

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

**Université Blida 1**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département :**biologie des populations et organismes

Laboratoire de recherche biotechnologies, environnement et santé

**Filière :**sciences biologique

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master en :

**Spécialité :**Biodiversité et physiologie végétale

**Thème :**

Etude Biochimique de deux variétés d'oranges cultivées *citrus sensis* (Thomson et la sanguine) dans la région de Boufarik

**Présenté par :**

**Melle.SAID Asmàa&Melle.CHERIFI Hayet**

**Devant le jury :**

Mme.BANASSEL NMAA USDB1 Présidente

Mme. ZARKAOUI AMAAUSDB1 Examinatrice

Mme. CHERIF H.SMCA USDB1 Promotrice

Mme. GHANAI R MAA USDB1 Co- Promotrice

**Année Universitaire : 2017 - 2018**

## **Remerciements**

*Avant tout nous remercions Dieu « ALLAH » le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.*

*Nous remercions notre encadreur "**Cherif.H.S**". Maître de conférence A qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance tant pour nous avoir accordés sa confiance que pour nous avoir guidés dans notre travail.*

*Nous exprimons nos remerciements et nos sincères gratitude au Mm Ghanai et Mm Zarkaoui maitre Assistante A et Mm Benassel maitre assistante A de nous avoire fait l'honneur de preside ce jury.*

*Nous remercions le responsable de département madame Taile et tous les membres de l'équipe d'administration pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leurs idées constructives.*

*Le Professeur GUERMOUCHE le responsable de laboratoire Chromatographie USTHB et MESKINE SARAH Responsable des affaires réglementaires Laboratoire PHARMAGHREB group.*

*Enfin nous voulons dire merci à tous les enseignants du département de biologie des populations et organismes de l'université de Blida 1 pour l'aide pendant notre formation d'étude.*

# Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à :*

*A mes parents :*

*Ma mère, Tes prières et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.*

*Mon père, Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*A la mémoire de mon frère TAREK, qui est toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite, que dieu, la miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.*

*A mes sœurs Maroua et Meriem, En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleurs et les plus agréables moments, Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, Ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour.*

*A mon très cher fiancé, CHOUIDER Mohamed, Tes sacrifices, tes conseils, tes encouragements et ton soutien moral et matériel m'ont permis de réussir mes études.*

*A mes grands-parents maternelset A mes beaux-parents  
A mes oncles et tantes, vous avez toujours été présents pour les bons conseils.*

*A tous les membres de ma famille, petits et grands, veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.*

*Ma binôme CHERIFI Hayet, pour son aide très précieuse dans la rédaction de ce travail, et toute sa famille*

*A mes précieuses amies Amina HACHEMAN, Yasmine ABDOUCHE, Zahia FATEHI  
A mes chères cousines, SARA, AMINA, KHADIJA, HADJER, BOUCHRA, HAYET,  
IMEN.*

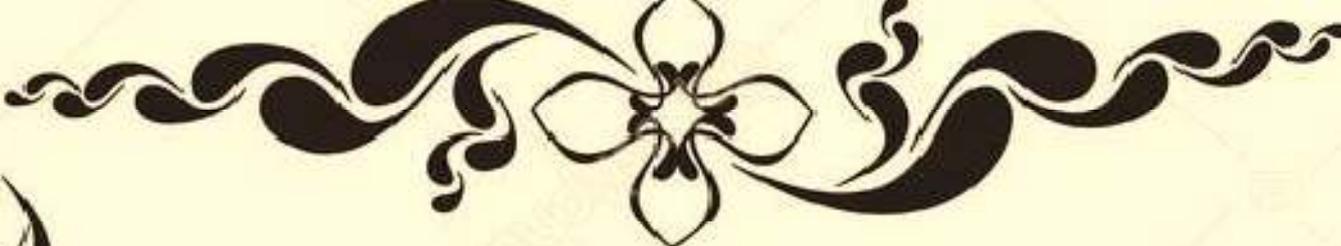
*A tous mes camarades de la première promotion du master de biodiversité et physiologie végétale 2017-2018*

*Et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin et que je n'ai pas pu citer.*

Asmàa



*Asmaa*



# Dédicace

*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents la lumière de ma vie, pour leur tendresse, leurs encouragements et leurs sacrifices, pour l'espoir qu'ils ont semé en moi, qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.*

*A mes toutes les personnes qui comptent dans ma vie.*

*A mes chères sœurs (Amel et Khaoula et Anissa)*

*A mes frères (Mohamed, Ibrahim, Youcef)*

*A toute ma famille (mes oncles et tantes)*

*Aux personnes que j'aime et qui m'aiment*

*A mes chères amis et sœurs Houda et Chaima et Bouchra*

*A mes amies (Zahia, Hayat, Asma, Asma, Hassiba,.....)*

*A tous mes camarades et amis de l'université*

*Ma binôme SAID ASMAA, pour son aide très précieuse dans la rédaction de ce travail, et toute sa famille*

*A ma promo de spécialité Biodiversité et physiologie végétale*

**HAYET**



## Liste des tableaux

<b>Tab1</b> : Classification botanique des oranges.....	6
<b>Tab</b> : Description botanique des oranges.....	7
<b>Tab3</b> : Composition de quelques fruits d'agrumes.....	7
<b>Tab4</b> : Précipitations mensuelles et leurs moyennes durant l'année en cours.....	14
<b>Tab5</b> : Températures moyennes maximales , minimale mensuelle et leurs moyennes durant l'année d'étude .....	15
<b>Tab6</b> : Teneur en eau de l'écorce du fruit de la Thomson et la Sanguine.....	26
<b>Tab7</b> : Rendement moyen de l'écorce de l'orange la Thomson et la Sanguine .....	26
<b>Tab8</b> : Caractéristiques organoleptiques d'HE de la Thomson et la Sanguine .....	27
<b>Tab9</b> : Grandeurs physiques des huiles essentielles de <i>citrus sinensis</i> .....	28
<b>Tab10</b> : Propriétés chimiques des huiles essentielles .....	29
<b>Tab11</b> : Les composés chimiques des huiles essentielles de la Thomson et la Sanguine, identifiés par CPG .....	30
<b>Tab12</b> : Résultats de l'identification de quelques métabolismes secondaires.....	31

## Liste des abréviations

**TH** : Taux d'humidité

**TMS** : Taux de matière sèche

**HE** : Huile essentielle

**D**: Densité

**IR**: Indice de réfraction

**Ia** : Indice d'acide

**IS** :Indice de saponification

**IE** :indice d'ester

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**Tr** : Temps de rétention

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Les agrumes représentent une grande diversité.....	3
<b>Figure 2</b> : Feuilles des agrumes.....	3
<b>Figure 3</b> : Fleurs des agrumes.....	4
<b>Figure 4</b> : Fruits des agrumes.....	4
<b>Figure 5</b> : Ecorces des agrumes.....	5
<b>Figure 6</b> : Coupe transversale d'une orange.....	8
<b>Figure 7</b> : Variété Sanguine .....	9
<b>Figure 8</b> : Variété Thomson .....	10
<b>Figure 9</b> : Schéma du procédé d'entraînement à la vapeur d'eau.....	13
<b>Figure 10</b> : Montage d'hydro-distillation.....	14
<b>Figure 11</b> : expression a frios des agrumes .....	14
<b>Figure 12</b> : Montage d'une distillation assisté par micro-ondes.....	15
<b>Figure 13</b> : schéma de principe d'extraction au CO2 supercritique.....	16
<b>Figure 14</b> : Localisation géographique de la région d'étude.....	17
<b>Figure 15</b> : Précipitations mensuelles durant l'année d'étude.....	18
<b>Figure 16</b> : Variation mensuelles des températures durant l'année d'étude.....	19
<b>Figure 17</b> : Schéma générale de la procédure expérimentale.....	19
<b>Figure 18</b> : Montage de l'hydro-distillation.....	20
<b>Figure 19</b> : Ecorces d'oranges avant et après le séchage.....	21

<b>Figure 20</b> : Réfractomètre.....	23
<b>Figure 21</b> : Protocole de préparation d'infusé.....	26

## Sommaire

Introduction.....	1
Première partie : synthèse bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur les agrumes	
I.1. Données générales sur les agrumes.....	3
I.2. Description des agrumes.....	3
I.3. Exigences pédo-climatiques des agrumes.....	6
I.3.1.Les exigences climatiques.....	6
I.3.2.Exigences édaphiques.....	6
I.3.3. Valeur nutritionnelle des agrumes.....	7
I.4.Les Oranges.....	7
I.4.1 .Historique.....	7
I.4.2.Systématique et description botanique.....	8
I.4.2.1 Systématique .....	8
I.4.2.2.Description botanique .....	8
I.4.3. Les variétés étudiées .....	9
I.4.3.1. Variété « Sanguine » .....	9
I.4.3.2. Variété « Thomson » .....	10
Chapitre II : Huiles essentielles	
II.1. Définition d'une H.E.....	11
II.2. Composition chimique.....	11
II.3. Propriétés physiques.....	11
II.4. Le rôle physiologique des huiles essentielles.....	11
II.5.Localisation des huiles essentielles.....	12
II.6. Procédés d'extraction.....	13
II.6.1. Hydrodiffusion .....	13

II.6.2. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau.....	13
II.6.3. Hydrodistillation.....	13
II.6.4. Expression à froid.....	14
II.6.5. Extraction par solvant.....	15
II.6.7. Extraction par du CO <sub>2</sub> supercritique.....	15

## Deuxième partie : Partie expérimentale

### II. Matériels et méthodes

II. Objectif de l'essai.....	17
II.1. Matériel végétal.....	17
II.2.présentation de la zone d'étude .....	17
II.3.Les facteurs influençant les variétés étudiées.....	17
II.4.Méthodes .....	19
II.4.1. Extraction des huiles essentielles.....	20
II.4.2.1. Les paramètres étudiés.....	20
II.4.2.2. La teneur en eau.....	21
II.4.2.3. Rendement en huile essentielle.....	21
II.4.2.4. Caractéristiques organoleptiques.....	21
II.5. Grandeurs physico-chimiques.....	22
II.5.1. Les grandeurs physiques.....	22
II.5.1.1. Densité.....	22
II.5.1.2. L'indice de réfraction.....	22
II.5.2 Les grandeurs chimiques.....	23
II.5.2.1. L'indice d'acide.....	24
II.5.2.2.L'indice de saponification.....	24
II.5.2.3.L'indice d'ester.....	25
II.6 .Détermination de la composition chimique.....	25
II.6.1. Par chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	26
II.6.2.Teste de screening phytochimique.....	26
III. Résultats et discussions.....	29
III.1. Détermination du taux d'humidité.....	29

III.2. Le rendement en huile essentielle.....	29
III.3. Caractéristiques organoleptiques.....	30
III.4. Grandeurs physico-chimiques.....	30
III.4.1. Les grandeurs physiques.....	30
III.4.2. Les grandeurs chimiques.....	31
III.5. Détermination de la composition chimique.....	32
III.5.1. Par la chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	32
III.6. Test du screening phytochimique chimique.....	33
Conclusion générale.....	34
Références bibliographiques	
Annexe	

## Summery :

The purpose of this study is to highlight the existence of a diversity in the chemical composition of essential oils according to the varieties and the bioclimatic stages.

For this, we proceeded to an extraction of the essential oils of the varieties, the Thomson orange and the blood orange, by hydro-distillation and the identification by gas phase chromatography (GPC) of their various compounds

A chemical screening was carried out in order to reveal the secondary metabolites present in the orange's peels.

The yield of essential oil was 1.33 for the Thomson and 0.9 in case of the blood orange, the chemical screening revealed the existence of catechin tannins and mucilage for both varieties and the presence of anthocyanins only in the Blood Orange

The CPG has shown that limonene is the major compound with percentages of the order of 93,176 for the Thomson and 90,398 for the Blood Orange.

Chromatographic analysis, as well as phytochemical screening did not reveal any significant difference between the two varieties studied in terms of chemical composition of essential oils.

The results of this study lead us to say that there is probabaly an intervariatat difference

**KEYWORDS:** Diversity, Chemical Composition, Essential Oil, Orange Varieties

الغرض من هذه الدراسة تسليط الضوء على وجود تنوع في التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية اعتمادا على مجموعة متنوعة وفقا لهذا لدينا عمليات لإستخراج الزيوت الأساسية للصنفين طومسون و سونقن عن طريق التقطير المائي و التي تم . للمناخية البيولوجية تم إجراء فحص كيميائي من أجل المستقلبات الثانوية الموجودة في قشور . تحديدها من قبل كروماتوغرافيا الغاز لمكوناتها المختلفة tanins محصول الزيوت الثانوية اظهر ان طومسون بنسبة 1.33% و سونقن بنسبة 9.0%، و أظهر وجود . البرتقال كروماتوغرافيا الغازي اظهر أن . عند السونقن فقط les anthocyanes في كلا الصنفين و وجود catechique et mucilages التحليل الكروماتوغرافي و كذلك الفحص . هو العنصر الغالب مع نسبة تقدر ب 176.93%(طومسون) و 90، limonène تقودنا نتائج هذه الدراسة إلى القول . الكيميائي لم تكشف عن اي فرق عن نوعين المدروسين على التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية بأنه من المحتمل أن يكون هناك إختلاف بين الأنواع

التنوع ، التركيب الكيميائي، الزيوت الأساسية ، اصناف البرتقال :الكلمات المفتاحية

## Introduction

---

Les agrumes représentent l'une des récoltes de fruits les plus importantes dans le monde . Leur production mondiale est estimée à plus de 115 millions de tonnes par an dont 517 milles tonnes ont été produits en Algérie . Cette dernière occupe la 19eme place mondiale et la 2eme dans l'Union Maghreb Arabe . Les agrumes incluent les citrons , les mandarines , les pomelos , les cédrats , les oranges , les pamplemousses et les limes...etc(FAO,2012). Les oranges sont les plus consommées en raison de leur bonne saveur, leur valeur nutritive élevée et leur composition riche en molécules bioactives (plus de 170 composés phytochimiques sont décrits) .Elles sont consommées comme dessert (fruit frais), confiture ou jus (Carmona,et al.,2012).

La plupart de ces fruits , citron , orange , pomelo , pamplemousse , clémentine , mandarine , tangerine , cumbaya , kumquat...appartiennent à la famille des Rutacées , famille comprenant de nombreuses espèces réparties en 150 genres .les agrumes se répartissent essentiellement en 3 genre :

- Le genre *poncirus* concerne les agrumes comme l'orange trifolié (*poncirus trifoliata* (L.) raf.)
- Le genre *fortunella* regroupe des fruits comme le kumquat .
- Le genre *citrus* ( le plus connus ) englobe la majorité des agrumes ( citron , orange , pomelo , clementine ...) que nous consomons régulièrement ou utilisons dans différents préparation culinaires , cosmétique , en phytothérapie ou en aromathérapie .(Rachel,2015)

Les huiles essentielles de la famille des rutacées, notamment les huiles d'agrumes sont largement utilisées comme arômes et parfums en fonction de la partie de la plante soumise à l'extraction et des espèces ainsi que, de la méthode employée pour leur extraction. Ces huiles ont fait l'objet de plusieurs essais pour tester leur efficacité comme agent antimicrobien, bio-pesticide (JAZET-DONGMO, 2002).

L'utilisation des huiles essentielles dans les domaines citées auparavant nécessite des études préalables sur ces caractéristiques physico-chimiques et sa composition chimique. Dans cette optique et suite aux travaux intérieurs sur l'étude des huiles essentielles des agrumes à l'échelle mondiale, nous nous somme proposé l'extraction des huiles essentielles, à partir des fruits d'orange de deux variétés utilisés .

# Introduction

---

L'objectif de notre travail s'inscrit dans :

- La valorisation des fruits d'agrumes par l'extraction des huiles essentielles à partir des fruits d'orange de deux variétés: La Thomson et La Sanguine .
- La caractérisation physico-chimique des huiles essentielles extraites .
- La caractérisation quantitative et qualitative des composants chimiques.

### I.1. Données générales sur les agrumes

Le mot " agrume " est un nom collectif désignant les seules espèces utilitaires du genre *Citrus* et de deux genres voisins (*Fortunella swing* et *Poncirus raf*) appartenant à la sous-tribu des *Citrinae* à la tribu des *Citreae*, à la sous-famille des *Aurantioideae* et à la famille des *Rutaceae*. (Parfonry, 2001).

En zone tropicale, on observe deux périodes de floraison principales ; la première se situe après la période fraîche qui est donc une floraison naturelle. La seconde et la plus importante s'observe peu après la reprise de la saison de pluie (Parfonry, 2001).



**Figure 01 : Les agrumes représentent une grande diversité(Luro et al.,2013).**

### I.2. Description des agrumes

Les agrumes sont des Arbres ou arbustes pouvant atteindre 15m de haut, mais qui sont la plupart du temps taillés pour faciliter la récolte de leurs fruits.

**Les feuilles(fig.2)** sont cireuses et coriaces et possèdent souvent un pétiole marginé ou pétiolé ; elles sont simples découpées en 3 folioles mais fréquemment réduites à la foliole terminale ; de forme ovale-lancéolée à allongée, leur limbe est entier ou irrégulièrement denté ; les feuilles sont persistantes et présentent souvent une pousse axillaire en forme d'aiguillon plus ou moins développé, comme dans le cas des orangers, des bergamotiers ou des limettiers (Karlberg, et al ., 1997)



**Figure.02 : Feuilles des agrumes (Ellen levy,2004)**

**Les fleurs (fig.03)** sont soit solitaires, soit regroupées par 2 ou 3, fixées à l'aisselle des feuilles, mais le plus souvent regroupées en corymbe axillaire terminal ; elles sont bisexuées ou de sexe mâle après avortement et très odorantes ; leur calice persistant comprend 3 à 5 sépales soudés, parfois regroupées en une sorte de coupe de 3 à 5 dents ; la corolle est formée de 4 ou 8 pétales libres, linéaires à allongées, blanc à rosé ; ou glanduleux ; les étamines sont presque toujours regroupées par 20 (plus rarement limitées à 5) et ont à leur base un disque nectarifère renflé en forme d'anneau ; l'ovaire est supérieur et pluriloculaire (Karlberg, *et al.*, 1997)



**Figure03: Fleurs des agrumes (Ellen levy,2004)**

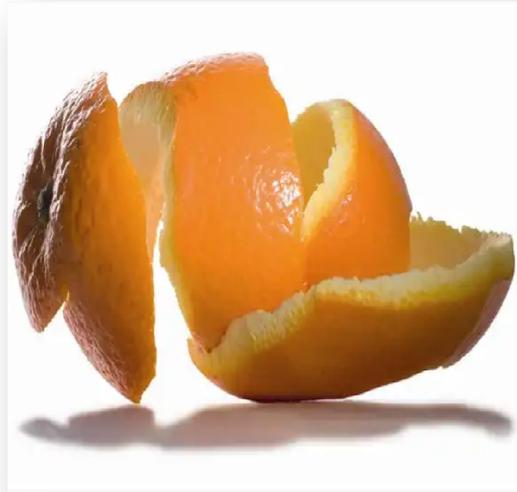
**Le fruit (fig.04)** est une baie, ronde ou allongée souvent pourvue d'un mamelon proéminent du cote oppose au pédoncule fructifère et de taille variable (**Karlberg et al ., 1997**) .



**Figure04 : Fruits des agrumes (Dymtro,2018)**

**Peau d'orange (fig.05)** du fruit (péricarpe) comprend dans sa partie la plus externe un épicarpe dénommé « zeste ») coloré en jaune, orangé à rouge à maturité, parsemé de nombreuses poches sécrétrices schizolysigènes remplies d'huile essentielle ; ce péricarpe se détache plus ou moins facilement (plus aisément chez la mandarine que chez le citron par exemple ) ; la partie plus interne du péricarpe comprend un mésocarpe composé d'une couche externe fine est d'une couche interne cellulosique.

L'ensemble épicarpe et mésocarpe externe forme le « flavèdo ». Le mésocarpe interne appelé « albédo », est de couleur blanche, a une texture lâche variable et plus ou moins spongieuse et d'épaisseur variable il est plus mince chez la limette que chez le citron par exemple .L'épiderme interne ou endocarpe correspond à la partie comestible du fruit ; chaque carpelle correspond à un « quartier », en nombre variable selon les agrumes (une dizaine environ), séparés les uns des autres par une cloison pectocellulosique, renfermant éventuellement des graines ou « pépins »(absence chez certaines espèces)et gorgés d'un suc acidulé et sucré , de saveur variable selon les *Citrus* (Karlberg, et al ., 1997).



**Figure05 : Ecorces des agrumes (Siniora,2015)**

### **I.3. Exigences pédo-climatiques des agrumes**

#### **I.3.1. Les exigences climatiques**

**a. La température :** Les agrumes sont considérés comme des arbres à climat chaud, néanmoins, les températures minimales et maximales constituent un facteur limitant. Le zéro végétatif des agrumes est de 13°C. La température optimale de croissance serait de 25 à 26°C ; au-delà, l'activité décroît pour s'arrêter aux environs de 38 à 40°C (Loussert,1989).

#### **b. La pluviométrie :**

Les agrumes sont des arbres à feuilles persistantes à fort besoins en eau qui varient entre 900 et 1200mm par an. Ces besoins sont plus marqués notamment durant le stade grossissement coïncidant avec la période estivale. (Loussert,1989).

#### **c. L'humidité de l'air :**

La transpiration du végétal est élevée et ses besoins en eau augmentent. Cette faible humidité de l'air peut être amplifiée par des vents chauds desséchants pouvant provoquer des brûlures sur le feuillage et les fruits. (Loussert,1989).

#### **I.3.2. Exigences édaphiques**

Les agrumes possèdent un système racinaire important et exigeant des sols profonds. La large gamme de porte-greffe disponible permet, avec un choix judicieux, d'implanter les agrumes dans des sols très variables en termes de pH, de texture et d'équilibre chimique.

Les sols dont le pH est compris entre 6 et 7 .

Sur le plan physique, il ya lieu de retenir les terrains répondant aux critères suivants :

- Sol meuble et aéré
- Sol à texture dominante grossière : éviter les sols trop argileux ou battants (riches en éléments fins).

Sol homogène et profond (1m au minimum) ,à drainage externe et interne satisfaisant (**Loussert, 1989**).

### I.3.3. Valeur nutritionnelle des agrumes

Les agrumes et leur jus sont réputés pour avoir des effets bénéfiques sur la santé et pour leurs grandes qualités nutritives (tableau I )

Tab.I : Composition de quelques fruits des agrumes (pour 100 g) (Vierling, 2008).

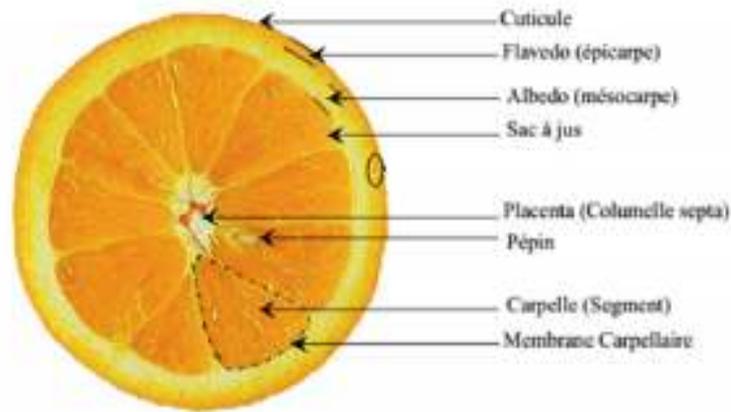
	Protides (mg)	Glucides (mg)	Valeur énergétique (kJ)	K+ (mg)	Na+ (mg)	Ca ++ (mg)	Vitamine C(mg)
<b>Orange</b>	0.2	10	180	170	1.4	15	45
<b>Citron</b>	0.4	7.7	140	138	1	11	53
<b>pamplemousse</b>	0.53	11.3	200	150	1.3	9	36

## I.4.Les Oranges

### I.4.1 .Historique

La culture de l'oranger est très ancienne, elle se confond avec l'histoire de la Chine d'où il est originaire. L'oranger se propage très vite à l'ensemble des pays du Sud-est asiatique, puis arrive en Méditerranée au VIIe siècle. Les oranges amères, encore appelées bigarades, arrivent en Europe à partir du Xe siècle, époque des croisades. Mais l'orange douce ne fera son apparition qu'au cours du XVe siècle lorsque des navigateurs portugais la découvrent en Chine. Par sa douceur, elle évince très vite l'orange amère. Une fois implanté dans le bassin méditerranéen, l'oranger est diffusé à travers le monde par les Européens, Amérique du Nord

et du Sud au XVIe siècle, Afrique du Sud au XVIIe et Australie au XVIIIe (Webber et Herbert. 1967).



**Figure 06 : Coupe transversale d'une orange(Hendrix et Redd, 1995 ;Guimaraes et al.,2010 in bousbia,2013)**

## **I.4.2.Systématique et description botanique**

### **I.4.2.1 Systématique**

La classification botanique de l'orange est consigné dans le tableau II (Judd et al .,2002 )

Tableau II : Classification botanique des oranges .

Règne	Plantae
Embranchement	spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	dicotylédone
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus sinensis</i>

### **I.4.2.2.Description botanique**

L'oranger est un petit arbre sempervirent, pouvant atteindre 10 mètres de haut, avec des branches épineuses et des feuilles de 4 à 10cm de long. Le fruit du *Citrus sinensis* est appelé orange douce pour le distinguer de l'orange amère . Tous les fruits d'agrumes sont considérés comme des baies, parce qu'ils sont charnus, contiennent de nombreuses graines et dérivent d'un ovaire unique. Le tableau III regroupe les principaux caractères botaniques des orangers.

Tableau III: Description botanique des oranges (Bachès , 2011)

Aspect	Arbre au port harmonieux et de croissance rapide
Taille	Grande taille en pleine terre (7à8m)
Fleurs	Blanches et immaculées, très parfumées.
Ecorces	grise, lisse ou à peine rêche.
Feuilles	Vert profond, légèrement ailées.
Fruits	De forme et de coloration variable en fonction des différents groupes auxquelles ils appartiennent.
Pulpe	Juteuse diffère en couleur et en acidité selon les variétés.

### I.4.3. Les variétés étudiées

#### I.4.3.1. Variété « Sanguine » :

Elles diffèrent des oranges blondes par la présence de pigment qui en colorent l'épiderme et la pulpe . Le nom des oranges sanguines provient de la couleur de leur pulpe et de leur peau. À mesure que les fruits mûrissent, des dérivés de sucres, les anthocyanes, s'expriment du cœur du fruit vers l'extérieur ( **Loussert ;1989** ) .



**Figure 07 : Variété Sanguine (photo originale,2018)**

#### I.4.3.2. Variété « Thomson » :

Cette variété se distingue de Washington par une maturation plus précoce , de 10 à 15 jours environ .sa peau est lisse et très fine. Sa pulpe est parfumée, acidulée et peu juteuse. Elle est cultivée dans le sud de la France. Elle se trouve sur les marchés de décembre à avril .Cette variété a pris, au cours des dernières années, une certaine importance en particulier en

Espagne. Elle est un peu plus précoce que La Washington Navel ; ses fruits à peau plus lisse ont un épiderme bien coloré en orangé-rougeâtre( **Loussert ;1989** ) .



**Figure 08 : Variété Thomson ( photo originale,2018)**

Un végétal est dit « à huile essentielle », de par sa capacité à développer des structures anatomiques de stockage de composés organiques volatils (poches d'huile essentielle au sommet de trichomes de la menthe, canaux résinifères des aiguilles de pin, poche d'huile essentielle dans le flavedo des agrumes) (Fernandez et Chemat, 2012).

### II.1. Définition d'une H.E

Selon les normes AFNOR (norme NF T 75-006), l'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation « sèche ». L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (Fernandez et Chemat, 2012).

### II.2. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les monoterpènes (myrcène,  $\beta$ -pinène,  $\gamma$ -terpinène) et les sesquiterpènes ( $\beta$ -caryophyllène,  $\alpha$ -humulène,  $\beta$ -bisabolène etc...) (Croteau et al., 2000).

### II.3. Propriétés physiques des huiles essentielles

Les HE possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques qui permettent avec leurs compositions chimiques de les identifier :

- Elles sont généralement liquides à température ordinaire.
- Elles sont volatiles et entraînaient à la vapeur d'eau.
- Elles sont généralement incolores ou jaunes pâles lorsqu'elles viennent d'être préparées.
- Elles sont peu solubles dans l'eau mais lui communiquent leur odeur.
- Elles sont solubles dans la plupart des solvants organiques.
- Elles sont sensibles à l'oxydation et donc de conservation limitée. (Catier et Roux, 2007).

### II.4. Le rôle physiologique des huiles essentielles

Beaucoup de plantes produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu (Hellel, 2011).

Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques de communication et de défense, ils permettent de tolérer les stress biotiques et abiotiques, et de communiquer des informations vitales à des insectes bénéfiques (des insectes pollinisateurs) (Porter, 2001). Selon Bakkali, (2008) *In* hellal, 2011, les huiles essentielles sont considérées comme source d'énergie, facilitant certaines réaction chimiques, et réduisent la compétition des autres espèces de plantes par inhibition de la germination des graines .

### **II.5. Localisation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles se trouvent en général dans les fleurs, les feuilles, les fruits, le bois, les racines ou les rhizomes et les graines. Cette large distribution des huiles essentielles dans le règne végétale est associée à des structures cellulaires épidermiques spécialisées dans la production de ces substances et/ou leur accumulation : Les poils sécréteurs ou trichomes, Les poches sécrétrices, les cellules sécrétrices et les canaux sécréteurs (Besombes, 2008). Chez les agrumes, l'huiles essentielles se trouvent dans les feuilles, appelées essence de petit grain, les différents pièces florales (pétales, stylé et étamines) et prennent le nom d'essence de Néroli et dans l'écorce des fruits (**Praleron, 1971**).

Cette huile essentielle est renfermée dans de petit poche sécrétrice appelées glandes à essence inclus dans les tissus sub-épidermiques : tissus palissadiques des feuilles, épicarpe des fruits tissus adjacents à l'épiderme des pétales et du calice. Elles sont visibles à l'oeil nu sur l'écorce des fruits, signalées par de petites dépressions de l'épiderme qui peut en compter jusqu'à 50 par cm<sup>2</sup>, et sur la face ventrale des feuilles sous forme de petites ponctuations claires (**Medjber et Djoudi, 1995, Praleron, 1971**).

La genèse des poches sécrétrices débute par la division d'une cellule parenchymateuse en quatre cellules, qui forment en leur centre une poche. les cellules, entourant la poche, vont se diviser et s'organiser pour constituer des rangées successives autour de la poche, avec un phénomène de lyse pour les cellules de la rangée la plus interne, ce qui forme alors une poche schizolysigène (**Teuscher et al.,2005 et Besombes . 2008,**) .

## II.6. Procédés d'extraction

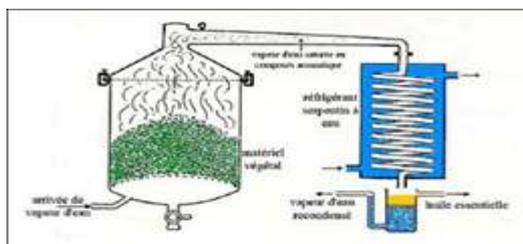
Plusieurs techniques et procédés d'extractions ont été employés depuis longtemps et autres ont été développées pour obtenir les huiles essentielles .

### II.6.1. Hydrodiffusion

Cette technique relativement récente est particulière. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas (*per descendum*) et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'huile essentielle obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale : « essence de percolation **(Franchommeetal.,1990;Richard,1992).**

**II.6.2. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau(*steam distillation*)** :Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau

La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte un amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques : le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante(fig.9) **(Franchomme et al., 1990).**



**Figure09 : Schéma du procédé d'entraînement à la vapeur d'eau ( Kesbi,2011)**

**II.6.3. Hydrodistillation (*water distillation*)** :Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat **(Franchomme et al., 1990)(fig.10)**



**Figure 10 : Montage d'hydro-distillation (Sutour,2010)**

#### **II.6.4. Expression à froid**

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

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

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

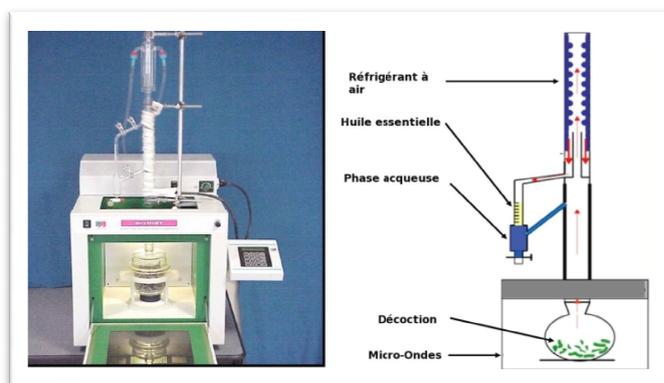
En absorbant l'eau, le fruit devient plus élastique. On retourne le fruit, ce qui brise les cellules d'huile. On presse ensuite l'écorce sur une éponge pour exprimer l'huile volatile. Celle-ci est ensuite recueillie dans un récipient avant d'être décantée (**Beneteaud ;2011**)



**Figure 11 : Expression à froid des agrumes (Jacqueline,2009)**

### II.6.5. Extraction par solvant

Cette technique, largement utilisée actuellement, consiste à faire tremper les plantes dans un solvant organique volatil à chaud, soit pour obtenir des produits que l'on ne peut pas extraire par un autre procédé, soit en vue un rendement plus élevé, en fin d'opération, le solvant est éliminé par distillation sous pression réduite. On obtient alors une substance appelée concrète (mélange de cire et de constituant odorant), des lavages répétés avec l'alcool permet d'éliminer les cires, l'élimination de l'alcool par distillation conduit aux essences absolues, ce sont ces derniers qui sont utilisés en parfumerie, cependant les concrètes et les absolues ne sont pas utilisés pour les huiles essentielles à destination thérapeutiques (fig. 12) (Marouf et Tremblin, 2009).



**Figure 12 : Montage d'une distillation assistée par micro-ondes (Chemat, et al., 2004 In Duval, 2012)**

### II.6.7. Extraction par du CO<sub>2</sub> supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique CO<sub>2</sub>.

Sous pression et à température supérieure à 31°C, le gaz carbonique se trouve dans un état dit « supercritique », intermédiaire entre le gaz et le liquide. Dans cet état, le CO<sub>2</sub> présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organiques.

Cette propriété a été mise à profit pour extraire des matières premières végétales intéressantes pour la parfumerie. Pour cette application, l'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique présente de nombreux avantages par rapport aux procédés d'extraction traditionnels.

La matière végétale est chargée dans l'extracteur. Puis le CO<sub>2</sub> introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO<sub>2</sub> reprend sa forme gazeuse et est complètement éliminé. L'extract végétal est isolé

Les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine et sans solvant résiduel(fig.13) (Beneteaud et al.,2001).

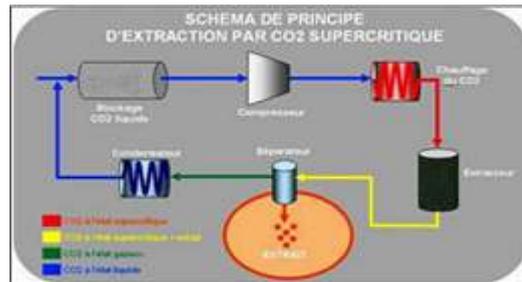


Figure13 : Schéma de principe d'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique (Duval,2012)

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

### II. Objectif d'étude

Mettre en évidence toutes les différences qualitatives et quantitatives de la composition chimique des huiles essentielles, en fonction des variétés d'Agrumes étudiées.

#### II.1. Matériel végétal

Les oranges (Thomson et la Sanguine) sont récoltées dans la région de Boufarik. La récolte a été réalisée en pleine maturité des fruits et d'une façon aléatoire en avril 2018.

Les oranges fraîchement récoltées sont nettoyées, lavées et séchées avec une serviette propre.

L'écorce est récupérée à l'aide d'un éplucheur.

#### II.2. Présentation de la zone d'étude

Boufarik (arabe : بوفاريك) est une commune de la wilaya de Blida en Algérie, située à 14 km de la ville de Blida et à 35 km d'Alger (Fig 14). Elle est connue pour ses oranges et est le lieu de naissance de la boisson Mandarinine.



Figure 14 : Localisation géographique de la région d'étude (Googelmaps.com)

#### II.3. Les facteurs influençant les variétés étudiées

Par rapport au climat, les facteurs climatiques sont des facteurs écologiques liés aux circonstances atmosphériques et météorologiques dans une région donnée. Le facteur climatique intervient dans un biome qui est principalement caractérisé par le climat, en particulier par les températures et les précipitations.

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

Tableau IV : Précipitations mensuelles et leur moyenne durant l'année d'étude.

Mois	Pluviométrie en mm
Septembre 2017	40
Octobre 2017	23,40
Novembre 2017	77,66
Décembre 2017	150,90
Janvier 2018	41,60
Février 2018	93,30
Mars 2018	120,90
Moyenne	547,76

Source :ITAF BOUFARIK

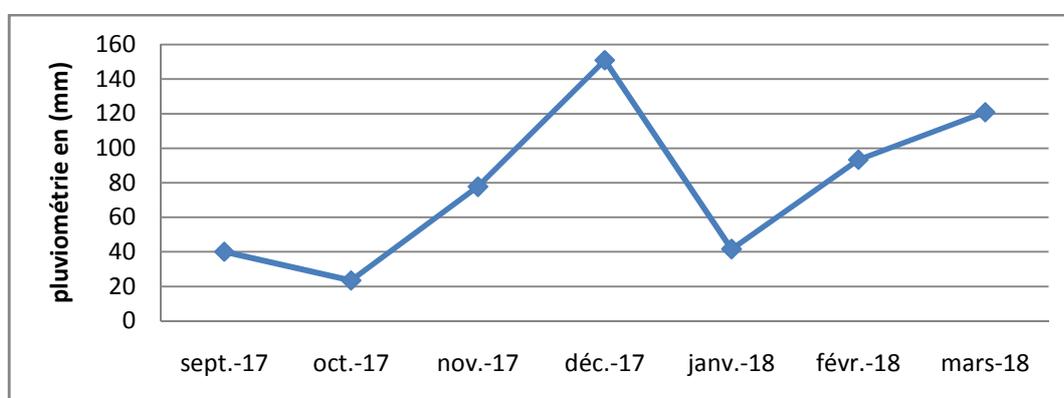


Figure 15 : Précipitations mensuelles durant l'année d'étude

Tableau V : Températures moyennes maximales, minimales mensuelles et leurs moyennes durant l'année d'étude

Mois	T°C min	T°C max	Moyenne
Septembre 2017	16,20	30,11	23,16
Octobre 2017	11,48	26,36	18,92
Novembre 2017	5,81	19,71	12,76
Décembre 2017	5,33	16,03	10,68
Janvier 2018	3,98	18,5	11,24
Février 2018	3,89	16,33	10,11
Mars 2018	7,05	18,67	12,86
Moyenne	7,67	20,81	14,24

Source :ITAF BOUFARIK

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

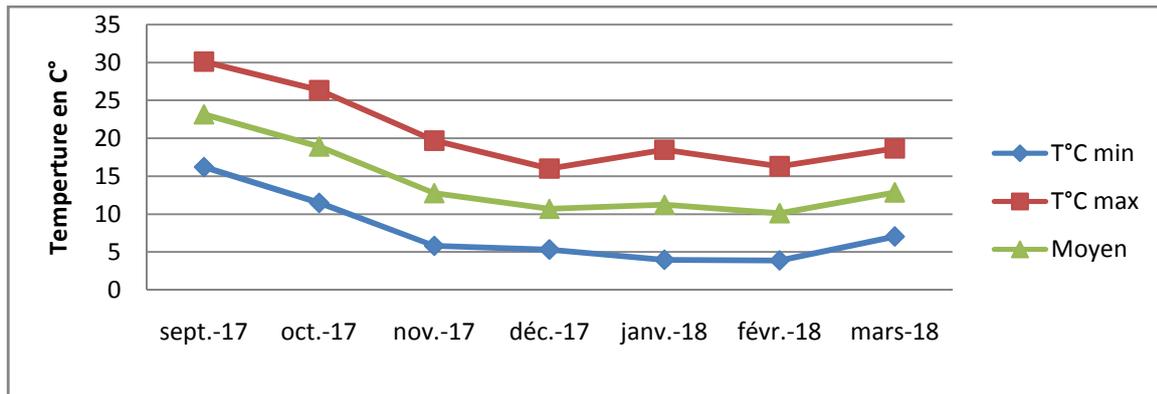
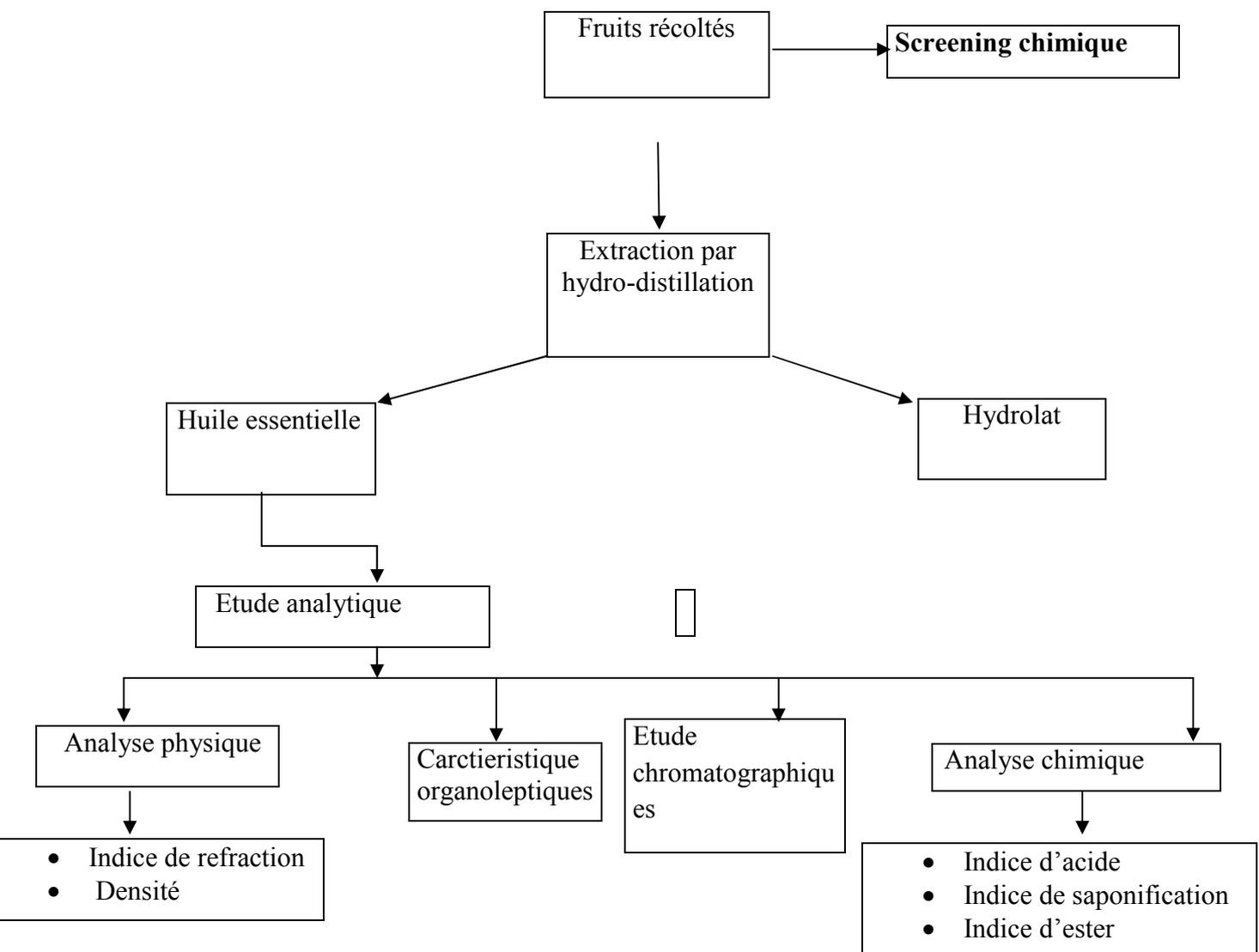


Figure16 : Variation mensuelles des températures durant l'année d'étude.

### II.4.Méthodes :



## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

---

### Figure 17: Schéma générale de la procédure expérimentale

#### II.4.1. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles des deux variétés étudiées ont été extraites au laboratoire de Science agro-alimentaire faculté SNV-université SAAD DAHLEB-Blida1. par hydro-distillation avec un appareil de type Clévenger à partir d'une masse végétal d'écorce fraîche à raison de deux répétitions par variété.

Pour chacune des deux variétés , on pèse 400g d'écorces fraîches , on les met dans une cocotte minute , on bas rajoute 4L d'eau distillée et on laisse bouillir pendant une heure et demi.

L'huile essentielle Entrainée à la vapeur d'eau est condensée au niveau du réfrigérant et elle se sépare de l'hydrolat par différence de densité. Les huiles récupérées sont stockées dans des eppendorfs transparents recouvert de papier aluminium et hermétiquement fermés pour éviter le contact avec l'air et la lumière, qui sont des facteurs de dégradation, les conservées au réfrigérateur à

4°C.



Figure 18 : Montage de l'hydro-distillation

#### II.4.2. Paramètres étudiés

##### II.4.2.1. La teneur en eau

La teneur en eau est déterminée à partir d'un poids de 36g d'écorce fraîche pour les deux variétés, mise à l'étude l'étuve à 50°C pendant 7 jours jusqu'à la fixation du poids.

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

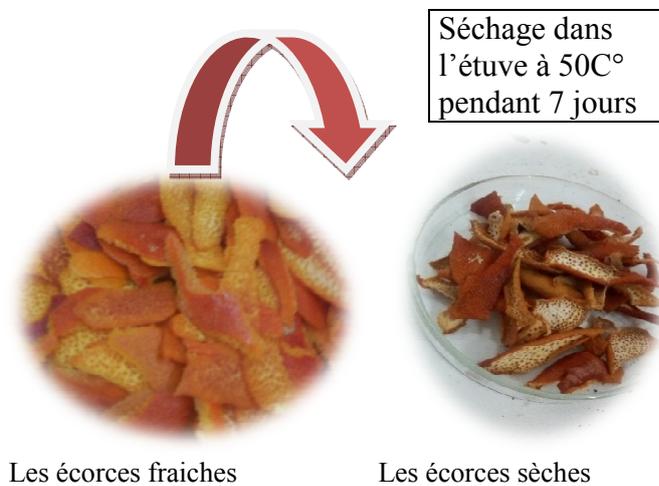
---

Le taux d'humidité est exprimé par la formule suivante :

$$TH\% = 100 - 100 Ps * Pf$$

Où :

- TH% : taux d'humidité
- Ps : poids sec
- Pf : poids frais



**Figure 19 : Ecorces d'oranges avant et après le séchage .**

### II.4.2.2. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile essentielle extraite et le poids de la matière végétale sèche traitée. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$RHE\% = 100 PHE / PMVS$$

Où :

- RHE: Rendement en huile essentielle (%)
- PHE: Masse de l'huile essentielle (g) .
- PMVS : Masse de la matière végétale sèche (g).

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

---

### II.4.2.3. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques d'un produit peuvent être définies comme l'ensemble de ses caractéristiques perçues et évaluées par les sens du consommateur ou par ceux d'un expert.

Les propriétés organoleptiques d'un produit jouent un rôle primordial dans sa perception avant usage ou consommation et dans son appréciation lorsqu'il est consommé ou utilisé.

Les principaux éléments contribuant à la qualité organoleptique sont : aspect, odeur, couleur

Les propriétés organoleptiques peuvent être évaluées lors d'une analyse sensorielle et donner lieu à l'établissement d'un profil sensoriel ( **Bathelot,2016**)

## II.5. Propriétés physico-chimiques

### II.5.1. Les propriétés physiques

#### II.5.1.1. Densité

La densité d'une huile essentielle est définie comme étant le rapport de la masse de l'huile essentielle et le volume de celui-ci :

$$d = M_{HE} / V_{HE}$$

d : densité

MHE : Masse de l'Huile Essentielle (g)

VHE : Volume de l'Huile Essentielle (ml)

#### II.5.1.2. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air au sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré à une température de référence (**Pharmacopée européenne 2008**). La température de référence est de 20°C, sauf pour les huiles essentielles qui ne se trouvent pas à l'état liquide à cette température.

La mesure des indices de réfraction de nos échantillons a été réalisée à l'aide

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

---

d'un réfractomètre(fig20). La prisme du réfractomètre est nettoyé après chaque mesure à l'éthanol et

étalonné à l'eau distillée.



**Figure 20 : Réfractomètre**

L'indice de réfraction  $n_D^t$ , à la température de référence  $t = 20^\circ\text{C}$ , est donné par l'équation suivante :

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0,0004(t' - 20)$$

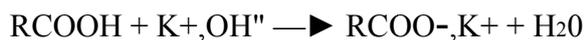
Où :  $n_D^{t'}$  est la valeur de lecture obtenue à la température  $t'$ , à laquelle a été effectuée la détermination.

### II.5.2. Les propriétés chimiques

#### II.5.2.1. L'indice d'acide

La mesure de l'indice d'acide (Ia) est une mesure importante dans le contrôle des huiles essentielles. Il est défini comme le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour neutraliser les acides gras libres présents dans 1 g de corps gras.

La détermination de l'indice d'acide est basée sur le titrage des acides gras libres présents dans une prise d'essai à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium en milieu non aqueux, selon l'équation suivante :



#### Mode opératoire

Dissoudre une prise d'essai de 0,2 g d'huile essentielle dans 10 ml du mélange oxyde diéthylique / éthanol, ajouter 3 gouttes de phénolphaléine.

Titre, en agitant, avec la solution d'hydroxyde de potassium à 0,1 mol/l jusqu'au virage de

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

---

l'indicateur (coloration rose persistante de la phénolphtaléine).

L'indice d'acide est donné par la formule suivante :

$$I_a = V \times C \times \frac{56.11}{m}$$

Où :

56,11 : est la masse molaire, exprimée en grammes par mole, de l'hydroxyde de potassium ;

V : est le volume, en millilitres, de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisé ;

C : est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée ;

m: est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

### II.5.2.2. Indice de saponification

L'indice de saponification (IS) est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres et à la saponification des esters présents dans 1 g de substance (**Pharmacopée Européenne, 1997**). Cet indice est très utile pour l'estimation du poids moléculaire, il permet de prévoir la longueur moyenne des chaînes d'acide gras.

#### Mode opératoire :

- Dans une fiole de 250 ml de verre introduire la prise d'essai (1 g).
- Ajouter 25 ml d'hydroxyde de potassium alcoolique à 0.5 M et quelques billes de verre (sécularisatrice d'ébullition).
- Adapter le réfrigérant et chauffer à reflux pendant 30 min
- Ajouter 1 ml de solution de phénolphtaléine et titrer immédiatement par l'acide chlorhydrique (HCl) à 0.5 M jusqu'à disparition de la couleur rose de l'indicateur.

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

---

- En parallèle, effectuez un essai à blanc en suivant le même mode opératoire et la même solution éthanolique d'hydroxyde de potassium à 0.5 ml mais sans la prise d'essai.

L'indice de saponification (IS) est donné par la formule suivante :

$$IS = \frac{28.05(V_0 - V_1)}{M}$$

IS : indice de saponification.

V<sub>0</sub> : volume (ml) de l'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai à blanc.

V<sub>1</sub> : volume (ml) de l'acide chlorhydrique utilisé pour la détermination.

M : masse (g) de la prise d'essai.

**28.05** : correspondant à 0.5 M de KOH

### II.5.2.3. Indice d'ester

L'indice d'ester (IE) est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présents dans 1g d'huile essentielle (**Pharmacopée Européenne, 2001**). Cet indice renseigne sur la quantité d'acides gras liés (**Gouguan et Baiteche, 1989**). Il est calculé à partir de l'indice de saponification IS et de l'indice d'acide IA

$$IE = IS - IA$$

## II.6. Détermination du profil chimique des HE des deux variétés d'oranges

Cette analyse concerne l'identification qualitative et quantitative des différents constituants

De l'huile essentielles extraite à partir des écorces des deux variétés :

La chromatographie en phase gazeuse est la méthode la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. C'est une méthode de séparation des composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans subir une décomposition .

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

### II.6.1. Par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie sous toutes ses formes représente un moyen d'identification et de séparation très efficace fréquemment utilisée pour l'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles.

Les analyses chromatographiques ont été effectués au laboratoire de Pr GUERMOUCHE laboratoire Chromatographie USTHB.

- Chromatographe Perkin-Elmer Total Chrom.
- Colonne carbowax 20M 30m x 0.32 mm, 1micron 220°C à 4°C suivi d'un isotherme à cette température pendant 15 min.
- Température programmée de 60°C à détecteur FID 280°C.
- Injecteur Split/splitless en mode Split 1/30 250°C.

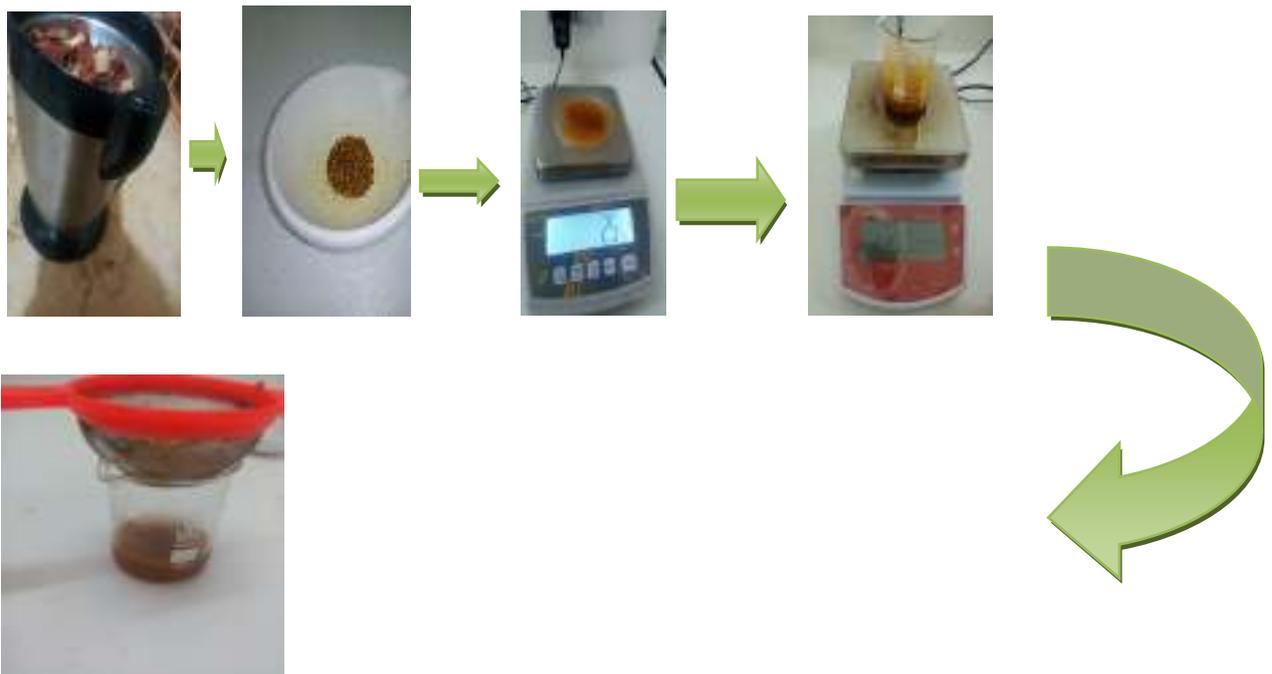
Identification des pices essentiels faite par indice de retention et l'analyse quantitative faite par la normalisation des aires.

### II.6.2. Test de screening phytochimique

Le but de ce test est de connaître la composition en métabolites secondaires, ils sont effectués soit sur la poudre de broyat, soit sur un infusé (**Bouyer, 1996**).

#### Préparation de l'infusé

A 5g de poudre de l'écorce, sont ajoutés 50ml d'eau distillée bouillant, laissé infuser pendant 15 min avec agitation de temps en temps, puis filtrer(figure ;21).



**Figure 21: Protocole de préparation d'infusé**

## CHAPITRE II : Matériel et méthodes

---

### **Identification de quelques métabolites secondaires**

#### **Les anthocyanes**

A 5ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'ammoniaque 1/2

L'apparition d'une couleur rouge, indique la présence des anthocyanes(Dialla,2000).

#### **Les tanins catéchique**

15ml d'infusé, sont additionnés à 7ml de réactive da Stiasny (10ml de formola 40% et 5ml d'HCL concentré)

La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchique(Harborne, 1998).

#### **Les mucilages :**

On introduit 1ml de l'infusé dans un tube et on lui ajoute 5ml d'éthanol absolu.



## Conclusion générale

---

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des sous produits des fruits d'agrumes, spécialement les huiles essentielles, la recherche de toute expression de diversité ou chimiodiversité et la détermination de ses principes actifs dans le but de trouver une quelconque différence entre les variétés étudiées ;

D'après les résultats obtenus, nous mentionnons que le rendement obtenus pour les deux variétés est très intéressant qui sont de 1.33% , 0.9% respectivement chez la Thomson et la Sanguine

Concernant les caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques, elles demeurent conformes aux normes international, sauf pour la couleur des HEs ,qui est différente car nous avons utilise une méthode d'extraction très ancienne : « la cocotte minute ».

Pour la composition chimique des huiles essentielles , les résultats obtenus lors de notre étude révèlent la présence de limonène comme composé majoritaire chez les deux variétés mais avec une pourcentage plus élevé chez la Sanguine .D'autre composés existent chez les deux variétés :  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène, sabinene , myrcene , octanal , decanal , valencene , citral .

A l'issu de cette etude , il sera judicieux de confirmer les résultats obtenus avec des études ultérieurs plus poussées, en utilisant d'autre moyenne d'identification comme la spectrométrie de masse (MS), Chromatographie liquide à haute performance (HPLC), de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse en tandem (CPG/SM/SM), et en testant les huiles essentielles étudiées dans les différents domaines : pharmaceutique, lutte biologique et agroalimentaire.

Il sera intéressant également d'étudier en premier lieu d'autres espèces d'agrumes en utilisant les différents parties de la plante, feuilles bois, fleurs et fruit, et en deuxième lieu faire des prélèvement à différent période afin de mettre en exergue la diversité chimique au niveau variétal .spatial ou autres.

## CHAPITRE III : Résultats et discussion

### III.1. Détermination de la teneur en eau

Les végétaux sont connus par leur richesse en eau elle représente une partie majoritaire de leur composition.

Les résultats de la détermination de la teneur en eau des deux variétés étudiées sont regroupés dans le tableau

Tableau VI : Teneur en eau de l'écorce du fruit de Thomson et la Sanguine

Variété	Thomson	La Sanguine
Taux d'humidité %	77.76	75.80

Les analyses des écorces du fruit d'orange des deux variétés étudiées révèlent un taux d'humidité supérieure à 50% (**Fig.27**). Il est de 77.76% et 75.80% respectivement chez la Thomson et La Sanguine (**Fig.27 et Tab VI**) la Thomson présente un taux d'humidité un peu plus élevé que celui de La Sanguine.

### III.2. Résultat du rendement en huile essentielle

Les huiles essentielles des 2 variétés d'oranges, sont obtenues par hydrodistillation, cette méthode est la plus utilisée, dans environ 80% des cas, car c'est la plus économique (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012). Le tableau 7 résume les rendements moyens en huiles essentielles extraites.

Tableau VII : Rendement moyen de l'écorce de l'orange Thomson et la Sanguine

Vériété	Thomson	La sanguine
Rendement moyen %	1.33	0.9

Les rendements moyens en l'huile essentielle, sont de l'ordre de 1.33%,0.9% (tableau VII) respectivement. Ces valeurs sont inférieures à celles obtenus par Himed,(2011) qui a obtenu chez le citronnier, un rendement en huile essentielle de 2.18%, alors que Rega et al (2003) In Hellal,(2011),ont obtenu chez *Citrus*, un rendement différent selon les espèces, et ils ont signalé des rendements de 1 à 3%.

Cette différence pourrait être expliquée par plusieurs facteurs, Le choix de la période de récolte, les conditions pédoclimatiques, la variété d'orange, la durée de séchage, les stress

## CHAPITRE III : Résultats et discussion

biotiques, ainsi que la méthodes d'extraction affectent d'une façon notable la qualité et la quantité des huiles essentielles.

### III.3. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites de la Thomson et la Sanguine sont regroupées dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de la Thomson et la Sanguine

Variétés Spécification	La Thomson	La Sanguine	NORME AFNOR (2000)
Aspect	Liquide, mobile, limpide		Liquide-mobile-limpide
Couleur	Transparente	Transparente	Jaune claire
Odeur	Très forte		Très forte

Les HEs des deux variétés étudiées présentent un aspect liquide, mobile, limpide et de couleur transparente, elles sont caractérisées par une odeur très forte (caractéristique du fruit d'agrumes).

Les résultats des caractéristiques organoleptiques obtenus sont conformes aux normes AFNOR(2000) sauf la couleur, car nous avons utilisé une méthode d'extraction très ancienne « la cocotte minute ».

### III.4. Grandeurs physico-chimiques

#### III.4.1. Grandeurs physiques

Les résultats de la détermination des grandeurs physiques des huiles essentielles de la Thomson et la Sanguine, sont regroupés dans le tableau VIII.

## CHAPITRE III : Résultats et discussion

Tableau VIII : Grandeurs physiques des huiles essentielles de *Citrus sinensis*.

Spécification	Thomson	La Sanguine
Densité relative	0.812	0.850
Indice de réfraction	1.637	1.645

Au vu des résultats obtenus, on observe que la densité de l'huile essentielle de la Sanguine est un peu élevée (0.850) par rapport à la Thomson (0.812).

D'après Mrouf,1990 et pharmacopée européenne,2008 et Hellal ,2011 ,la densité relative est variée entre (0.84 - 0.85) et l'indice de réfraction entre (1.64 – 1.74).

L'indice de réfraction de l'HE des deux variétés est supérieur aux normes.

Cet indice varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés

oxygénés (koba,2003).Donc nos huiles essentielles sont riches en monoterpènes.

Le faible indice de réfraction d'une huiles essentielle d'orange indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques (Kanko,2010).

### III.4.2. Les grandeurs chimiques

La connaissance des indices chimiques donne des indications assez précises sur l'huile

Etudiées. Le tableau X, présente l'indice d'acide, indice de saponification, et indice d'ester des huiles essentielles de la Thomson et la Sanguine.

Tableau X : Propriétés chimiques des HE

Spécification	La Thomson	La Sanguine	Normes AFNOR
Indice d'acide (IA)	2.21	2.91	$\leq 2$
Indice de saponification (IS)	14.085	14.025	Ns
Indice d'ester (IE)	11.875	11.115	Ns

Ns : Non spécifié

Les résultats mentionnés dans le tableau 11 montrent que les valeurs des indices d'acide (IA) pour les huiles des deux variétés, demeurent relativement élevés ce qui signifie que nos HES sont acides.

L'indice de saponification est presque le même chez les HES des deux variétés.

## CHAPITRE III : Résultats et discussion

D'après (Salle, 1991), l'indice d'acide permet de donner une appréciation sur le taux d'acides libres.

L'acidité des deux HEs, traduit par des IA, est relativement élevée en comparaison avec les normes AFNOR (2000). Cette acidité peut être due à la dégradation de l'HE (hydrolyse des ester) influant sur la qualité de l'HE (Salle, 1991). Notre étude révèle que l'indice de saponification de l'HE de La Thomson est de 14.085 ce qui est relativement identique à celui de La Sanguine qui est de 14.025.

L'indice d'ester renseigne sur la quantité des acides gras liés (Gouguame et Baiteche, 1989), il est de 11.875 chez la Thomson et 11.115 chez la Sanguine, considéré normal du moment qu'il est en relation avec l'indice de saponification et l'indice d'acide.

### III.5. Détermination de la composition chimique

#### III.5.1. Par la chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

	Name	Retention Time	ORANGE THOMSON		ORANGE SANGUINE	
			Area	% Area	Area	% Area
1	<u><math>\alpha</math>-pinene</u>	2,216	89718	0,305	119624	0,252
2	<u><math>\beta</math>-pinene</u>	2,996	86122	0,293	114829	0,223
3	<u>sabinene</u>	3,815	90085	0,306	120113	0,324
4	<u>myrcene</u>	10,033	392772	1,335	523696	2,213
5	<u>limonene</u>	11,250	2,74113E7	93,176	3,65484E7	90,398
6	<u>octanal</u>	11,899	95906	0,326	127874	0,211
7	<u>decanal</u>	30,051	83531	0,284	111374	0,246
8	<u>valencene</u>	40,011	97277	0,331	129702	0,324
9	<u>Citral</u>	40,932	12374	0,042	16498	0,132
		41,794	9280	0,032	12373	0,211
				TOTAL = 96.42%		TOTAL = 94,53%

Tableau XI : Les composés chimiques des huiles essentielles de la Thomson et la Sanguine, identifiés par la CPG

## CHAPITRE III : Résultats et discussion

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles étudiées par la CPG a révélé la presque quasi-totalité des composés ( 9 composés chimiques) respectivement chez les deux variétés, avec un total de l'identification a été effectuée par comparaison avec une solution étalon comportant les composés principaux de l'essence d'orange.

Du point de vue quantitatif, la technique utilisée est basée sur la normalisation des aires. Ainsi, 96.42%, et 94.53 % ont été quantifiés pour les essences des variétés Thomson et Sanguine.

Les résultats font ressortir, d'une part que le limonène est le composé majoritaire des huiles essentielles de la Thomson ( 93.2%), et de la Sanguine (90.4%).D'autre part, certains composés mono terpéniques ont été identifiés.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de El-Khalet et *al.*, (2014 ) qui ont obtenus une valeur de 90.0% chez *Citrus aurantium*.

En plus du limonène, d'autres composés figurent dans la composition des deux huiles essentielles :  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène, sabinene , myrcene , octanal , decanal , valencene , citral .

Ces composés sont présents à des pourcentages variables :

- Myrcene , présente le taux le plus élève, concernant la Thomson (1.335%) et la Sanguine (2.213%).
- Citral , présente le taux le plus faible ,concernant la Thomson (0.032%) et la Sanguine (0.132%).

D'après nos résultats obtenus de l'étude qualitative et quantitative des huiles de deux variétés, nous pouvons constater que les deux variétés sont constituées de nombreux composants similaire avec une légère différence quantitative.

Cette similarité peut être tributaire d'une part de comportement génétique de chaque variété, des conditions pédoclimatiques, le système culturale et la maturité du fruit et d'autre part au procédé d'extraction et des conditions de stockage et conservation.

### III.6. Test du screening phytochimique chimique

Tableau XII : Résultat du screening phytochimique des écorces d'oranges.

	La Thomson	La Sanguine
Les anthocyanes	-	++
Les tannins catéchiques	++	++
Le mucilage	+	+

## CHAPITRE III : Résultats et discussion

---

++ : Présence modérée ; + : Présence faible

- : Absence.

Les résultats du tableau XI révèlent la présence des composés phénoliques (tanins catéchique).cette présence peut être expliquée par la différence des méthodes et des solvants d'extraction utilisés, par des facteurs génétiques, climatique et édaphique de la région de récolte (Lagha-Benamrouche,2017). Et des mucilages dans toutes les écorces des variétés étudiées , avec des proportions variables.

Les écorces de la sanguine contient les anthocyanes par contre chez la Thomson. Les anthocyanes sont identifiés uniquement dans les variétés rouges (Sanguines, Double fine et Portugaise)(Lagha-Benamrouche,2017).

## REFERENCE BIBLIOGRAGHIQUE

---

- ❖ **BESOMBES C. 2008**, Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques, Th. Doct. Univ. de la Rochelle, France, p289.
- ❖ **BACHES. B,2012 ANONYME, (2007).** cité par Ghazzaz .R et Toumi.H-étude de comportement de variété Washington navel, 22 p 'Thèse' 2007-2008
- ❖ **BENETEAUD E** , Les technique d'extraction , comité francais du parfum ,2011
- ❖ **BATHELOT B. mis à jour le 7 novembre 2016.** Glossaires : Marketing sensoriel | Produit  
<https://www.definitions-marketing.com/definition/proprietes-organoleptiques/>
- ❖ **CORTEAU R.,KUTCHAN T.M. & LEWIS N.G.2000** : Natural products (secondary metabolites).
- ❖ **CATIER O. et ROUX D.,2007** : Botanique,pharmacognosieet phytothérapie,3éme édition, Walter's Kluwer, par is,page 112.
- ❖ **DIALLA D., 2000.** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them: *Glinus oppositifolius* ( Azoaceae), *Diospyrosabyssinica* ( Eblanceae), entada Africana ( Meliaceae), these de doctorat de recherché faculté des sciences de l'université de Lausanne, Lausanne Suisse.
- ❖ **DMYTRO P.** Agrume pour tous les goûts consulter le 20/06/2018.
- ❖ **DUVAL L., 2012**, les huiles essentielles à l'officine, Th. Doct. Univ. Médecine et de pharmacie de Rouen, p. 137.
- ❖ **DRARENI S., 2013**, Caractérisation des huiles essentielles de fruit du *Citrus aurantium* et son action sur la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* (Coléoptère-Bruchidés), Th. Mast.
- ❖ **FERNANDEZ X. et CHEMAT F., 2012**, La chimie des huiles essentielles : Tradition et innovation, Edit. Vuibert, Paris, France, p.288.
- ❖ **JUDD W.S.,CAMPBELL C.S.,KELLOGG E.A.,STEVENS P.(2002)** ;botanique systématique une perspective phylogénétique .Edition De Boeck université.s.a,paris,p :333.
- ❖ **JACQUELINE SMADJA**,Les huiles essentielles ,université de La Réunion,2009.

- ❖ **HARBORNE JB., 1998.** Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB). 203-214.
- ❖ **HELLAL Z., 2011,** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pulchardus*), Mém.Mag., univ. Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, p. 120.
- ❖ **HIMED L., 2011.** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Citrus limon* : application à la margarine, Th. Mag. Univ. Mentouri, Constantine, Algérie, p.65.Univ. Saad DAHLEB-Blida, 52p.
- ❖ **KESBI A, 2011,** Etude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles d'*eucaalyptus globulus* dans la région de Ouargla, du diplôme de Mast., Univ. Kasdi Marbah, Ouargla, p. 44.
- ❖ **KALOUSTIAN J. ET HADJ-MINAGLOU F., 2012.** La connaissance des huiles essentielles qualotologie et aromathérapie en science et tradition pour une application pratique médicale raisonnée, collection : phtytotérapie, edition : Spinger, Paris, pp. 20-30.
- ❖ **KOBA K, SANDA K, RAYNAUD C, MANDIN D, MILLET J, CHOUMONT JP., 2003 :** Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *cymbopogoncitratu* L , *C.nerdu* L et *C .schoenanthu* . Journal de mycologie Médicale, vol 13 , N° 4- ,pp :175-180.
- ❖ **KANKO C.,SAWALIHO B.E., KONE S., KOUKOUA G., N'GUSSEN YT., 2004 :** Etude des propriétés physico-chimique des huiles essentielles de *lippiamultiflora*, *cymbopogoncitratu* , *cymbopogonnardu*, *cymbopogongiganteu*. Comptes rendus chimie7 1039-1042.
- ❖ **LUISA, Pistelli,** comparaison des systèmes d'extraction des huiles essentielle avec une référence particulière aux liquides ioniques.
- ❖ **LOUSSERT (1989)-la culture des agrumes(2013).** ITAV  
Site:www.itafov.dz.
- ❖ **LURO F., JACQUEMOND C. et CURK F.2013 .** La clémentine dans la diversité génétique des agrumes , dans : les clémentiniers et autres petits agrumes .Jacqemond C.,Curk F.Heuzet M.coord., Quae édition collection savoir-faire Versailles, France.17-36.

## REFERENCE BIBLIOGRAGHIQUE

---

- ❖ **MEDJBER N. et DJOUDI M., 1995**, Etude des huiles essentielles d'orange, essai de valorisation, Th. Ing., ENSA (ex. INA), El-harrache, p.61.
- ❖ **MAROUF A. et TREMBLIN G., 2009**, abrégé de chimie appliquée, edit., EDP sciences, coll. Grenobles sciences, Pp. 133-146.
- ❖ **MAROUF N., 1990**, Identification des huiles essentielles de pomelo, d'orange et de citron par chromatographie en phase gazeuse, Th. Ing., ENSA (ex. INA), El-harrache, p.6 3.
- ❖ **PARFONRY R., 2001**. Plantes à fruits. In : Raemaekers H. (éd), Agriculture en Afrique tropicale, Direction générale de la Coopération internationale, Bruxelles, p. 555-588.
- ❖ **PRALORAN J. C., 1971**. Les agrumes. Ed. Maison neuve et Larosse, Paris. 565 p.
- ❖ **SUTOUR S, 2010**, Etude de composition chimique d'huiles essentielles et des extraits de menthes de corse et de kumquants, Th. Doct. Univ. de corse, France, p. 222.
- ❖ **SALLE J.L. et PELLETIER J., 1991**, Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche, pp.19-45.
- ❖ **TEUSCHER E., ANTON R. et LOBSTEIN A., 2005**, Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles, Ed. Lavoisier, paris, pp 77-88.
- ❖ **VIERLING E., 2008**. Aliments et boissons ; Filières et produits. Doin éditeurs d'Aquitaine, France, 330 p.
- ❖ **VIRENDRA P. S., RAO DIWAKER** , Extraction of essentielle oil and its applications, Departement of chemical Engineering , National Institute of Technology , Rourkela-2006
- ❖ **WEBBER ET HERBERT, (1967)**-Histoire des agrumes en europe.  
Site:<http://uses.plantnet-projet.org/fr/>
- ❖ <https://www.moneden.fr/edenlive/plante/orange-sanguine>  
(L'Orange sanguine en détail). Consulter le 26/04/2018.
- ❖ <http://dictionnaire.sensagent.leparisien.fr/Boufarik/fr-fr/>

## REFEREENCE BIBLIOGRAGHIQUE

---

(Définition de Boufarik et synonymes de Boufarik) Consulter le 23/06/2018

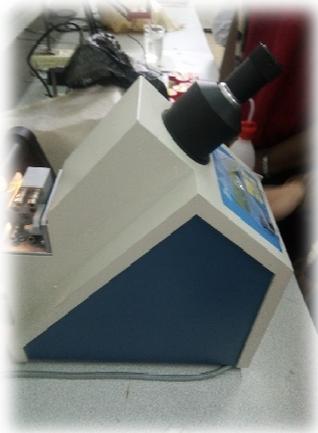
## REFERENCE BIBLIOGRAGHIQUE

---

Annexe 1 : Appareillage et petit matériel.



Balance de précision



Réfractomètre



Réfrigérant



Agitateur



ampoule à décanté

## Annexe 2 : le materiel

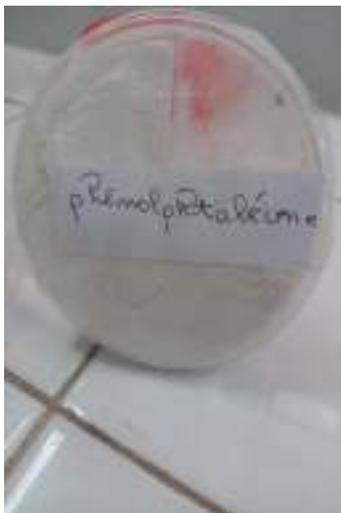
### **1. Les équipements :**

- Autoclave.
- Bain marie.
- Balance de précision.
- Etuve à 50°C.
- Réfrigérateur.

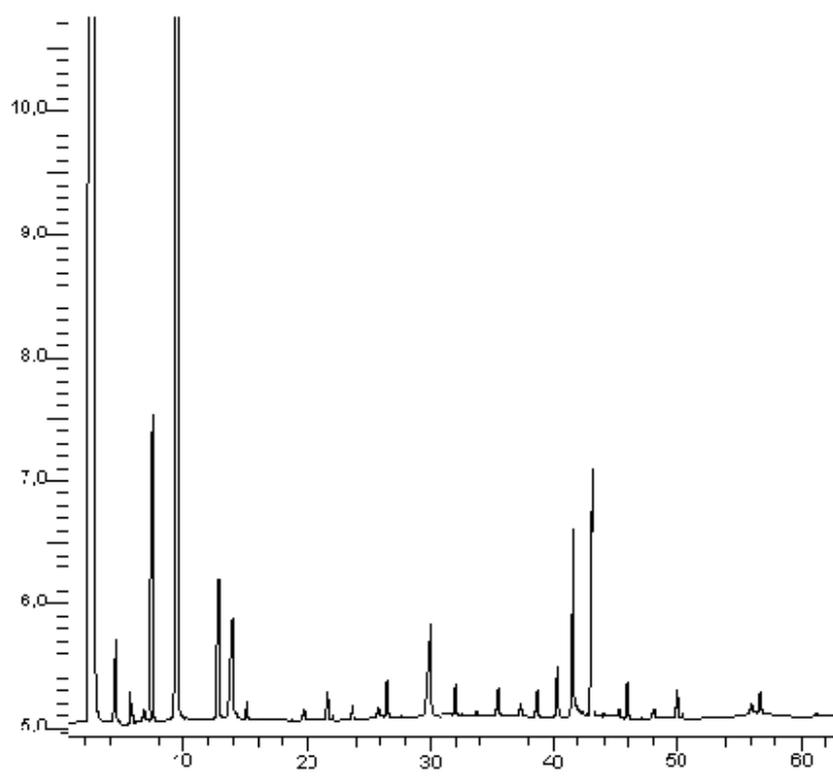
### **2. verreries :**

- Boite de pétri.
- Tubes à assai.
- Bécher.
- Fiole à 100 ml.
- Fiole à 250 ml.
- Pipettes graduée 10 ml.
- Erlenmeyer.
- Spatule.
- Mortier.
- Entonnoir.
- Burette

Annexe 3 : Les produits



Annexe 4 :



**Figure I : Profil chromatographique d'huile essentielle Thomson de analysée par la CPG.**

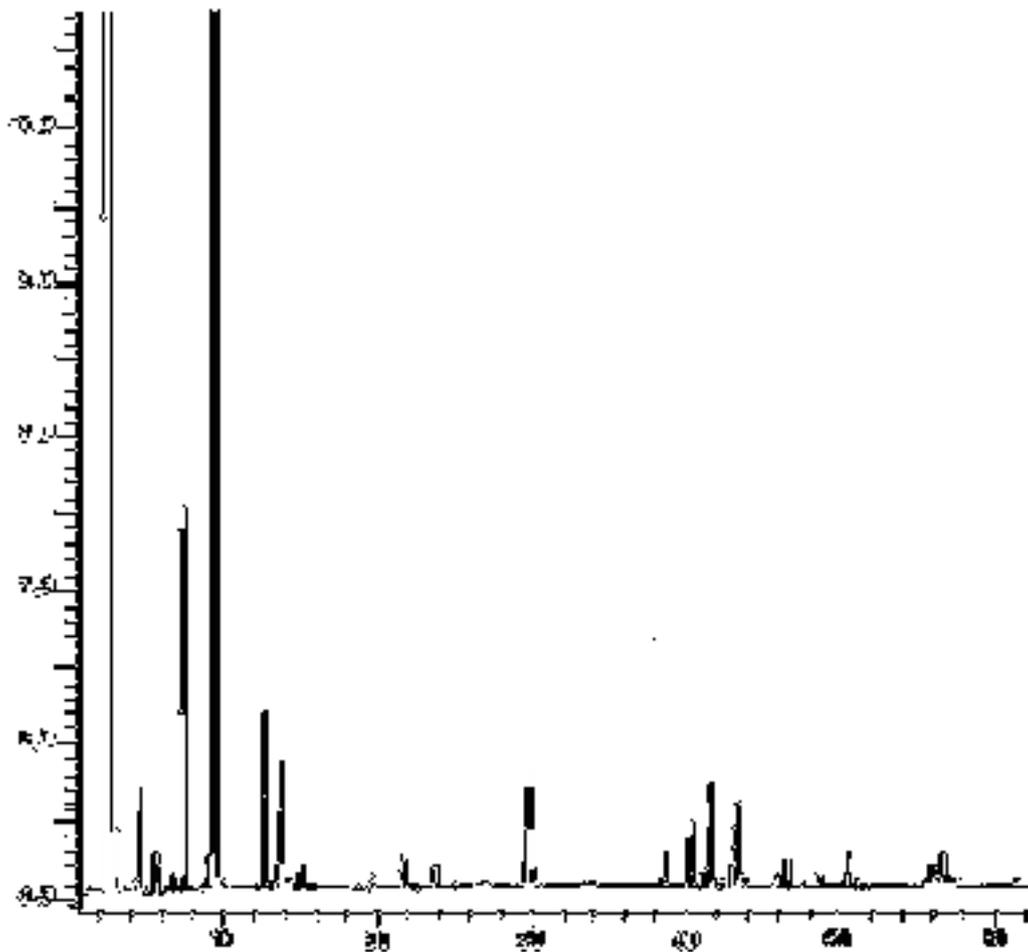
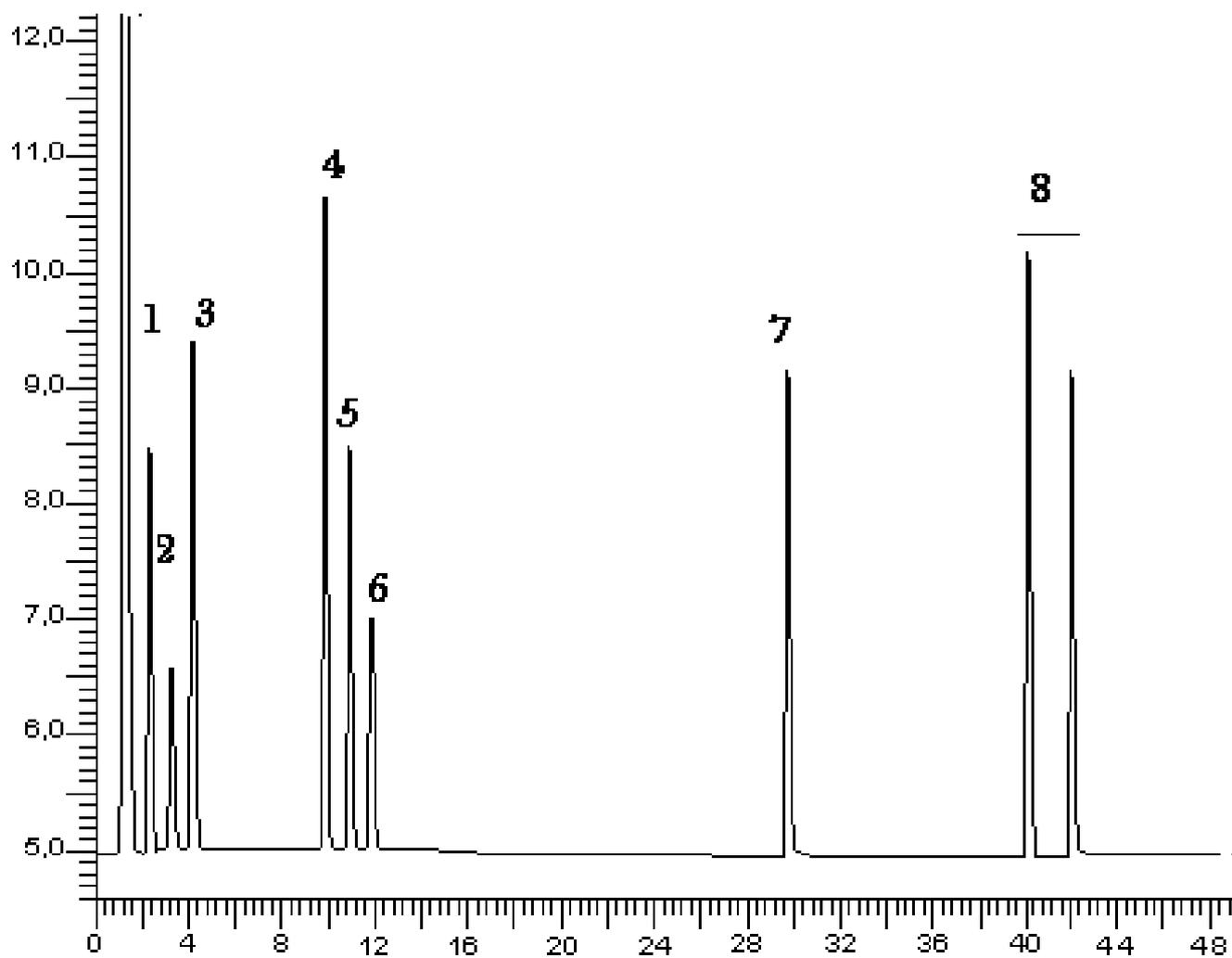


Figure II :Profil chromatographique d'huile essentielle Sanguine de analysée par la CPG.



**Figure III :Profil chromatographique solution étalon comportant les composés principaux de l'essence d'orange.**

**Tableau II : fiche de spécialisation**

Paramètres	Spécification	
	La Thomson	La Sanguine
- Caractères organoleptique <ul style="list-style-type: none"> <li>. Aspect</li> <li>. Odeur</li> <li>. Couleur</li> </ul>	Liquide, mobile, limpide Très forte Transparente	Liquide, mobile, limpide Très forte Transparente
-Teneur en eau -Rendement -densité -Indice de réfraction -Indice d'acide -Indice de saponification -Indice d'ester	77.76 1.33 0.812 1.637 2.21 14.085 11.875	75.80 0.9 0.85 1.645 2.91 14.025 11.115

--	--	--

-Identification	Tr	
Pinene	2,216	
Pinene	2.996	
Sabinene	3.815	
Myrcene	10.033	
Limonane	11.250	
Octanal	11.899	
Valencene	30.051	
Citral	{ 40.011	
	{ 41.794	
-Dosage	%	
$\alpha$ -Pinene	0.305	0.252
$\beta$ -Pinene	0.293	0.223
Sabinene	0.306	0.324
Myrcene	1.335	2.213
Limonane	93.176	90.398
Octanal	0.326	0.211
Decanal	0.284	0.246
Valencene	0.331	0.324
Citral	{ 0.042	0.132
	{ 0.032	0.211