rendement en huile essentielle au cours du temps. Le processus de distillation a été divisé en trois périodes égales de trente minutes chacune. Au cours de la première demi-heure, un premier échantillon d'huile essentielle a été collecté. Par la suite, durant la deuxième demi-heure, un deuxième échantillon a été extrait et recueilli. Enfin, au cours de la dernière demi-heure, un troisième échantillon d'huile a été obtenu.

L'extraction a été réalisée au laboratoire de biochimie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université IBN KHALDOUN de Tiaret.



Figure15 : Montage d'extraction (Clevenger).

-260 g d'écorces d'orange avec mésocarpe râpées ont été placés dans un ballon de 2 litres, rempli de 1,5 litre d'eau.

-260 g d'écorces d'orange avec mésocarpe dans 1,7 litres d'eau.

-100g d'écorces de citron dans 1,2 litres d'eau.

Le ballon a été fixé sur un chauffe-ballon équipé d'un appareil de distillation de Clevenger. Le chauffage a été activé jusqu'à atteindre une température d'environ 100°C, entraînant l'ébullition du mélange et l'évaporation de l'eau chargée en huiles essentielles et en

composés aromatiques. Les vapeurs traversent le système de Clevenger, où elles se condensent dans le réfrigérant, conduisant à l'obtention d'une solution biphasée :

- La phase aqueuse, plus dense (l'hydrolat).
- La phase moins dense qui flotte au-dessus : l'huile essentielle.



Figure16 : Huile essentielle obtenue

L'huile essentielle obtenue est stockée dans des tubes Eppendorf, hermétiquement fermés avec une fine couche de protection, recouverts de papier aluminium ou placés dans des flacons opaques, puis conservés à 4°C au réfrigérateur.

Une étiquette est apposée sur les flacons avec toutes les informations nécessaires, telles que la date d'extraction, le nom et d'autres détails.

Les mêmes procédures ont été suivies pour l'extraction de l'huile essentielle à partir des écorces d'orange râpées sans la partie blanche interne, ainsi que pour les écorces de citron coupées en petits morceaux.



Figure17 : Huiles essentielles d'Orange et citron dans des flacons recouverts

Par papier aluminium.

III .4. Détermination du rendement en huile essentielle :

Conformément aux normes AFNOR (1982), le rendement en huile essentielle correspond au rapport entre la masse d'huile essentielle extraite et la masse de matière végétale utilisée. Le rendement de nos échantillons a ainsi été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$R = m/m_0 \times 100$$

R: rendement en huile essentielle.

m: masse en gramme de l'huile essentielle.

m₀: masse en gramme de matière végétale sèche

III. 5. Étude de l'activité antibactérienne :

III .5.1 Souches bactériennes et conditions de culture :

L'activité antimicrobienne des extraits d'agrumes (orange et citron) a été évaluée contre deux souches bactériennes : *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Elle est impliquée dans diverses infections, telles que les intoxications alimentaires, les infections localisées suppurées, et, dans certains cas graves, des infections potentiellement mortelles,

notamment chez les patients immunodéprimés ou porteurs de prothèses cardiaques. Cette bactérie se présente sous forme de coques regroupées en amas (ressemblant à des grappes de raisin), Gram positif et catalase positif.

Escherichia coli est une bactérie à Gram négatif, reconnue pour sa forte résistance aux antibiotiques ainsi que pour son pouvoir invasif et toxique chez l'homme (Bencheqroun et al., 2012). Avant les tests antibactériens, cette souche a été ensemencée dans un bouillon nutritif, puis incubée à 37 °C pendant 24 heures. Les souches bactériennes utilisées ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

III.5.2. Préparation de l'inoculum :

À partir des boîtes de Pétri contenant les cultures de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, des suspensions microbiennes ont été préparées séparément pour chaque souche. À l'aide d'une pipette Pasteur, deux à trois colonies pures et bien isolées ont été prélevées de manière aseptique, puis transférées dans un tube contenant 5 ml de solution de référence de type McFarland.

III.5.3. Principe de la méthode de diffusion en milieu gélosé :

La méthode de diffusion, largement employée en microbiologie notamment pour la réalisation d'antibiogrammes, repose sur la capacité d'un composé antimicrobien à se diffuser au sein d'un milieu solide. L'efficacité de ce composé vis-à-vis de la souche cible est évaluée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition formée autour du point d'application (Broadasky et al., 1976).

III.5.4. Contact bactérie - huile essentielle d'agrumes (orange et citron):

Sur des boîtes de Pétri contenant le milieu gélosé de Muller-Hinton, 100 µL de l'inoculum bactérien sont déposés, puis étalés de manière homogène en surface à l'aide d'une pipette de Pasteur en forme de L. Cette opération est réalisée de façon identique pour les deux souches bactériennes étudiées.

L'une des boîtes de Pétri sera un témoin (expérience témoin), tandis que les autres boîtes seront utilisées pour tester l'interaction entre les bactéries et l'huile essentielle de citron et d'orange (avec et sans albédo). Une boîte sera dédiée à l'huile essentielle de citron, une autre à l'huile essentielle d'orange avec l'albédo, et une troisième à l'huile essentielle d'orange sans albédo (la peau blanche interne). Cela se fera en plaçant un disque de papier Whatman stérile (de 4 mm de diamètre) imprégné d'huile essentielle d'agrumes (orange des deux types et citron)

à des imprégnés d'huile essentielle d'agrumes (orange des deux types et citron) à des concentrations de 25 μ L et 50 μ L dans chaque boîte, sur la surface bactérienne en cours de développement. Toutes les boîtes seront incubées à 37°C pendant 24 heures

Chapitre IV :

Résultats et discussions

IV.1. Resultats

IV.1.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle des écorces :

Les caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle d'orange et citron à savoir l'aspect, la couleur (fig21) et l'odeur sont représentées en comparaison avec les normes AFNOR au niveau du tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles obtenues :

	Aspect	Couleur	Odeur
AFNOR	Liquide mobile, Limpide.	Presque incolore à jaune pâle.	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine.
H.E d'Orange sans mésocarpe	Liquide, limpide, légèrement plus visqueux.	Incolore.	Très intense, douce, sucrée, fruitée, caractéristique de l'orange mûre (riche en limonène).
H.E d'Orange avec mésocarpe	Liquide limpide, fluide.	Transparent sans couleur	Douce, fruitée, fraîche, légèrement moins intense que sans amère due au mésocarpe).
H.E de Citron	Liquide limpide, fluide.	Jaune pâle à incolore	Fraîche, vive, acidulée, citronnée, légèrement piquante (riche aussi en limonène mais avec une note plus vive grâce aux composés comme le citral).

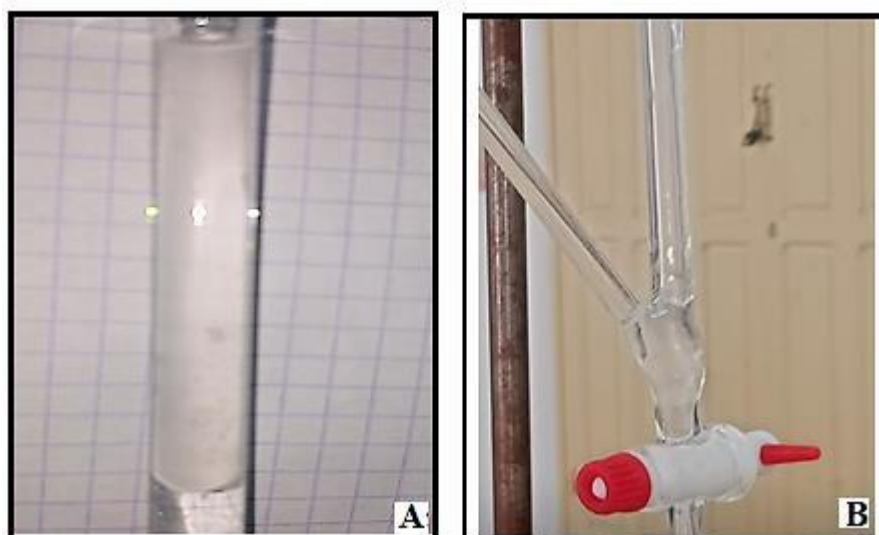


Figure21 : Photo d'huile essentielle d'orange :
A : Sans mésocarpe ; **B :** avec mésocarpe



Figure22 : Photo d'huile essentielle de Citron

IV.12 Rendement en huile essentielle :**IV.21 1. Rendement en huile essentielle de l'orange :****Rendement en huile essentielle de Orange sans mésocarpe(albéo) :**

$$R=7.28 \div 260 \times 100 = 2.86\%$$

Rendement en huile essentielle de Orange avec mésocarpe (albéo + flavedo) :

$$R=5.72 \div 260 \times 100 = 2.17\%$$

IV.12 2. Rendement en huile essentielle de citron :

Pour le citron lors de la première demi-heure, nous avons récupéré 3.83g d'huile essentielle(C1). Après une heure de distillation, à température d'ébullition maximale, 1.11g supplémentaires ont été obtenus(C2). Enfin, après une heure et trente minutes, toujours sous température élevée, 1.09g d'huile ont été extraits(C3).

Cette approche nous a permis d'évaluer l'effet du temps de distillation sur le rendement en huile essentielle.

Rendement d'huile essentielle de citron :

$$C1 : R = 3.83 \div 100 \times 100 = 3.83\%$$

$$C2 : R = 1.11 \div 100 \times 100 = 1.11\%$$

$$C3 : R = 1.09 \div 100 \times 100 = 1.09\%$$

Rendement total d'huile essentielle de citron :

$$R = 6.03 \div 100 \times 100 = 6.03\%$$

Dans le cas de l'orange, nous avons constaté que le rendement est plus élevé lorsque seule la partie externe de l'écorce (flavedo) est utilisée (2.86%) par rapport à l'utilisation de l'écorce entière incluant le mésocarpe (2.17%). Cela s'explique par le fait que le flavedo est riche en glandes sécrétrices d'huile essentielle, tandis que l'albéo (partie blanche) est pratiquement dépourvu de composés volatils, ce qui minimise la surface de contact avec l'eau au cours de l'ébullition.

Pour le citron, l'influence du temps de distillation a été étudiée. Il a été observé que la majorité de l'huile essentielle (3.83%) est extraite dès les 30 premières minutes de distillation. Les rendements supplémentaires après 60 minutes (1.11%) et 90 minutes (1.09%) montrent une diminution progressive de l'efficacité d'extraction dans le temps. Le rendement total de 6.03% suggère que si un rendement maximal est recherché, une distillation prolongée peut être envisagée. Toutefois, pour des raisons d'efficacité énergétique et de temps, une extraction

courte (30 à 60 minutes) pourrait être optimale, car elle permet de récupérer la majorité de l'huile essentielle.

En conclusion, la nature de la matière première (flavedo vs mésocarpe) ainsi que la durée de distillation sont des paramètres essentiels à optimiser pour améliorer le rendement d'extraction des huiles essentielles d'agrumes.

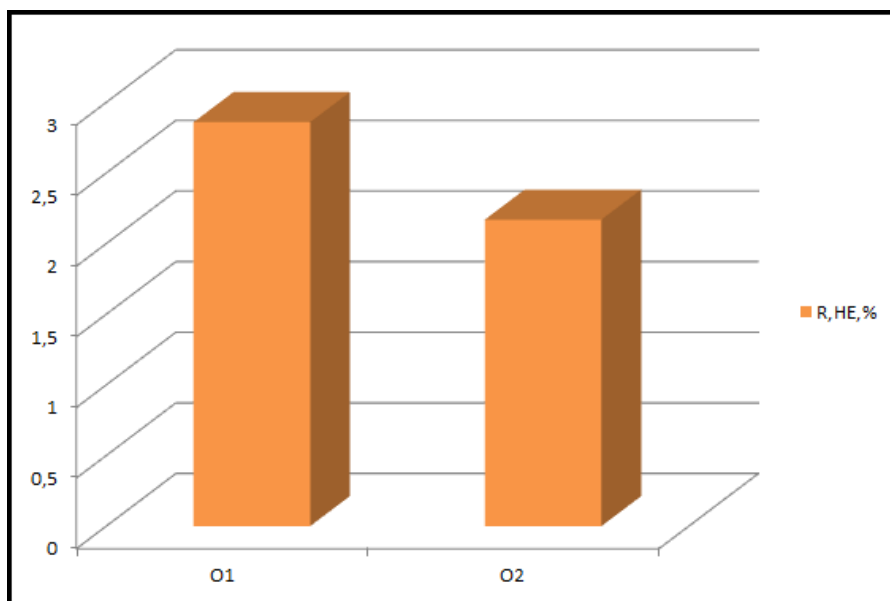


Figure 20 : Rendement en H.E D'Orange avec et sans mésocarpe :

O1 : Orange sans mésocarpe(albédo) ;

O2 : Orange avec mésocarpe(albédo+flavedo):

La figure 23 montre que le rendement en huile essentielle obtenu par hydrodistillation à partir des écorces d'orange sans mésocarpe est de 2,86 %, soit un rendement supérieur à celui obtenu avec mésocarpe (2,17 %). Cette différence peut être attribuée à la structure des différentes couches de l'écorce. Une observation similaire a été rapportée dans l'étude de Jalgaonkar et al. (2013), qui ont évalué l'effet de la taille des particules et du type de matrice sur le rendement en huile essentielle à partir des écorces de pamplemousse.

Bien que l'étude ne mentionne pas explicitement l'élimination de l'albédo, l'analyse des données indique une nette augmentation du rendement (jusqu'à 2,24 %) lorsque des particules fines ont été utilisées, comparées à un rendement de seulement 0,68 % avec l'écorce entière. Cette différence suggère que la fraction externe (flavedo), riche en glandes

oléifères, pourrait avoir été séparée du mésocarpe interne (albédo), lequel est majoritairement composé de cellulose et d'hémicellulose, et contient peu de composés volatils.

Ainsi, bien qu'aucune mention explicite ne soit faite quant au retrait de l'albédo, les résultats présentés laissent supposer que son absence pourrait être un facteur contribuant à l'augmentation du rendement. Ce constat est en cohérence avec nos propres observations, où l'exclusion du mésocarpe a permis une amélioration significative du rendement en huile essentielle.

Nos observations corroborent les propos de Maddie Simovic (2023) dans un article publié sur le site Libaspirits, où l'auteure précise que la couche de flavedo des agrumes renferme les glandes huileuses responsables de la production des composés aromatiques, tandis que l'albédo, situé en dessous, sépare l'écorce de la pulpe et n'est généralement pas exploité pour l'extraction des arômes en raison de sa pauvreté en composés volatils. Ces éléments confirment l'importance de retirer l'albédo afin d'optimiser le rendement en huile essentielle lors de l'extraction.

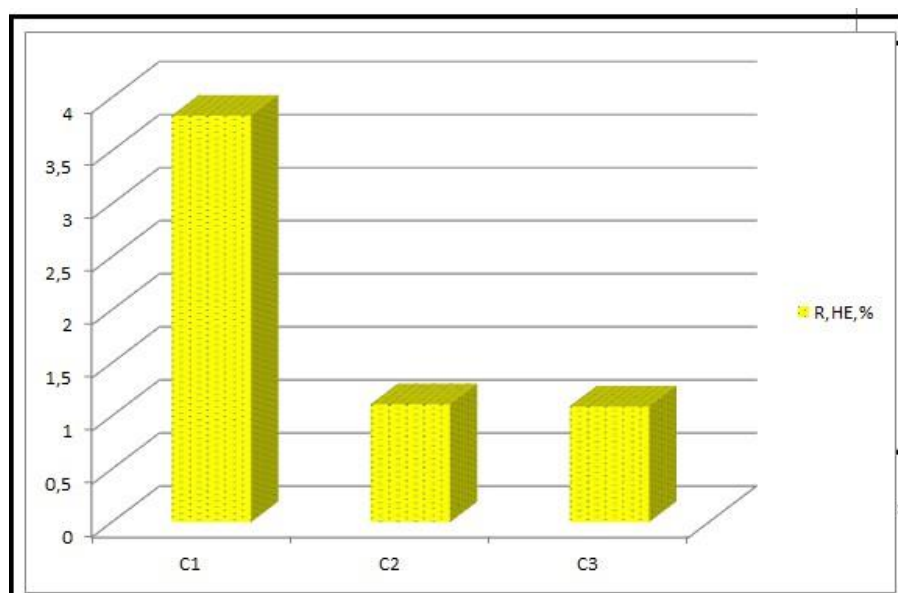


Figure21 : Rendement en H.E de Citron :

C1 : après 30 mn d'ébullition ;

C2 : après une heure d'ébullition ;

C3 : après une heure 30 mn d'ébullition.

Les résultats obtenus montrent que la durée de distillation influence directement le rendement en huile essentielle extraite des écorces de citron. Au cours de la première demi-heure de distillation, nous avons obtenu un rendement élevé de 3,83% (C1), représentant la plus grande proportion par rapport aux autres durées. Cela indique que la majorité des composés volatils sont extraits durant les premières phases de la distillation, particulièrement les composés légers tels que le limonène, principal responsable de l'arôme caractéristique des agrumes. En prolongeant la distillation à une heure (C2), le rendement chute à 1,11%, et diminue encore légèrement à 1,09% après une heure et demie (C3). Bien que la distillation prolongée ait permis l'extraction de quantités supplémentaires, l'augmentation reste marginale. Cela montre que la plus grande quantité d'huile est récupérée durant les premières 30 minutes, et que poursuivre au-delà n'améliore pas significativement le rendement, voire pourrait entraîner la dégradation de certains composés sensibles à la chaleur. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par Maccelli et al. (2024), qui ont montré que 96% de l'huile essentielle de bergamote est extraite durant les 60 premières minutes, la majorité étant obtenue dès les 10 premières minutes. De même, Chemat et al. (2013) ont observé que la concentration maximale en composés volatils dans l'huile essentielle de lavande est atteinte entre 30 et 60 minutes de distillation. En outre, des quantités extraites lors des durées prolongées peuvent contenir des composés lourds ou indésirables, ce qui pourrait affecter négativement les propriétés sensorielles ou l'activité biologique de l'huile, comme souligné par Benkeblia et al. (2018) et Djerrad et al. (2015) dans leurs études respectives sur le thym citronné et le myrte.

D'un point de vue économique et technique, une durée de distillation ne dépassant pas 30 minutes apparaît donc optimale, aussi bien en termes de rendement que de qualité aromatique et biologique de l'huile. Cette observation est particulièrement pertinente pour l'industrie aromatique et les applications pharmaceutiques, où l'on privilégie les huiles riches en composés volatils extraits dans des conditions douces.

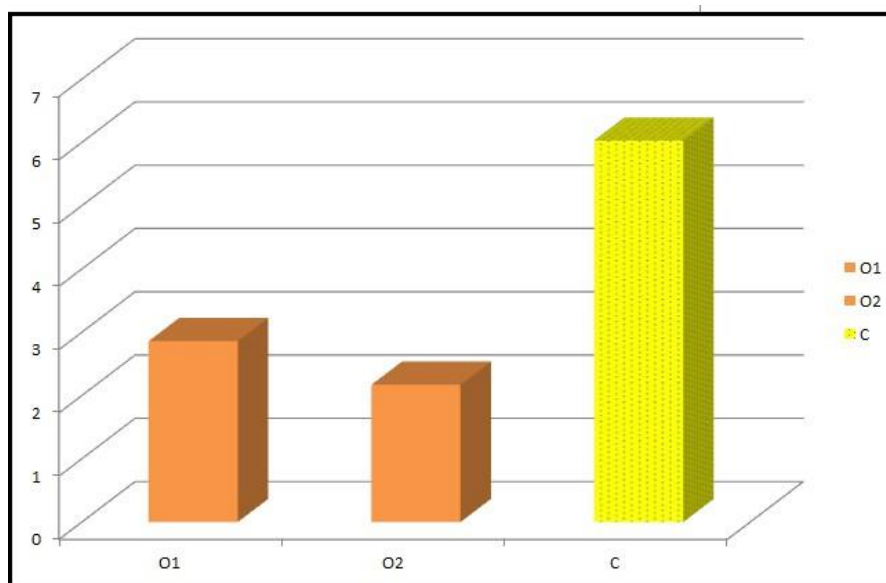


Figure22 : Rendement en H.E D'Orange et Citron :

O1 : Orange sans mésocarpe(albédo) ;

O2 : Orange avec mésocarpe(albédo+flavedo) ;

C : Citron

L'analyse des résultats obtenus montrent que le rendement en huiles essentielles d'orange sans et avec mésocarpe et de citron par distillation à l'eau était respectivement de 2,86 %, 2,17 % et 6,03 %.

D'après les résultats obtenus, le rendement du citron est supérieur au rendement de l'orange sans mésocarpe et avec lui. On constate également que le sans mésocarpe est légèrement supérieur à celui avec celui-ci. Par rapport aux résultats précédents, une différence dans les résultats ont été constatés. Où les résultats ont montré (saadon et al, 2016). Les H.E extraites par hydrodistillation à partir des écorces d'agrumes de *Citrus sinensis*, *Citrus limonum*, ont présenté un faible rendement allant de 0,12 à 0,24%.

Riga et al. (2003) ont rapporté que la productivité des H.Es dans les agrumes varie, avec des rendements allant de 1 à 3 %. Cette différence pourrait être expliquée selon Kelen & Tepe (2008) par le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité de le H.E, le climat, la zone géographique, la génétique de la plante, l'organe de la plante utilisé, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode

d'extraction employée, etc... Ce sont des facteurs entre autres qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en H.E (Vekiari et al, 2002).

IV.13 L'activité antibactérienne des huiles essentielles :

L'efficacité antimicrobienne a été déterminée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (en mm). Les diamètres moyens des zones d'inhibition, observés autour des puits contenant les huiles essentielles (orange avec albédo, orange sans albédo et citron) après 24 heures d'incubation à 37 °C, sont illustrés dans les figures (26).

Tableau 4 : Valeur des diamètres moyens de la zone d'inhibition et le pourcentage d'inhibition D'HE de des Oranges et citrons vis-à-vis deux bactéries.

Concentration de HE dans des disques	25ul			50ul		
Variété de HE	O1	O2	C	O1	O2	C
<i>Escherichia-coli</i> (mm)	6	8	6	8	9	8
<i>Staphylococcus Aureus</i> (mm)	9	11	12	10	13	12

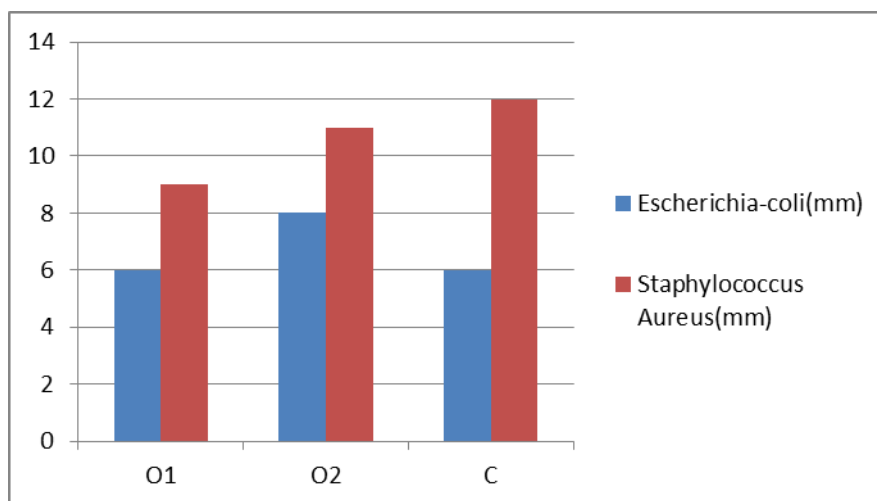


Figure23 : Diamètres moyens de halos d'inhibition des deux bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sous l'effet de 25ul d'HE des Oranges et citrons.

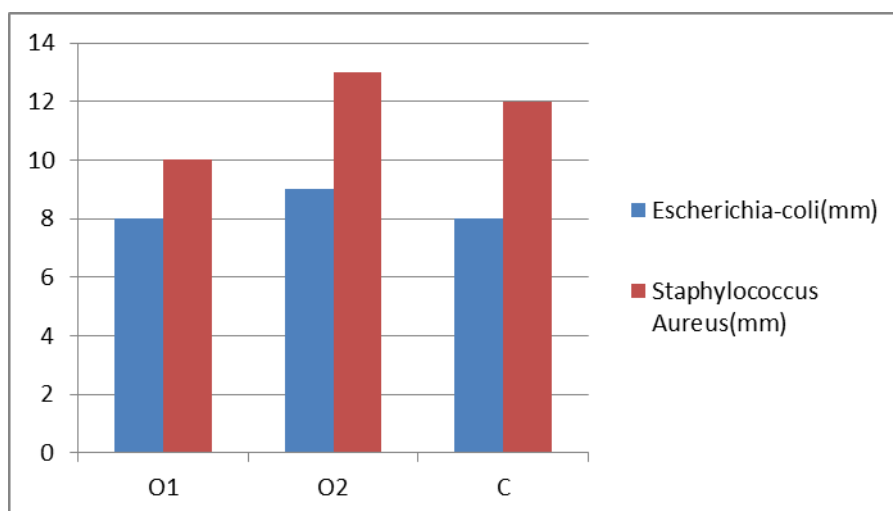


Figure24 : Diamètres moyens de halos d'inhibition des deux bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sous l'effet de 50ul d'HE des Oranges et citrons.

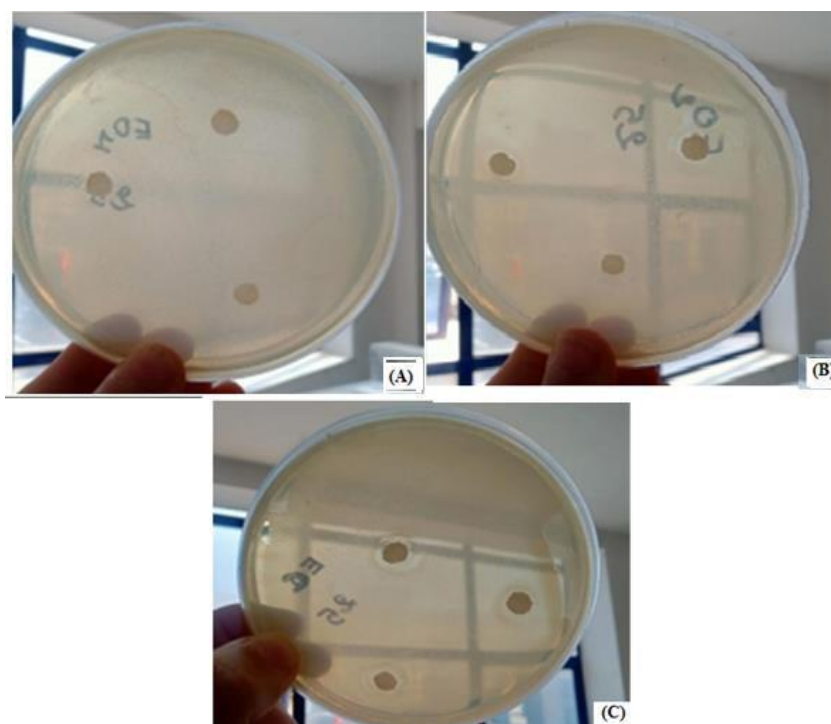


Figure25 : Zones d'inhibitions de *Escherichia coli* (Gram-)(25ul) ;

A:Effet d'huile essentielle d'Orange sans mésocarpe(albéo) (25ul);

B:Effet d'huile essentielle Orange avec mésocarpe(albéo+flavedo) (25ul);

C:Effet d'huile essentielle de Citron(25ul);

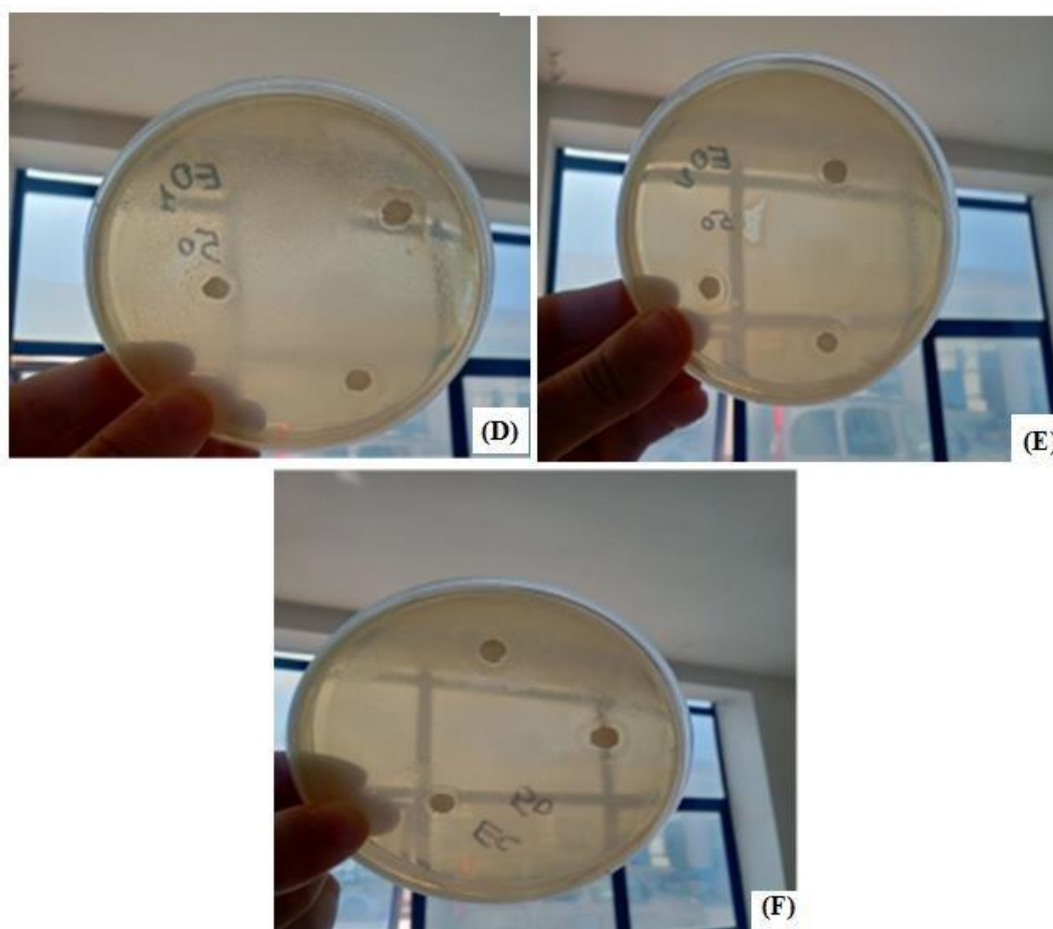


Figure26 : Zones d'inhibitions de *Escherichia coli* (Gram-) (50ul) ;

D : Effet d'huile essentielle d'Orange sans mésocarpe(albédo) (50ul);

E:Effet d'huile essentielle Orange avec mésocarpe(albédo+flavedo) (50ul);

F:Effet d'huile essentielle de Citron(50ul);

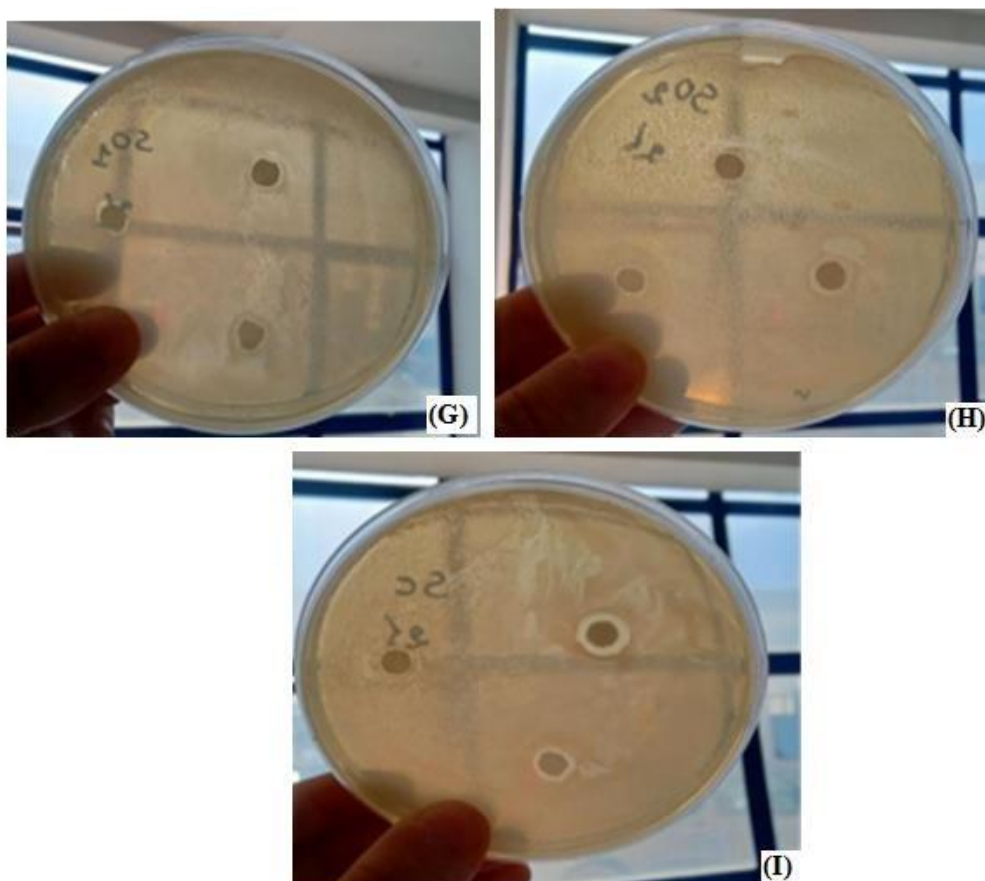


Figure27: Zones d'inhibitions de *Staphylococcus aureus* (Gram+)(25ul).

G : Effet d'huile essentielle d'Orange sans mésocarpe(albéo) (25ul),

H : Effet d'huile essentielle Orange avec mésocarpe(albéo+flavedo)
(25ul),

I : Effet d'huile essentielle de Citron(25ul).

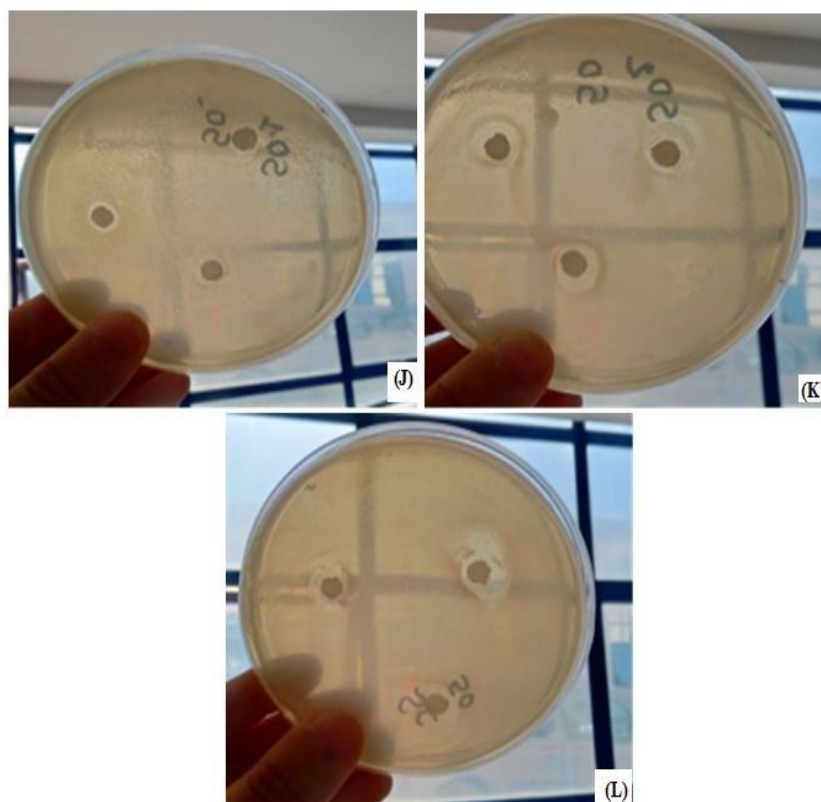


Figure28: Zones d'inhibitions de *Staphylococcus aureus* (Gram+)(50ul).

J : Effet d'huile essentielle d'Orange sans mésocarpe(albéo) (50ul),

K : Effet d'huile essentielle Orange avec mésocarpe(albéo+flavedo) (50ul),

L : Effet d'huile essentielle de Citron(50ul).

L'activité antibactérienne a été étudiée au niveau de laboratoire microbiologie de Faculté SNV. Université de Tiaret avec deux souches bactériennes dont une bactérie à Gram négative et une bactérie à Gram positives (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*).

Les résultats ont révélé une activité inhibitrice notable contre *Staphylococcus aureus*. Pour un volume de 25 μ L, les diamètres des zones d'inhibition étaient de 9 mm pour l'huile d'orange sans mésocarpe (O1), 11 mm pour l'huile d'orange avec mésocarpe (O2) et 12 mm pour l'huile de citron (C). À 50 μ L, les diamètres observés étaient respectivement de 11 mm (O1), 13 mm (O2) et 12 mm (C). Concernant *Escherichia coli*, aucune zone d'inhibition n'a été observée avec O1 à 25 μ L, tandis que des zones de 8 mm (O2) et 6 mm (C) ont été

enregistrées. À 50 μ L, les diamètres d'inhibition étaient de 8 mm (O1), 9 mm (O2) et 8 mm (C).

Ces résultats indiquent que les huiles essentielles de citron et d'orange, qu'elles soient extraites avec ou sans mésocarpe, présentent une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et, dans une moindre mesure, contre *Escherichia coli*. Les deux souches se révèlent sensibles à ces huiles essentielles, avec une efficacité généralement accrue à la concentration de 50 μ L.

Selon Kalembe et Kunicka (2003), la sensibilité d'un microorganisme aux huiles essentielles dépend de la propriété de l'huile essentielle et de microorganisme lui-même. (Nikaido et al,1996 ;Tepe et al,2005 ;Gilles et al,2010) confirment que les Gram⁺ sont plus sensibles à l'action antimicrobienne de l'HE que les Gram⁻.

Ainsi, Hellal (2011) a rapporté que *S. aureus* était la seule souche sensible au *C. limonum* (citron) avec un diamètre de 30.33mm, 16mm vis-à-vis de *C. aurantium*(orange amère) et 11.66mm pour *C. sinensis*

Généralement le mode d'action des H.E dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane. (Cox et al, 2000 in Carson et al, 2002).

Les HEs de quelques espèces de citrus testées. En effet, les zones d'inhibition avec *Citrus reticulata* (mandarine) et *Citrus clementina* (clémentine) étaient de 15,06 mm et 12,62 mm respectivement (BOUDRIES et al,2017).

IV2 Discussion:**IV21. Discussion des rendements d'extraction des huiles essentielles :**

Les résultats obtenus démontrent une variation marquée des rendements d'extraction des huiles essentielles selon l'espèce d'agrumes et les conditions d'extraction. Pour les écorces d'orange, les rendements ont été de **2.86%** (sans mésocarpe) et **2.17%** (avec mésocarpe). Concernant le citron, une approche par fractionnement temporel a permis de récolter successivement **3.83%** (C1, 30 min), **1.11%** (C2, 60 min) et **1.09%** (C3, 90 min), aboutissant à un rendement total de **6.03%**.

Cette différence notable entre les deux espèces peut être expliquée par plusieurs facteurs :

IV211. Composition anatomique et densité des glandes à essence :

Selon Fisher & Phillips (2008), la densité et la taille des glandes sécrétrices d'huile essentielle dans l'écorce varient considérablement entre les agrumes. Le citron présente une concentration plus élevée de glandes superficielles riches en monoterpènes (principalement limonène et β -pinène), ce qui facilite l'extraction rapide et efficace, surtout durant les premières phases de distillation.

IV212. Effet du temps de distillation sur le rendement :

Des travaux similaires rapportés par Díaz-Maroto et al. (2007) ont montré que la majorité de l'huile essentielle est extraite durant la première heure de distillation. Cela corrobore nos observations, où 33,5 % (C1 + C2) du rendement total a été obtenu durant les 60 premières minutes. Toutefois, la poursuite de la distillation jusqu'à 90 minutes a permis d'extraire une fraction résiduelle (C3), confirmant que l'extension du temps peut améliorer le rendement global.

IV213. Influence de l'espèce et des facteurs variétaux :

D'après Burt (2004), l'espèce botanique et les caractéristiques variétales, notamment la génétique, la maturité et la localisation géographique, influencent significativement la teneur en huile essentielle. Nos résultats concordent avec cette affirmation, puisque le citron a montré une richesse beaucoup plus importante par rapport à l'orange, en raison de ses spécificités physiologiques.

IV214. Comparaison avec la littérature :

Le rendement total obtenu pour le citron (6,03 %) est nettement supérieur à celui

rapporté par Atti-Santos et al. (2005) pour la lime (5,5 %). Pour l'orange, nos valeurs (2,17–2,83 %) diminuent celles de Houmy et al. (2020) qui ont trouvé un rendement de (5,63 %).

Ces écarts peuvent être attribués aux différences de variété, à la fraîcheur des écorces, au protocole d'extraction et à l'équipement utilisé.

Ainsi, nos résultats confirment que la nature de l'espèce, la composition de l'écorce et la stratégie d'extraction appliquée (fractionnement temporel) sont des déterminants majeurs du rendement en huile essentielle, comme suggéré par Vekiari et al. (2002) dans leur étude comparative sur les huiles essentielles d'agrumes.

IV.2.2-Discussion de l'activité antibactérienne des huiles essentielles :

Les essais antibactériens réalisés sur *Escherichia coli* (Gram -) et *Staphylococcus aureus* (Gram +) ont révélé une activité variable selon l'espèce bactérienne, le type d'huile essentielle et le volume testé. De manière générale, les huiles essentielles de citron (C) ont démontré une activité inhibitrice supérieure par rapport à celles d'orange (O1 et O2), en cohérence avec leur rendement plus élevé et leur composition en composés bioactifs.

IV221. Sensibilité des bactéries Gram + vs Gram - :

Il a été observé que *Staphylococcus aureus* (Gram +) est plus sensible que *Escherichia coli* (Gram -). Cette tendance est largement décrite dans la littérature. Selon Burt (2004), la paroi cellulaire des bactéries Gram -, composée d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides, agit comme une barrière limitant la pénétration des composés hydrophobes, ce qui explique la moindre sensibilité d'*E. coli*.

IV222. Influence du type d'huile essentielle :

L'huile essentielle d'orange (O2) a généré les diamètres d'inhibition les élevés (jusqu'à 13 mm contre *S. aureus* à 50 µL). Ceci s'explique par sa richesse en limonène, β -pinène et autres monoterpènes connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. D'après Fisher & Phillips (2008), les monoterpènes altèrent la perméabilité membranaire bactérienne et perturbent les fonctions enzymatiques, entraînant une inhibition de croissance.

IV223. Effet de la concentration :

L'augmentation du volume de 25 µL à 50 µL a entraîné une augmentation des diamètres d'inhibition pour toutes les huiles et les deux souches bactériennes. Cela est conforme aux observations de Vekiari et al. (2002) qui ont démontré une relation dose- réponse pour l'effet

IV224 Comparaison avec la littérature :

Les diamètres d'inhibition obtenus (jusqu'à 13mm pour *S. aureus* et 12mm pour *E. coli*) Moins que ce qu'il a mentionné Hellal, Z. (2011). Avec des diamètres d' inhibition de (38 mm et 24 mm) contre des bactéries similaires. Ces résultats confirment le potentiel antibactérien des huiles essentielles d'agrumes contre des pathogènes alimentaires.

Ainsi, l'efficacité antibactérienne observée dans notre étude est influencée par la nature de la bactérie cible, la composition chimique de l'huile essentielle et la concentration appliquée, corroborant les conclusions de Lagha-Benamrouche et al. (2018).

IV225 Résultats finaux de l'activité antibactérienne :

- L'huile essentielle de citron à 50 μ L a montré faible inhibition (12mm contre *S. aureus* et 8 cm contre *E. coli*).
- Les huiles essentielles d'orange (O1 et O2) ont eu plus fortes une activité (13mm contre *S. aureus*).
- *Staphylococcus aureus* est plus sensible que *Escherichia coli*.
- L'augmentation de la concentration améliore l'activité antibactérienne.

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail a été mené dans le but d'évaluer le rendement ainsi que l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation des écorces d'orange et de citron. L'activité biologique de ces extraits a été testée sur deux souches bactériennes de référence : une souche à Gram négatif (*Escherichia coli*) et une souche à Gram positif (*Staphylococcus aureus*).

Les résultats obtenus ont mis en évidence une activité inhibitrice notable des huiles essentielles, notamment contre *S. aureus*, avec des diamètres de zones d'inhibition variant de 8 mm à 13 mm selon les concentrations et les échantillons testés. En revanche, l'effet sur *E. coli* s'est révélé plus limité, voire absent dans certains cas.

Concernant le rendement, l'huile essentielle de citron a présenté un rendement global de 6,03 %, avec un pic d'extraction (3,83 %) observé au cours des 30 premières minutes, soulignant ainsi l'importance de la durée de distillation. Pour l'orange, le rendement le plus élevé (2,86 %) a été obtenu à partir du flavedo seul, contre 2,17 % pour l'écorce entière, ce qui confirme l'influence de la nature de la matière première sur l'efficacité de l'extraction.

En somme, les huiles essentielles d'agrumes étudiées présentent un potentiel antibactérien prometteur, en particulier contre les bactéries à Gram positif. Elles pourraient ainsi constituer une alternative naturelle intéressante aux antibiotiques conventionnels. L'optimisation des conditions d'extraction, telles que la partie de l'écorce utilisée et la durée de distillation, s'avère essentielle pour améliorer à la fois le rendement et l'efficacité biologique de ces huiles.

Cette étude s'inscrit dans une démarche scientifique relevant de la génétique moléculaire et de l'amélioration des plantes, visant à valoriser les ressources végétales locales. Elle met en lumière le potentiel des huiles essentielles en tant que composés bioactifs naturels, pouvant être exploités dans divers domaines tels que la santé, la cosmétique ou encore l'agroalimentaire. Enfin, ces résultats offrent des perspectives intéressantes pour l'orientation

de programmes de sélection variétale, en accord avec les principes du développement durable et les besoins de la recherche appliquée.

Références Bibliographiques :

A

Agusti M., Mesejo C., Reig C. et Martinez-Fuentes A., 2014. Citrus production. In Horticulture: Plants for People and Places, Volume 1 (pp. 159-195). Springer Netherlands.(DOI :10.1007/978-94-017-8578-5_6.

Albagnac, G., Varoquaux, P., Montigaud, J.C., 2002. Technologie de transformation des fruits. Lavoisier, Paris, pp. 302–304.

Aliouane Fatiha. Étude de l'extraction du limonène à partir des écorces d'orange, Chimie Pharmaceutique. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 2015, p16-26.

Alioune F., 2015. Étude de l'extraction du limonène à partir des écorces d'orange, univ, Tizi Ouezou, P45

Alioune, F. (2015). Etude de l'extraction du limonène à partir des écorces d'orange, Univ, Tizi ouezou. P17-18-19.

Angane, M., Swift, S., Huang, K., Butts, C. A., & Quek, S. Y. (2022). Essential oils and their major components: An updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. Foods, 11(3), 464.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy.N°46,1914-1920.

Anton J.C., Weniger B., Anton R.2006 : Huiles essentielles p 189-229 in Actifs et additifs en cosmétologie 3ème édition, Lavoisier Tec et Doc, Paris.

Anton R., Lobstein A, 2005 : Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Pari.

Atti-Santos, A. C., et al. (2005). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Citrus aurantifolia*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(4), 657-664.

Bardeau, F. et Fesneau, M. (1976). *La médecine par les fleurs*. R. Laffon.

Baser, K.H.C. et Buchbauer, G. (2009). *Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications*. CRC Press, 1^{re} éd., 991 p.

Balach.CH,Achir.S,Bari.K,2024,contribution à l'étude du rendement en huile essentielle et d'activité antibactérienne d'*Artemisia herba alba* Asso,memoire de master,université ibn khaldon ,tiaret.

Bassereau, 2007. Marqueurs génétiques moléculaires. In : Tagu D., Moussard C. (éds.), *Principes des techniques de biologie moléculaire*, 2^e édition, INRA Éditions, Paris, France, pp. 143-146.

Bekhechi C., Abdelouahid D. (2010). *Les huiles essentielles*. Office des publications universitaires. P 14, 31 et 32.

Belaïche P. (1979). *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Ed. Maloine SA., tome1. 9-128.

Belletti N., Nidagijimana, M., Sisto C., Guerzoni, M.E., Lanciotti, R. & Gardini F. (2004). Evaluation of the antimicrobial activity of Citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 52 (23), 6932-6938.

Benkeblia, N., Tabet, A., & Mouhouche, F. (2018). Influence of distillation time on essential oil composition of *Thymus citriodorus*. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29394873/>

Bernadet M ;1983. *Phyto-aromathérapie pratique, usage thérapeutique des plantes médicinales et huiles essentielles*, Eds .Dangles ,France .384 p.

Boudries h., loupasaki s., ladjal ethoumi y., souagui s., bachi bey, m., nabet n., chikhounne a., madani k et chibane m. (2017). International Food Research Journal, 24, 1782-1792

Bouras, M. (2018). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie.

Bousbia N., 2011. Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & École Nationale Supérieure Agronomique, Alger, pp. 5–9.

Boutamani, M. (2013). Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisée. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Alger.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales.

Bruneton, J. (1999). Huiles essentielles. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Éditions Tec & Doc, 3e édition, Lavoisier, Paris, France. Legrand, G. (1978). Manuel préparatoire en pharmacie. 8^{ème} éd. Masson.

Bursal, E., & Gülçin, İ. (2011). Polyphenol contents and in vitro antioxidant activities of lyophilised aqueous extract of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). Food research international, 44(5), 1482-1489.

Boyle W (1955). Spices and essential oils as preservatives. Am. Perfurmer Essent. Oil Rev. 66:2528.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food microbiology, 94(3), 223-253.

C

Carson, C.F., MEE, B.J. and RILEY, T.V. 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy.

Castle, W. S. (2010). "A career perspective on citrus rootstocks, their development, and commercialization." *HortScience*, 45(1), P 11-15.

Chavanne, P. (2011). 200 remèdes au citron. Editions first – grund, paris, 255p.

Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2013). Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(7), 8615–8627. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23535305/>

Chenni, M. (2016). Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "*Ocimum basilicum* L." extraite par hydro-distillation et par micro-ondes (thèse de doctorat). Université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella, Oran, Algérie. P.08-3

D

Dabire C, et al. Effect of drying plant material on essential oil chemical composition and antioxidant activity of extracts of *Ocimum basilicum* L. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2011 ;5(3).

Davies, F. S., & Albrigo, L. G. (1994). *Citrus*. CAB International.

Del Rio J.A., Fuster, M. D., Gomez, P., Porras, I., Garcia-Lidon, A., & Ortuno, A., 2004: Citrus limon a source of flavonoid of pharmaceutical interest. *Food chem.* P 84-457-461.

Deschepper, « Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie ». Thèse de doctorat, Université d'Aix-Marseille, 2017.) octorat, Université d'Antananarivo, 200X)

Díaz-Maroto, M. C., et al. (2007). Influence of distillation time on the yield and composition of the essential oil of rosemary. *Food Chemistry*, 102(3), 1100-1107.

Djerrad, Z., Rezzoug, M., & Boutekedjiret, C. (2015). Comparative study on the effect of distillation time on *Myrtus communis* essential oil quality. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(6), 1429. Drouet E. Le monde microbien : partie1 : Microbes et microbiologie [cour], consulté le 12/07/2020. Disponible sur www.medatice-grenoble.fr.

Dugo P., Mondello L., Lamonica G., Dugo G., 1997. Characterization of cold-pressed key and Persian lime oils by gas chromatography, gas chromatography/mass spectroscopy, high-36. Performance liquid chromatography, and physicochemical indices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, pp. 3608–3616.

E

Edition Technique et documentation, 3ème Edition Lavoisier, Paris. P 488.

Edris, A. E., Shalaby, A. S., Fadel, H. M., & Abdel-Wahab, M. A. (2003). Evaluation of a chemotype of spearmint (*Mentha spicata* L.) grown in Siwa Oasis, Egypt. *European Food Research and Technology*, 218, 74-78.

F

Fadil, M., Farah, A., Ihssan, B., Talouni, T., Rachiq, S. (2015). Optimisation des

Ferhat M.A., Meklati B.Y. et Chemat F., 2010 – Citrus d’Algerie : les huiles essentielles et leurs procédés d’extraction. ED. OPU, n°5130. Alger. 157 p.

Fisher, K., & Phillips, C. A. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends in Food Science & Technology*, 19(3), 156-164.

Fisher, K., & Phillips, C. A. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends in Food Science & Technology*, 19(3), 156-164.

Fontanay, S., Mougenot, M.-E., & Duval, R. E. (2008). Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. *Phytothérapie*, 6(2), 109-118. <https://doi.org/> [DOI si disponible]

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2023). Citrus: World Markets and Trade. <https://www.fao.org/markets-and-trade/commodities-overview/food-and-agriculture-market-analysis-%28FAMA%29/citrus/en>.

G

Ghalehnoee, M., Shafiee, M., & Ranjbar, M. 2024. Innovations and modifications of current extraction methods and techniques of citrus essential oils: A review. Discover Applied Sciences, 4, 83.

González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D.A. et García-Viguera, C. (2010). Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. J. Pharm. Biomed. Anal., 51: 327–34.

Gmitter F, Hu X (1990) The possible role of Yunnan, China, in the origin of contemporary Citrus species (Rutaceae). Economic Botany 44:267-277.

Grysole J. (2005). La commercialisation des huiles essentielles in Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique : Chapitre 07. Corporation

Guignard J. L., (2000). « Biochimie végétale », Masson, Paris, 166.

H

Hamadou ToukI, 2017. Caractérisation des huiles essentielles des épices : Girofle, Poivre noir. Université Kasdi Merbah, Génie des Procédés.

Hamdani S.,2018-Etude chimique et activité antioxydante des huiles essentielles des agrumes cultivés dans la région de Tlemcen.Mém de Master. Département de Chimie, Faculté des sciences, UniversitéAbou -BekrBelkaid –Tlemcen,42p.

Hamidi F et Liamam F.,2018 Edudepétrochimique et pouvoir antioxydant l'écorce d'orange et citron.Mém de master . Département des sciences alimentaires, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, p5.

Hart, K.J., Yanez-Ruiz, D.R., Duval, S.M., McEwan, N.R., Newbold, C.J. (2008) Plant extracts to manipulate rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology., 147 ,8-35.

Hay R.J., (2006). Fungal infections. Clinics in Dermatology 24, 201–212.

Hellal Z. (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites de Citrus. Application sur la sardine (*Sardinapilchardus*). Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou.

Hellal, Z. (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Houmy, N., Brahmi, F., Hasnaoui, I., Asehraou, A., Rokni, Y., Esegir, L., ... & Mokhtari, O. (2020). Etude comparative des huiles essentielles de six variétés des nouvelles obtentions d'agrumes cultivées au Maroc. *African and Mediterranean Agricultural Journal-Al Awamia*, (129), 226-239.

Huet, R., 1991. Les huiles essentielles d'agrumes. *Fruits*, 46(4), pp. 551–576.

I

I. H. N. Bassolé et H. R. Juliani, « Essential oils in combination and their antimicrobial properties », *Mol. Basel Switz.*, vol. 17, no4, p. 3989-4006, avr. 2012, doi: 10.3390/molecules17043989.

I.T.A.F, 2002 Relevés climatologiques. Manuscrit I.T.A.F., Boufarik, p18.

Institut Klorane, Fondation d'Entreprise pour la Protection et la Bonne Utilisation du Patrimoine Végétal, 01/2008, p20.

J

Jalgaonkar, K., Radhakrishna, K., Bhosale, R., & Eipeson, W. E. (2013). Effect of species and particle size on essential oil yield of citrus peel (*Citrus spp.*). *Industrial Crops and Products*, 41, 103–107. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.04.042

K

Kamiri M., (2011, Février 22). Biologie de la reproduction des hybrides somatiques tétraploïdes d'agrumes ; implication sur la structure génétique des populations d'hybrides générées dans les croisements diploïdes x tétraploïdes. UNIVERSITE DE CORSE-PASCAL PAOL.

L

Lagha-Benamrouche, S., & Madani, K. (2018). Composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles des écorces d'orange douce. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 9, 1–7.

Lagha-Benamrouche, S., Addar, L., Boudherhem, H., Tani, S., & Madani, K. (2018). Caractérisation chimiques des écorces d'oranges. identification par GC-MS et évaluation du pouvoir antioxydant de leurs huiles essentielles, *Nature & Technology*, (18), P.01-08.

LASEVE (laboratoire d'analyse. et de séparation. des essences. végétales), Québec, pp.139-162.

Lawless, J. *The Encyclopedia of Essential Oils: The Complete Guide to the Use of Aromatic Oils in Aromatherapy, Herbalism, Health, and Well Being*. Conari Press, 2013.

Lucchesi M.E. (2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, discipline : Chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies.

Loussert R., 1987. Les agrumes ,l'arboriculture. Ed. Lavoisier, Vol. 1, paris, P 80.

Loussert R. (1989). Les agrumes-2-Productions. Lavoisier, 1er Ed., Paris

M

M'hiri, N. (2015). Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange « Maltaise demi-sanguine » et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone (Thèse de doctorat, Université de Lorraine, France).

Maccelli, A., Cecchini, C., Petrelli, R., & Lupidi, G. (2024). Time-dependent extraction of *Citrus bergamia* essential oil: Influence on yield and composition.

Madr. (2021). Statistiques agricoles : Surfaces et productions—Série B.

Marouf, A. (2007). La botanique de A à Z. Éditions Berti.

O

Ouis N. étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil, chimie, université ahmed ben bella d'Oran, 2015, p 07-18-

P

Pallerin, P. *Parfume, Flavor* 1991, 16(07-08), 37.b) Richard, « La fabrication des extraits : extraction par dioxyde de carbone », in *Épices et Aromates*.

Paramètres influençant l'hydrodistillation de *rosmarinus officinalis* l. Par la méthodologie de surface de réponse. *J. mater. Environ*

Pelerin P. 1991. Supercritical fluid extraction of natural saw materials for the Flavor and perfume industry. *Perfum. Flavor* 16(4) : 37-39.

Praloran J.C ., 1971 : Les agrumes, techniques agricoles et productions tropicales. Ed. Maisonneuve et Larose, Paris., n° 5, p. 25 .

R

Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., Aruoma, O.I., 2010. Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278(1), pp. 75–87.

Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., Aruoma, O.I., 2010. Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278, pp. 75-87.

Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O., Bourdon, E., & Bahorun, T., 2011: Polyphénol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of mauritian citrus fruit pulp. Food Research International, Vol(44).P: 2088-2099

Rasoanaivo, P. P. (2004). étude des huiles essentielles de *Cedrelopsis grevei* caractérisation–identification des constituants activités biologiques (doctoral dissertation, université de la réunion).

Raul L. H. O. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » D'origine végétale. Toulouse, Sciences des Agroressources, L'institut National Polytechnique De Toulouse ,2005.

S

Saadoune Z et Meguenni F en 2016, impact de la composition des huiles essentielles de *Citrus sinensis*(Orange) et *Citrus limonum* (Citron) sur l'activité microbiologique,mémoire de master,Blida1.

Simovic, M. (2023). Citrus: A Saint in Distilling and Bartending. Libaspirits.

Spiegel-Roy, P., & Goldschmidt,E. (1996). Biology of Citrus. Cambridge University Press.

Suri, S., Singh, A., Nema, P. K., Malakar, S., & Arora, V. K. (2022). Sweet lime (*Citrus limetta*) peel waste drying approaches and effect on quality attributes, phytochemical and functional properties. Food Bioscience, 48, 101789.

V

Valnet J., 2001 : La santé par les fruits, légumes et les céréales. Ed Vigot.P: 207-281.

Valnet, J. « Aromathérapie : traitement des maladies par les essences plantes », Ed. Maloine. S.A , n°10, 1984.

Vekiari, S. A., et al. (2002). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from citrus peel obtained by steam distillation. Molecules, 7(8), 774-781

Y

Ying Li, Anne Sylvie Fabiano-Tixier, Maryline Abert Vian, Farid Chemat. (2013). Solvent-free microwave extraction of bioactive compounds provides a tool for green analytical chemistry. Trends in analytical chemistry, 47, 1-11. DOI : 10.1016/j.trac.2013.02.007

Healthline. Healthline: Medical information and health advice you can trust. [En ligne]. Disponible sur : www.healthline.com/ (consulté le 14 juin 2025).

- <https://www.fao.org>.

-<https://thelemonage.com/choisissez-vos-citrons/entrons-dans-le-detail/?lang=fr>.

-<http://fr.labo-hevea.com>.