

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DELA
RECHERCHESCIENTIFIQUE
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie Département des Biotechnologies



Mémoire de fin d'études Pour l'obtention du diplôme de master en :
sciences de la nature et de la vie
options : biotechnologie et valorisation de plantes

Thème :

Caractérisation physico chimique des huiles essentielles des
écorces fraîches et sèches de l'orange Citrus Sinensis et
évaluation de leur activité antioxydante

Présenté par :

- NEBBAK Lynda
- BERDANE Selma

Membre de jury :

Présidente :	Mme Belguendouz R	M.C.A.	(Université de Blida 1.)
Examinatrice :	Mme Ghanai R	M.A.A.	(Université de Blida 1.)
Promoteur :	Mr Bendali A	M.A.A.	(Université de Blida 1.)

2019-2020

Remerciements

Merci ALLAH de nous avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout de nos rêves.

Nous tenons à remercier profondément : Notre promoteur Mr BENDALI Abdelaziz de nous avoir confié ce travail riche d'intérêt et d'avoir accepté de le diriger à chaque étape de sa réalisation et dont l'aide précieuse que nous a été indispensable sur le plan scientifique et technique et les grandes qualités humaines : votre amabilité, gentillesse, confiance et sympathie que vous nous avez témoignées au cours de pratique, vous méritent toute admiration.

Nous remercions respectivement Mme BELGUENDOUZ d'avoir accepté de présider le jury de ce manuscrit, Mme GHANAI de nous faire l'honneur d'examiner notre travail.

Et enfin à tous nos enseignants, qui nous ont donnés les bases de la science, nous les remercions profondément.

Merci à tous et à toutes.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A ma source de mon bonheur mon cher papa et ma maman chérie Sans eux je n'ai pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études.

A mon précieux offre de dieu , mon mari Mohamed que j'aime beaucoup et qui m'a toujours soutenu dieu te garde pour moi mon homme.

A ma sœur adorable Yasmina son mari Mokhtar , mon neveu Adam et mes nièces Malak et Meryouma.

Mon frère Amine et sa femme Yasmine qui mon encourager pendant toute cette période.

Ma jumelle ma moitié Nawel qui m'a aidé, je lui souhaite que le bonheur, la réussite et la joie dans sa vie et à ma meilleure amie Khaoula que j'adore.

A ma chère binôme Lynda, ma douce sœur qui a eu la patience de me supporter durant ce mémoire et qui m'a encouragé pendant tous les Moments je t'aime beaucoup ma belle.

A Louiza , que je remercie beaucoup pour son aide et sa gentillesse

A toute ma belle famille.

A mes chères ; Kenza , Dalila ,Manel , Fella.. je vous adore.

A toutes mes amies sans exception Au quelles je souhaite une très bonne continuation dans la vie.

BERDANE Selma

Dédicaces

À mes très chers parents Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour

que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive,

À mes chers frères Remdane et Mahdi Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

À mon adorable sœur Amira,

À mon fiancé Ilies je le remercie de tout cœur pour sa fidélité, son soutien, et ses encouragements et sa présence dans ma vie

À ma précieuse Louiza pour son rôle important dans la réalisation de ce mémoire et ses encouragements.

À mes meilleures amies, Hassnae, Asma, Soumia, Ikram, Manel et Samia que j'adore.

*À ma chère binôme Selma qui m'a beaucoup aidé et soutenu durant la réalisation de ce travail, de toujours me comprendre et me soutenir je t'aime
ma sœur*

Liste des figures

Numéro de figure	Titres	Page
1	Arbre d'orange de Thomson navel.	6
2	feuilles et branches d'orange douce	7
3	les fleurs des oranges	7
4	Schéma détaillant la structure du péricarpe de l'orange	12
5	Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante	21
6	Microscopie électronique d'une coupe de péricarpe du fruit de Citrus sp. G X 100	22
7	Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clevenger.	26
8	Les écorces fraîches de <i>Citrus sinensis</i>	27
9	Formes du DPPH, (a) radicalaire et (b) réduite (Molyneux, 2004).	28
10	Huiles essentielle de l'orange douce.	29
11	Activité scavenger du DPPH des HEs exprimée en pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (mg/ml)	30
12	Activité scavenger du DPPH de l'acide ascorbique exprimée en Pourcentage d'inhibition (B) en fonction de la concentration (mg/ml) (A)	30
13	changement de coloration de la solution du jaune vers le bleu, test du pouvoir réducteur	31

Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titres	Page
1	Quelques variétés cultivées en Algérie.	3
2	Principaux composés de l'orange.	8

Liste des abréviations

- **Mt** :million tonne.
- **AFNOR** : Association Française de Normalisation.
- **C** : Citrus .
- **CG/SM (ou GC/MS)** : chromatographie gazeuse/spectrométrie de masse (ou gas chromatographie/ mass spectrométrie).
- **DPPH** : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl.
- **HE** : huile essentielle.
- **Ir**: indice de rétention.
- **IC50**: Concentration inhibitrice à 50%.
- °C : degrés Celsius.
- **Ev** : EelctronVolt.
- **KOH** : hydroxyde de potassium.
- **bs** : base sèche.
- **CPG** : chromatographie en phase gazeuse.
- **SM** : spectrométrie de masse.
- **HPLC** : chromatographie en phase liquide.
- **ERO**:Espèce Réactive d'Oxygène.
- **NSR**: Espèce Réactive d'Azote.
- **NOS** : Oxyde Nitrique Synthétase.
- **O2**: Oxygène.
- **ROS** :Reactifs Oxygen species
- **ADN** : acide désoxyribonucléique.
- **HO** : hydroxyle.
- **BHT**: butylhydroxytoluène.
- **PG**: galatepropylene.
- **Nm**: nanomètre.
- **H** : humidité.
- **Mf** : masse du matériel végétal frais.
- **Ms** : masse du matériel végétal sec.
- **R** : rendement en HE.
- **Phe** : poids de l'HE extraite.
- **Pmv** : poids du matériel végétal traité.

- **m/z**: masse/charge.
- **m/q** : masse/charge électrique.

Résumé

Ce travail a visé une étude générales sur les agrumes plus précisément la variété des orange douce *citrus sinensis* qui est originaire de la méditerrané et des régions tropicales, c'est un arbuste fruitier a importance économique et considéré comme une plantes médicinale a effet thérapeutique pour le traitement des maladies cardiovasculaire , respiratoire , digestifs et psychologique vu sa richesse en **Glucides Acides organiques ,Vitamines ,Minéraux ,Oligoéléments ,Pigments ,Flore mésophile ,Substances aromatiques et Fibres.**

Ses composés sont localisés dans plusieurs parties de la plantes dont les écorces qui sont riche en huiles essentielle ; notre résultat d'extraction par la méthode d'hydrodistillation a révélé une quantité de **0.48 ml** d'huiles essentielle de 100 gramme des oranges douce.

En effet le résultat trouvé après le séchage d'une quantité des écorces fraîches des oranges douces a montré un taux d'humidité (teneur en eau) qui est **62.30%**.

En outre, l'étude de l'activité anti oxydante des écorces fraîches et sèches a été faite par **Bouhali Halima en 2015** par le test du DPPH ; a démontré un pouvoir antioxydant avec un pourcentage d'inhibition de **11 ±0.46%** et **9.07 ±0.06%** pour les huiles essentielle du zeste frais et sec, respectivement.

Mots clés : agrume, *citrus sinensis*, huiles essentielle, activité anti-oxydantes.

Abstract

This work aimed at a general study on citrus fruits more precisely the variety of sweet orange *Citrus sinensis* which is native to the Mediterranean and tropical regions, it is a fruit shrub of economic importance and considered as a medicinal plant with therapeutic effect for the treatment of cardiovascular, respiratory, digestive and psychological diseases given its richness in carbohydrates, organic acids, vitamins, minerals, trace elements, pigments, mesophilic flora, aromatic substances and fibers.

Its compounds are located in several parts of the plant including the bark which are rich in essential oils; our extraction result by the hydrodistillation method revealed an amount of 0.48 ml essential oil in 250 grams of sweet oranges.

Indeed the result found after drying a quantity of the fresh peels of the sweet oranges showed a moisture content (water tenor) which is 62.30%.

In addition, the study of the antioxidant activity of fresh and dry bark was carried out by Bouhali Halima in 2015 using the DPPH test; demonstrated antioxidant power with a percentage inhibition of $11 \pm 0.46\%$ and $9.07 \pm 0.06\%$ for the essential oils of the fresh and dry peel, respectively.

Key words: citrus, *Citrus sinensis*, essential oils, anti-oxidant activity.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى إجراء دراسة عامة على الحمضيات بشكل أكثر دقة على مجموعة متنوعة من الحمضيات البرتقالية الحلوة التي تنتمي إلى منطقة البحر الأبيض المتوسط والمناطق الاستوائية ، وهي شجيرة فواكه ذات أهمية اقتصادية وتعتبر نباتًا طبيًا له تأثير علاجي أمراض القلب والأوعية الدموية والجهاز التنفسي والجهاز الهضمي والنفسية نظرًا لغناها بالكربوهيدرات والأحماض العضوية والفيتامينات والمعادن والعناصر النزرة والأصبغ والنباتات الوسيطة والمواد العطرية والألياف.

توجد مركباته في عدة أجزاء من النبات بما في ذلك اللحاء الغني بالزيوت الأساسية ؛ أظهرت نتيجة الاستخلاص بواسطة طريقة التوسيع المائي وجود كمية 0.48 مل من الزيت العطري في 100 جرام من البرتقال الحلو.

وبالفعل ، فإن النتيجة التي تم التوصل إليها بعد التجفيف أظهرت كمية من القشور الطازجة للبرتقال الحلو محتوى رطوبة (نسبة الماء) وهو 62.30%.

بالإضافة إلى ذلك ، أجرى بوهالي حليلة دراسة النشاط المضاد للأكسدة للحاء الطازج والجاف في عام 2015 باستخدام اختبار DPPH ؛ أظهرت قوة مضادة للأكسدة مع نسبة تثبيط $11 \pm 0.46\%$ و $9.07 \pm 0.06\%$ للزيوت الأساسية للقشر الطازج والجاف على التوالي.

الكلمات المفتاحية: حمضيات ، حمضيات سينينيسيس ، زيوت عطرية ، نشاط مضاد للأكسدة

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Abstract

تلخيص

Partie bibliographique

Introduction.....01

Chapitre I : les agrumes

I.1. Description morphologique02

I.2. Répartition géographique.....02

I.3. Les exigences climatiques des agrumes.....03

I.4. Les exigences édaphiques04

Chapitre II : Citrus sinensis

I.1. Taxonomie05

II.2. Description botanique06

II.3. Composition chimique et valeur nutritive d'orange08

II.4. Utilisation et effets thérapeutiques des oranges11

II.5. Description morphologique11

Chapitre III : Les huiles essentielles

III.1. Définition des huiles essentielles13

III.2. Critères déterminants la qualité des huiles essentielles.....13

III.3. Caractérisation des huiles essentielles.....13

III.3.1. Caractéristiques organoleptiques.....14

III.3.2. Propriété physico-chimiques.....15

III.3.3. Analyse physico-chimique des huiles essentielles.....15

III.4. Activités biologiques et pharmacologiques des HES.....17

III.5. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....18

III.6. Conservation des huiles essentielles.....	19
III.7.Toxicité des huiles essentielles.....	19
III.8. Quelques conseils lors d'une intoxication aux HE.....	20
III.9. Techniques et méthodes d'extraction.....	20

Chapitre IV : L'oxydation

IV.1. Définition de l'oxydation	23
IV.2. Les radicaux libres	23
IV.3. Classification des antioxydants.....	24
IV.4. Mécanisme d'action des antioxydants.....	25

Partie expérimentales

I. Matériel et méthodes

I.1.Matériel.....	26
I.1.1.Matériel végétal.....	26
I.2.Méthodes.....	26
I.2.1. Préparation du matériels végétales	26
I.2.2. Extraction de l'huile essentielle.....	27
I.2.3. Taux d'humidité.....	27
I.2.4. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante des écorces fraîches et sèches d'orange douce.....	28

II. Résultats et discussion

II.1. Résultats d'extraction des huiles essentielles.....	29
II.2. Le taux d'humidité.....	29
II.3.Activité antioxydante réalisé par Bouhali Halima en 2015.....	29
II.3.1. Activité scavenger du radical DPPH.....	29

Conclusion et perspectives	32
---	-----------

Références bibliographiques

Introduction

De nos jours, les agrumes sont les fruits les plus consommés dans le monde. La production mondiale des agrumes se situe autour de 66,4 millions de tonnes en 2010 avec une augmentation de 14 % par rapport à celle enregistrée durant la période 1997- 1999. Et de 60 millions de tonnes en 2000, dont 18 millions de tonnes produites par le Brésil à lui seul, suivi par la Floride avec 11 millions et le bassin méditerranéen avec 10 millions.(Loeillet, 2010). Le Maroc est l'un des premiers producteurs d'agrumes. Il forme avec l'Espagne, Palestine et l'Italie les principaux pays exportateurs de la région méditerranéenne. (Zaouiet, 2010). En Algérie, Selon Aouane et Ghezli (2001), à l'instar de l'arboriculture fruitière, l'agrumiculture occupe une place primordiale et constitue l'une des préoccupations majeures des décideurs au niveau du ministère de l'agriculture algérien 55,000 ha de superficie sont productives en 2011 dont 56 % se situent au centre du pays. (Houaoura 2013)

La production des agrumes dépend de 4 facteurs, les plus importants sont le matériel végétal (porte-greffe, greffon) et le climat (température, pluie, humidité, vent...) ; d'où « La température est le facteur le plus important dans la date de manifestation des étapes de développement de la flore » En Partant du fait que les hausses des rendements dépendent fortement de bon déroulement des stades phénologiques tels que le débourrement et la floraison (dont les fleurs constituent les organes les plus vulnérables aux fluctuations des températures et des précipitations).

A l'heure présente, les plantes sont encore le premier réservoir des principes actifs utilisées en plusieurs domaines (Fouché e tal., 2000). Notre choix s'est porté sur le l'espèce végétale : *Citrus sinensis* les extraits naturels des plantes contiennent une variété de composés (huiles essentielles) auxquels sont attribuées diverses activités thérapeutiques. Certains d'entre eux sont destinés au traitement des troubles liées au stress oxydatif et qui sont de plus en plus propagés dans notre monde actuel.

Nous présentons dans ce mémoire une recherche sur les *Citrus sinensis* : la morphologie, distribution, la caractérisation physique, chimique ainsi que son rôle dans le traitement des stress oxydatif.

Chapitre I : Les agrumes

I.1. Description morphologique

Les agrumes sont des fruits charnus de type baie avec un péricarpe structuré en trois parties bien différenciées l'épicarpe (Flavédo), mésocarpe (Albédo) et l'endocarpe (pulpe). D'un point de vue botanique tous les fruits des citrus cultivés présentent la même structure anatomique (Ramful et *al.*, 2010). La position taxonomique des agrumes d'après (JACQUEMEND et BICOLLEL1986) se présente par la Classification de TANAKA :

Embranchement : Spermaphytes.

Sous/ embranchement : Angiospermes.

Classe : Eudicots

Ordre : Géraniales.

Famille : Rutaceae.

Sous / famille : Aurantoideae.

Tribu : Citreae.

Sous/ tribu : Citreneaee.

Genre : Citrus.

I.2. Répartition géographique :

- **Dans le monde**

La production des agrumes est très diversifiée avec 68 Mt d'oranges ; 29 Mt des petits agrumes ; 14 Mt de citrons et de limes et 5 Mt de pomelos en 2009. (Loeillet, 2010). La production mondiale des oranges est de l'ordre de 66,4 millions de tonnes en 2010 ce qui représente une hausse de 14 pour cent par rapport au volume enregistré pendant la période 1997-1999. Et de 60 millions de tonnes en 2000, dont 18 millions de tonnes produites par le Brésil à lui seul, suivi par la Floride avec 11 millions et le bassin méditerranéen avec 10 millions. (Anonyme, 2012).

Les plus grands producteurs d'orange sont le Brésil, les États-Unis, la Chine, l'Espagne et le Mexique, Inde, Iran, Italie, Egypte, Indonésie.

- **En Algérie**

La culture des Citrus est localisée essentiellement dans les zones irrigables de la partie Nord du pays, où elle trouve la température clémente qui assure sa réussite. La plaine de la Mitidja ; zone potentielle en agrumiculture, elle couvre une surface de : 36 219 ha en 2013 ce qui représente environ 56,4% de la superficie agrumicole totale.

- **Les variétés d'oranger cultivées en Algérie**

Les variétés précoces, Thomson et Washington navel, qui nous viennent de la Californie sont les plus cultivées, alors que l'orange d'été Valencia-Late, commence à peine à être connue. Son extension n'est pas douteuse; elle arrive à une période où les fruits de ce genre sont rares. (Rebour, 2007). Le tableau suivant engendre quelques variétés cultivé en Algérie:

Les Navel (précoce)	Les blondes (tardive)	Sanguines (semi précoce)
-Washington navel	-Valencia Late	-Sanguine
- Navelina	-Salustiana	-Sanguinelli
- Thomson navel	-Shamouti	-Double Fine
-Washington Bernard	-Hamlin	-Maltaise

Tableau 01 : Quelques variétés cultivées en Algérie (Anonyme, 2007)

I.3. Les exigences climatiques des agrumes

- **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).

- **La pluviométrie**

Selon le même Auteur 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, L'humidité de l'air : Selon le même Auteur 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.

I.4. Les 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 conviennent en général mieux. Sur le plan physique, il y a lieu de retenir les terrains répondant aux critères suivants :

- Sol homogène et profond (1m au minimum).à drainage externe et interne satisfaisant. (Loussert, 1989).Les portes greffes : En agrumiculture, le porte-greffe joue un rôle déterminant dans la vitesse de croissance et la vigueur des arbres. En effet, certains porte-greffes confèrent aux variétés une croissance rapide tels que le bigaradier, le Citrange '*Troyer*' et le *Rough lemon*; et d'autres. (Anonyme, 1968). 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).

Chapitre II : Citrus sinensis

Les Rutaceae comprennent plus de 700 espèces, en grande partie arborescente, appartenant aux pays chauds. C'est une famille qui n'offre qu'un petit nombre de caractères. La systématique des Citrus est très difficile à cause des croisements intergénétiques et interspécifiques qui s'opposent facilement entre eux.

Il existe deux systèmes principaux de classification pour le genre Citrus :

Celui de Suingle qui ne comprend que 16 espèces et celui de TANAKA beaucoup plus précis avec 156 espèces.

Les principales espèces cultivées du genre Citrus sont :

Citrus nobilislour : Mandarinier à gros fruits.

Citrus unichin(MAK) Marc : Mandarinier à Satsuma.

Citrus deliciosa Ter : Mandarinier commun.

Citrus reticulata blanc : Clémentinier.

Citrus grandis (L) OSB : Pamploussier.

Citrus paradisi Macf : Pomelo.

Citrus limon : Citronnier.

Citrus limonia : Lime mandarine.

Citrus limetta: Limette.

Citrus limetoidestan : Limettier doux.

Citrus amantium L : Bigaradier.

Citrus sinensis (L) : Oranger.

II.1. Taxonomie

Règne : Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Sapindales

Famille: Rutacées

Sous famille : Aurantoideae

Tribu: Citreae

Sous-tribu: Citrinae

Espèce: Citrus sinensis

Genre: Citrus

II.2. Description botanique

- **L'apparence** : La forme et la croissance des arbres varient selon leur génétique et la matière dont ils sont implantés (soit par ensemencement des graines soit par greffage). Généralement, les citronniers *Citrus limon* présentent de longues branches qui ont une croissance assez lente, la forme typique chez *Citrus sinensis* (orange douce) tend à être conique vers le sommet et rétrécie vers la base de l'arbre. Avec un tronc droit ; les branches sont longues, compactes et horizontales (**Figure 01**).

Chez les pamplemoussiers *Citrus grandis*, le tronc est large (0,5-0,75m de diamètre) avec un semis conique (PRALORON, 1971). Les arbres issus de graines tendent à avoir plus d'épines et une croissance plus droite de branches que ceux issus à partir du greffage (ROBERTO, 1982).



Figure 01 : Arbre d'orange de Thomson navel. (La ferme pilote BELAIDOUNI, 2016)

- **Les feuilles et les branches** : Les feuilles sont simples, de 4 à 8 cm de longueur, unifoliées, denses, avec des pétioles ailés et articulés. Elles sont oviformes, ovales ou elliptiques, avec un aigu ou obtus, et contiennent des essences dans des poches, libres une fois écrasées (**Figure 02**). Les jeunes brindilles sont orientées vers le haut ; elles sont vertes, axillaires et unilatérales tandis que les brindilles et les branches plus anciennes, sont de couleur terreuse (circulaire dans la section transversale) et multilatérales (MACKEE, 1985).



Figure 02 : feuilles et branches de d'orange douce.

- **Les fleurs** : Les fleurs ont entre 2 à 4 cm de diamètre, axillaires, parfumées, simples souvent parfaites (ayant les étamines et les pistils fonctionnels) et parfois staminées (comportant des étamines tout en étant dépourvues de pistils), le calice est lobé, composé généralement de cinq pétales avec des glandes d'essences aromatique. Les étamines sont entre 20 et 40. Les pétales sont de couleur blanc-rosâtre, rose-violette, vers l'extérieur chez le citron et rougeâtre chez les autres variétés d'agrumes (**Figure 03**). L'ovaire est sur monté d'un stigmaté en masse, composé de 8 à 18 loculés (cavités), avec 4 à 8 ovules par loculé, dans deux rangées (SOMON, 1987).



Figure 03: les fleurs des oranges.

- **Les fruits** : Le genre *Citrus* comme toutes les plantes de la famille des rutaceae, possède un fruit très particulier, « Agrume » ou « Hespéride ». C'est une baie indéhiscente puisqu'il est charnu, globuleux ou ovoïdal et contient des pépins, mais la partie charnue très juteuse a une origine particulière ; elle est due à la prolifération de poils succulents issus de l'endocarpe, c'est la partie consommée.

La taille des fruits varie de 4cm de diamètre pour le citron à plus de 25cm pour le pamplemousse (STONE, 1970). L'endocarpe charnu est divisé en 7 à 14 segments, séparés par des sepal minces (cloison des segments). Chaque segment contient des pulpes (vésicules à jus) qui contiennent un jus acide et parfois sucrée. Le mésocarpe blanc a une consistance spongieuse qui couvre de nombreuses glandes sécrétrices d'essence qui donnent son odeur particulière à l'orange (PURSEGLOVE, 1974).

- **Les graines :** Les graines sont blanches à verdâtres, aplaties et angulaires. Elles sont généralement polyembryonique, signifiant que plusieurs embryons sont " zygotiques" (résultant de l'union d'un gamète male et d'un gamète femelle) ou « Nucellaire » (qui a rapport aux nucelles) .Les embryons zygotiques sont issus de la pollinisation de l'ovaire, c'est-à-dire de la reproduction sexuée, donc, leur qualité corticole ne soit pas toujours semblable avec celle de l'arbre parent, tandis que les embryons nucellaires sont complètement issus de la plante mère et présentent des caractéristiques très similaires avec celle de l'arbre parent (MANNER , 2005).
- **Le système racinaire Chez les oranges :** le système racinaire occupe plus de 70% de la taille de l'arbre, les racines ont un pivot qui peut dépasser 2m au dessous de la surface, ces racines fibreuses se prolonge généralement bien au-delà de la canopée (écran formé par la partie supérieure de la végétation du verger), (WALTER et SAM 2002).

II.3.Composition chimique et valeur nutritive d'orange

L'orange contient de glucides (40% de saccharose), de la vitamine C, vitamines P, B1, B9, E, provitamine A. Riche en calcium, riche en pectines, elle a un rôle de régulateur du transit intestinal. Elle contient une flore mésophile (levures et lactobacilles) indispensable pour une bonne digestion (Bousbia, 2011) Les principaux composés de l'orange sont résumés dans le Tableau° 02.

Tableau 02 : Principaux composés de l'orange (Anonyme, 2007)

Constituants	Teneurs
Glucides	8.5 a 12 % dans le fruit a maturité, représente par le saccharose (40 %). Fructose et glucose
Acides organiques	1.2 %, surtout de l'acide citrique et de l'acide malique
Autres composés Energétiques	Lipides concentres dans les pépins peu de protéines

Vitamines	Teneur élevée en vitamine C (40 a 80 mg pour 100g). Vitamines hydrosolubles qui sont toutes des vitamines du groupe B (B1 et B9, en particulier), vitamine A (0.05 a 0.2 mg pour 100g), vitamine E (0.24mg pour 100g).
Minéraux	Calcium, Magnésium, Potassium et Phosphore
Oligoéléments	Fer, Cuivre, Zinc, Manganèse, Nickel, Iode, trace de Bore et de Sélénium Fibres
Fibres	Une teneur de 2.4 % en moyenne, elles ont l'originalité d'être riches en pectine (environ 50 %)
Flore mésophile	Levures et lactobacilles indispensables à sa bonne digestion
Substances aromatiques	Ce sont des composés complexes caractéristiques de ce fruit (aldéhydes, esters), des essences odorantes
Pigments	Donnent à la pulpe sa couleur plus ou moins marquée jaune orange pour les flavonoïdes et les caroténoïdes, jaune pour les xanthophylles, rouge ou rouge violace pour les anthocyanes

Composition chimique des écorces : La composition chimique des écorces d'agrumes est sujette à des variations sous l'influence de divers facteurs et notamment la variété. De plus, dans une même variété, la teneur en divers composés dépend des facteurs climatiques et environnementaux).

Les écorces d'agrumes présentent des teneurs élevées en eau (variant de 2,97-3,79 g/g bs), soit 60% à 75% en base humide) et en sucres solubles (6,52-47,81 g/100g bs). De ce fait, c'est un coproduit hautement périssable qui fermente et présente un développement des moisissures (Ferhat et *al.*, 2011;Kammoun et *al.* , 2011). De plus, ce coproduit est riche en protéines (1,79-9,06 g/100g bs) et en minéraux (2,52-10,03 g/100 bs) alors que les lipides sont très peu abondants (de 0,48 jusqu'à 4 g/100g bs).

Les écorces sont particulièrement riches en composés digestibles et offrent de nombreuses possibilités d'utilisation pour l'alimentation fonctionnelle humaine et animale ainsi qu'en tant que complément alimentaire (Bampidis & Robinson, 2006). L'utilisation des écorces fraîches en alimentation pour bétail est limitée à cause des maladies que peut provoquer la consommation de ce produit (mycotoxicose, para kératose du rumen) (Duoss-Jennings et al., 2013). Les écorces d'agrumes sont une source importante d'essences odorantes et d'huiles essentielles de 0,6 à 1% (Oreopoulou et al., 2007; Yeoh et al., 2008 ; Hosni et al., 2010 ; Farhat et al., 2011). Les écorces contiennent aussi des pigments, essentiellement des caroténoïdes (0,01-0,20 g/100g bs) mais aussi des anthocyanes (dans le cas des oranges Sanguines).

D'autre part, plusieurs études montrent que les écorces d'agrumes contiennent aussi des composés biologiquement actifs comme la vitamine C (0,109-1,150 g/100g bs) (Goulas et al., 2012 ; Barros et al., 2012) et les fibres alimentaires (6,30-82,69 g/100g bs) (Ghasemi et al., 2009 ; Magda et al., 2008). Les écorces d'agrumes sont aussi riches en composés phénoliques (0,67-22,32 g/100g bs).

- **Les Pigments :** La couleur verte des oranges immatures est due aux chlorophylles. Au cours de la maturité, la couleur de l'épicarpe ou flavédo vire du vert au jaune orangé. Ce virage résulte de la dégradation des chlorophylles et l'augmentation de la synthèse des caroténoïdes associée à la disparition des chloroplastes et la formation des chromoplastes (Meléndez-Martínez, 2007). Ainsi, la couleur des écorces et de la pulpe de la plupart des oranges matures est due aux pigments caroténoïdes. La couleur de certaines variétés appelées orange sanguines telles que l'orange Maltaise est due aux caroténoïdes et aux anthocyanes. Une alimentation riche en caroténoïdes peut diminuer le risque du cancer, la dégénérescence musculaire, les dommages de la peau induits par les brûlures du soleil et les maladies cardiovasculaires (Aust et al., 2001;

Wang et al., 2008).

- **Huiles essentielles :** Les écorces d'oranges sont riches en huiles essentielles qui sont localisées dans des glandes situées dans le flavédo. Ces huiles essentielles sont extraites à partir des écorces par une simple pression à froid ou bien simultanément avec l'extraction du jus. En effet, les huiles essentielles d'oranges peuvent être extraites à froid. Ces huiles sont ensuite entraînées par un courant d'eau froide. Une émulsion constituée d'eau et d'huile se forme (Dugo et al., 1997; Oreopoulou et al., 2007 ; Yeoh et al., 2008; Sahraoui et al., 2011). Les huiles essentielles des écorces d'oranges peuvent aussi être extraites par la distillation à la vapeur

ou l'hydro-distillation (Gamiz-Garcia & Luque de Castro, 2000 ; Gamarra et *al.*, 2006) et par des solvants organiques (Lin et *al.*, 2010).

- **Les Fibres :** Les écorces d'agrumes sont riches en fibres (13,9-78,66 g/100g bs) et surtout en fibres hydrosolubles (pectines). En effet, les teneurs en pectine varient selon la variété d'agrumes : 2,58-3,73% pour la mandarine, 6,52-13,00% pour le citron et 0,22-23,02% pour les oranges . Les écorces d'agrumes contiennent aussi des fibres insolubles (l'hémicellulose, la cellulose et la lignine). Les teneurs en lignine sont de l'ordre de 7,52% pour les oranges et de 13,54% pour la mandarine (Kratchanova et *al.*, 2004; Liu et *al.*, 2006; Marin et *al.*, 2007; Wang et *al.*, 2008), alors que pour la cellulose, c'est l'orange qui a la teneur la plus élevée par rapport à la Mandarine et au citron respectivement 30,53% et 23,06%.
- **Les Minéraux:** Les écorces d'agrumes sont riches en minéraux majeurs (Ca, Mg, K, Na) et quelques minéraux mineurs (Zn, Fer, Cu). Ces teneurs varient selon la variété considérée d'agrumes. Selon Kammoun et al. (2011) les oranges Maltaise sont riches surtout en calcium (1201,21 mg/100g bs) et en potassium (220,40 mg/100g bs) alors que les mandarines sont, essentiellement, riches en potassium (641-831 mg/100g bs) (Xu et al., 2008). Concernant les éléments mineurs, on remarque que les oranges « Maltaise » contiennent des concentrations appréciables en zinc, en cuivre et en fer (1,86; 1,13; 1,58 mg/100g bs) par rapport à la mandarine qui en contient respectivement 0,42; 0,31; 2,67 mg/100g .

II.4.Utilisation et effets thérapeutiques des oranges

De nombreuses études ont montré que les espèces du genre Citrus sont riches en principes actifs tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes, utilisés à des fins thérapeutiques ou dans les domaines cosmétiques ou alimentaires (Kahkonen et *al.*, 1999 ; Shahaib et *al.*, 2011).

La saveur amère et aromatiques de la pulpe d'orange amère ouvre l'appétit et facilite la digestion (Touscher et *al.*, 2005).

- La pulpe d'orange fraîche est utilisée pour traiter les maladies de la peau : l'acné, soins de visage. (Valnet, 2001).
- Le citron a été utilisé contre l'insomnie, l'asthme et dissoudre des cristaux rénaux (Okwu and Emenik, 2006).
- Stimulation de l'appétit (zestes) (Santo et *al.*, 2011; Karimi et *al.*, 2012).
- Activité anti-microbienne, anti-inflammatoire, anti-oxydante, anticancéreuse (Del-rio et *al.*, 2004).
- Abaissement de la pression artérielle, traiter l'obésité (Ramful et *al.*, 2011).

II.5. Description morphologique

Les fruits des principales espèces et variétés cultivées du genre *Citrus* diffèrent par leur coloration, leur forme, leur calibre, la composition de leur jus et leur époque de maturité. Cependant, tous les fruits des *Citrus* cultivés présentent la même structure anatomique présentée dans (la figure 04 Ramful Et Al., 2010). D'un point de vue botanique, les agrumes sont des fruits charnus de type baie avec un péricarpe structuré en trois parties bien différenciées : l'épicarpe appelé flavédo, le mésocarpe appelé albédo et l'endocarpe (pulpe). L'épicarpe est la surface périphérique du fruit. Il est coloré par des pigments caroténoïdes être présente 8 à 10% du fruit. Il contient de nombreuses glandes sécrétrices d'essences aromatiques qui sont réparties de façon irrégulière.

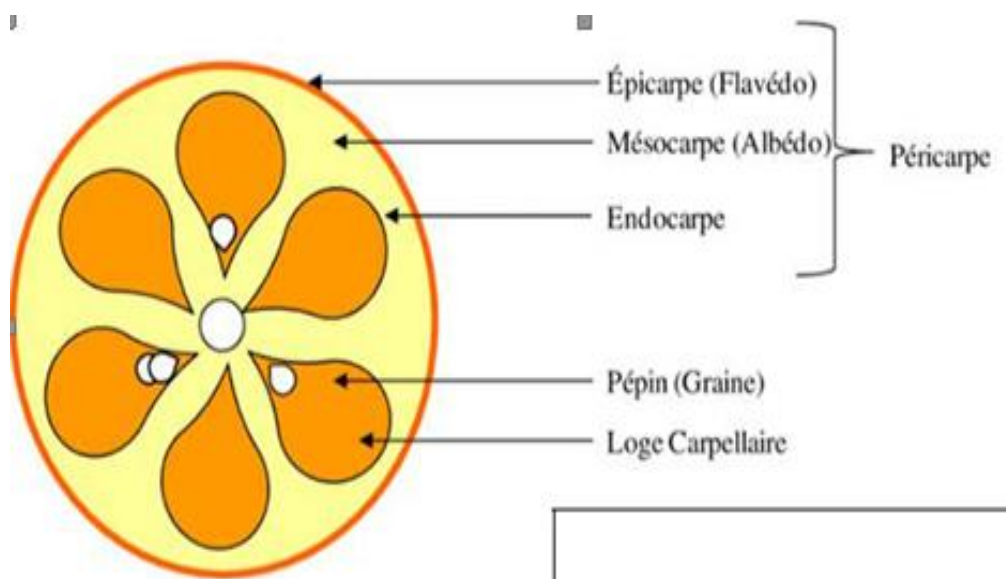


Figure 04 : Schéma détaillant la structure du péricarpe de l'orange D'après Huet,

Ces glandes sont des poches bordées par plusieurs assises de cellules sécrétrices dont la formation fait intervenir des cellules épidermiques et des nodules méristématiques Superficiels. Le mésocarpe est la couche intérieure blanchâtre, de structure spongieuse, plus ou moins épaisse par rapport à la taille du fruit, elle peut constituer 12 à 30% du fruit. Elle est intimement associée à l'épicarpe avec lequel elle forme ce qu'il est convenu d'appeler les écorces d'agrumes. L'endocarpe est la partie comestible d'agrumes. Il est constitué d'une fine membrane qui tapisse les nombreuses loges carpellaires.

Du côté interne, cette membrane porte des poils succulents dont l'ensemble forme la partie comestible ou pulpe renfermant les graines ou pépins (Huet, 1991; Albagnac, 2002 ; Bennici et *al.*, 2004 ; Ramful et *al.*, 2010)

Chapitre III : les huiles essentielles

III.1. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles (essences = huiles volatiles) sont : «des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation». . (Jean-François Cavalli 2002).

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveurs Généralement fortes, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, Par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression, par solvant ou par d'autres Méthodes (Belaiche, 1979 ; Valnet, 1984 ; Wichtel et Anthon, 1999). La norme française AFNOR NF T75-006 définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques » (Garnero,1996).

Elles ont des applications importantes en médecine soit par leur qualité odorante soit pour soulager la douleur ou pour leur efficacité physiologique (Valnet, 2003).

III.2. Critères déterminants la qualité des huiles essentielles

Jouault (2012) a rapporté que les critères définissant la qualité des huiles dépendent de plusieurs facteurs pouvant être résumés comme suit :

- a) **La sélection** de la plante qui est tributaire du genre et de l'espèce botanique ;
- b) **Le chémotype (chimiotpe)** représentant les différents panels de molécules chimiques que des plantes de la même espèce peuvent produire si elles sont placées dans des conditions de cultures différentes. Le chémotype dépend de l'ensoleillement, de la température, de l'humidité, de la nature du sol, de la pression atmosphérique, de la photopériode.
- c) **La période de récolte** : la récolte doit se faire au moment où les principes actifs les plus intéressants produits par la plante sont à leur concentration maximale ;
- d) **La conservation des huiles essentielles** : elle doit se faire dans des flacons en verre opaque hermétique, dans un endroit frais, à l'abri de la lumière et de la chaleur pour éviter leur oxydation et la polymérisation de leurs composants.

e) **La partie de la plante** considérée pour l'extraction est déterminante pour la qualité de l'huile. En effet, les différentes parties d'une plante ne possèdent pas un équipement enzymatique uniforme, ce qui entraîne une différence de composition dans les constituants produits. Il est donc impératif de préciser la partie considérée lors de l'extraction de l'HE ; Elles sont largement répandues chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes, les sommités fleuries, les feuilles, les rhizomes, les fruits, les écorces et les graines.

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et à assurer leur défense. En effet, étant fixées au sol elles n'ont que les composés chimiques issus du métabolisme secondaire, stockés à l'endroit où ils seront le plus utiles comme arme de défense contre les parasites et les déprédateurs. Les plantes possédant ces composés toxiques, qualifiés de phagodétérants ou d'inappétants, sont moins consommées (Houël, 2011).

III.3. Caractérisation des huiles essentielles

L'importance des huiles essentielles dans divers domaines (pharmacie, cosmétique, Parfumerie...) nous amène à vérifier leur qualité. La caractérisation d'une huile consiste à :

- Vérifier ses caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur) ;
- Déterminer ses indices physico-chimiques (densité, indice de réfraction, et indice d'acide) ;
- Obtenir son profil chromatographique et une quantification relative des différents Constituants.

III.3.1. Caractéristiques organoleptiques

Chaque extrait est caractérisé par ces propriétés organoleptiques telles que l'odeur ,l'aspect et la couleur.

- **L'odeur** : L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habileté des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parviennent à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'au dix millièmes de grammes par litre d'air.
- **La couleur** :La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur d'une huile donnée.
- **L'aspect** : L'aspect d'un extrait dépend des produits qui la constituent, qui peuvent nous apparaître sous forme solide, liquide ou bien solide- liquide.

III.3.2. Propriétés physico-chimiques

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) étaient autre fois les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

- **Densité** : La densité ou la masse volumique est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume, donc c'est le rapport du poids d'un certain volume d'un corps et le poids du même volume d'un corps de référence (eau).
- **Indice de réfraction** : L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante (Mohamdi Z, 2005). L'indice de réfraction n'a pas d'unité car c'est le rapport de deux vitesses. Plus la lumière est ralentie, plus la matière a un indice de réfraction élevé. L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. Il est supérieur à ceux de l'eau à 20°C = 1.3356, et de l'huile d'olive à 20°C = 1.4684. Ceci montre leur richesse en composants qui dévient la lumière polarisée.
- **Indice d'acide** : C'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration. (Mohamdi Z, 2005) .

III.3.3. Analyse physico-chimique des huiles essentielles

Les propriétés physico-chimiques sont des indices propres constants d'une substance pure. Elles sont toujours mesurées, mais elles sont indiquées à titre indicatif, car la complexité des huiles essentielles ne permet pas de détecter les fraudes uniquement grâce à elles. L'analyse physico-chimique reste donc indispensable et la mieux adaptée pour connaître la composition exacte d'huile essentielle, et donc la plante de laquelle elle est extraite. L'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles fait appel à plusieurs techniques et méthodes. Parmi ces méthodes nous parlons sur les méthodes micro analytiques qui permettent l'identification et le dosage des produits même à l'état de traces. Ces méthodes consistent en l'utilisation des techniques de séparation et d'analyse des structures chimiques.

- **Chromatographie en phase gazeuse**

Il s'agit d'une technique de chimie analytique qui permet de séparer des composés volatils ou volatilisables sans dégradation (non-thermolabiles). Son pouvoir de séparation dépasse celui de toutes les autres techniques, du moins pour les huiles essentielles.

La chromatographie en phase gazeuse CPG est une technique très répandue. Elle possède plusieurs avantages : sensibilité, polyvalence, rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation, qui augmentent plus son intérêt (Rouessac. F *et al.*, 2007).

La technique a été perfectionnée et permet maintenant de séparer les constituants des mélanges très complexes contenant jusqu'à 200 composés (Mendham *et al.*, 2005). Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules (Burgot. G *et* Burgot. J, 2011).

- **La spectrométrie de masse**

La spectrométrie de masse (mass spectrometry ou MS) est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z).

Le spectromètre de masse est souvent couplé avec un système de chromatographie en phase gazeuse, et cette association, d'une méthode séparative et d'une méthode d'identification, permet d'étudier des mélanges complexes à l'état de traces (quelques nano grammes de mélange). Le principe de la spectrométrie de masse est le suivant :

- Un composé organique introduit dans le spectromètre de masse est ionisé par bombardement électronique à 70 eV. L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé.
- Il peut y avoir des ruptures des liaisons chimiques au sein de l'ion moléculaire, formant ainsi des ions fragments caractéristiques puisque cette dissociation éventuelle ne se fait pas au hasard mais selon des mécanismes bien déterminés.
- Ces ions fragments sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse/charge par l'application d'un champ magnétique et/ou électrique, puis collectés par un détecteur.

- L'ensemble de ces ions fragments constitue le spectre de masse dont la lecture permet l'identification de la structure moléculaire

- **Analyse par couplage CPG/SM**

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM.

La chromatographie en phase gazeuse sépare des fractions moléculaires composant l'échantillon en se basant sur la vitesse de déplacement et le temps de rétention mis pour parcourir une colonne remplie d'une phase stationnaire. La spectroscopie de masse utilise des sources énergétiques pour ioniser, fragmenter et enfin séparer les groupements moléculaires selon le rapport masse/charge électrique (m/q).

La combinaison de ces deux techniques d'analyses CPG/SM permet de séparer les composants de l'échantillon et d'identifier chaque composant, donc de faire une analyse complète aussi bien qualitative que quantitative du produit à analyser. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (I_r) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres. L'avantage d'un couplage en chaîne d'une interface chromatographique avec un spectromètre est la possibilité d'analyser le spectre individuel d'un composé.

III.4. Activités biologiques et pharmacologiques des HEs

Les huiles essentielles, par leurs propriétés nombreuses et variées, sont utilisées dans différents secteurs : en parfumerie, en cosmétologie, en conserverie, en pâtisserie, dans la fabrication des mastics, des condiments, des insecticides, et dans les industries pharmaceutiques. Ceci a été prouvé par plusieurs études (Dorman et Deans., 2000 ; Schelz et *al*, 2006 ; Lahlou., 2004 ; Rota et *al*., 2008 ; Prabuseenivasan et *al* ., 2006). Depuis longtemps, les huiles essentielles sont utilisées en thérapeutique. Les applications thérapeutiques des huiles essentielles sont vastes. Elles requièrent de bonnes connaissances de ces substances et du fonctionnement du corps humain (Soto-Mendivil et *al*., 2006). L'usage des huiles essentielles en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de

l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont irremplaçables (Ouraini et *al.*, 2007).

De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de produits pharmaceutiques : sirop, gouttes, gélules. Elles rentrent aussi dans la préparation d'infusion telle que : la verveine, le thym, la menthe, elles ont une action anti-inflammatoire, antiseptique, antibactérienne, insecticide et antioxydante (Prabuseeninivasan et *al.*, 2006 ; Domaracky et *al.*, 2007).

III.5. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

En raison de leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leurs pouvoirs, antispasmodique, antidiabétique, analgésique, apéritif, antiseptique..., en alimentation par leur activité antioxydante et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante.

• Dans l'industrie agroalimentaire

Les huiles essentielles jouent un rôle capital dans l'aromatisation des aliments. En effet, elles donnent la saveur aux condiments (poivre, gingembre) et aux aromatisants (menthe, anis, oranger, thym, laurier). A faible dose, certaines substances ont un effet favorable sur la digestion, ce qui explique leur utilisation en liquoristerie (essence d'anis ou de badiane). Les huiles essentielles entrent donc, pour leurs diverses propriétés, dans la composition des arômes employés de manière fréquente aujourd'hui dans tous les produits alimentaires comme les plats cuisinés ou prêts à l'emploi (Porter, 2001).

Maintenant, l'industrie agroalimentaire utilise les HEs dans les préparations surgelées non seulement pour rehausser le goût mais aussi pour empêcher les contaminations alimentaires qui se développent (effet antimicrobien).

• En parfumerie et cosmétique

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du par fumage, des savons et des cosmétiques.

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence des HEs dans les préparations dermo- pharmacologique, baies « calmant » ou « relaxant », et leur emploi dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées. On notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques. (Bouamer et *al.*, 2004 ; Bouanane et Boussehel, 2005).

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

- **En pharmacie**

L'industrie pharmaceutique utilise les huiles essentielles dans le domaine des antiseptiques externes ; elle tire parti des propriétés bactériostatiques, bactéricides, antifongiques, protectrices, des essences naturelles.

Les huiles essentielles constituent le support d'une pratique de soins particulière l'aromathérapie. Elles ont grande intérêt en pharmacie, elles s'utilisent sous la forme de préparations galéniques, et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange.). Tout fois, il faut souligner que la majorité des constituants de ces derniers sont lipophiles, et de ce fait, rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, par voie cutanée ou par voie digestive. Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dans un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes). Plus de 40% du médicament sont à base de composants actifs de plants. De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques : sirop, goutte, gélules pommade ...

III.6. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles se conservent plusieurs années. Elles ont même tendance à se bonifier avec le temps (à l'exception des huiles essentielles extraites des zestes d'agrumes qui ne se conservent pas plus de 2 ans).

Il est recommandé de les stocker dans des flacons en verre ambre ou foncé, de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air, il faut bien refermer les flacons après usage car les arômes s'évaporent dans l'atmosphère. Tenir les flacons hors de portée des enfants. Les flacons doivent être stockés en position verticale, en position horizontale, il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile (les huiles ont une action corrosive sur le plastique). Dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années (Longevialle, 1981).

III.7. Toxicité des huiles essentielles

Bien que les huiles essentielles sont des substances naturelles, mais cela ne signifie pas qu'il est sans danger pour la santé humaine. Il est ainsi important de connaître le produit, le choisir selon des critères qualitatifs rigoureux, de respecter avec précision les doses et de choisir le mode

d'administration adéquat, et pour éviter la survenue d'effets indésirables, et les interactions avec d'autres médicaments.

Ainsi, les huiles essentielles peuvent s'avérer allergisants, photosensibilisants, cytotoxiques, irritants, néphrotoxiques, hépatotoxiques, neurotoxiques ; on distingue :

- **La toxicité aiguë** qui se manifeste peu de temps après l'introduction de l'HE dans l'organisme (en général quelques minutes après).
- **La toxicité à long terme** ou **toxicité chronique** survenant après plusieurs années d'utilisation. Cette toxicité est relativement mal connue. En effet, les effets indésirables survenant après plusieurs années d'utilisation sont rarement signalés en raison de la difficulté à établir le lien de causalité. (BRUNETON J ;2009).

III.8. Quelques conseils lors d'une intoxication aux HE

- En cas d'application trop importante sur la peau ou les muqueuses : éliminer l'excédent à l'aide d'un linge puis appliquer une quantité importante d'huile végétale. (N.Purchon, Paris 2008)
- En cas de projection d'HE dans l'œil : rincer abondamment sous l'eau fraîche puis appliquer de l'huile végétale à l'aide d'un coton imprégné.(D. Festy, Paris ; 2013).

III.9. Techniques et méthodes d'extraction

D'après Guenther (1949), les huiles essentielles sont obtenues le plus souvent par distillation.

a- Distillation – Evaporation

La différence entre distillation et évaporation, est l'intérêt porté aux produits séparés. Dans la distillation, c'est la phase vapeur qui a de la valeur car elle contient le ou les constituants à séparer, alors que dans l'évaporation, c'est le résidu solide ou liquide obtenu par vaporisation du solvant, qui est le produit intéressant (Peyron, 1992).

- Codistillation avec vapeur d'eau

C'est probablement sur le plan tonnage, que la codistillation avec vapeur d'eau est la principale technique de production des huiles essentielles. Trois groupes de techniques sont utilisés :

- La distillation à la vapeur, ou hydrodistillation

Dans laquelle le végétal est en contact direct avec l'eau bouillante, ce qui évite d'agglutiner les charges végétales comme le fait l'injection de vapeur. Quelques utilisations actuelles : rose, fleurs d'oranger, amande pulvérisée.

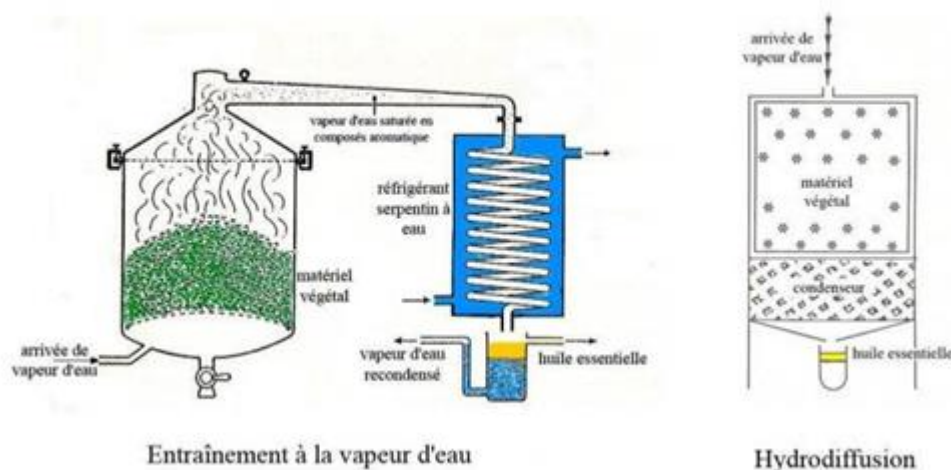


Figure 05: Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante (Lucchesi, 2005).

- **La distillation à la vapeur saturée** : le végétal est supporté dans l'alambic par une plaque perforée située à une certaine distance au-dessus du fond rempli d'eau (Le végétal est en contact avec la vapeur d'eau saturée, mais pas avec l'eau bouillante).
- **La distillation à la vapeur directe** : saturée ou surchauffée, souvent à des pressions supérieures à l'atmosphérique, est identique à la précédente, sans eau dans le fond de l'alambic, la vapeur étant introduite au-dessous de la charge végétale (ou en dessus dans le système d'hydrodiffusion). Technique la plus utilisée actuellement, elle évite le contact prolongé du végétal avec l'eau en ébullition et la formation de certains artefacts (Peyron, 1992 ; Garnero, 1996).

D'une façon générale, l'hydrodistillation, de même que l'entraînement à la vapeur, engendrent des réactions d'isomérisation, de saponification ou de polymérisation. Par ailleurs, le temps de distillation affecte la composition de l'huile essentielle dans la mesure où l'hydrodiffusion des composés volatils présents dans les tissus végétaux à travers les parois cellulaires constitue l'étape limitante du processus. Le mélange huile essentielle-eau est recueilli par un col de cygne et refroidi dans un condenseur : la séparation se fait le plus souvent par simple décantation dans un vase florentin (Crouzet, 1998).

III.10. Les huiles essentielles de Citrus et leur synthèse

Ce sont bien sûr les fruits des Citrus spp.-les hespérides- qui confèrent à la famille son importance économique. Les mêmes Citrus fournissent à l'industrie agro-alimentaire pectines et huiles essentielles, lesquelles sont également utilisées en parfumerie (Bruneton, 2001). Les Citrus sont caractérisés par la présence dans les feuilles, fleurs, tiges et péricarpe des fruits, de poches schizolysigènes contenant de l'essence aromatique (Goris, 1967 cité par Ferhat et *al.*, 2010). Dans les fleurs de Citrus, les poches sécrétrices se situent dans le parenchyme des pétales, sous l'épiderme. Ce sont les fleurs d'orangers, très odorantes, qui en contiennent le plus. Dans les feuilles, le limbe est formé du parenchyme palissadique et du parenchyme lacuneux dont l'ensemble constitue le mésophylle. C'est dans le parenchyme lacuneux que se forment les poches à essence (Ferhat et *al.*, 2010).(fig. 6) Il a été rapporté que les huiles essentielles d'écorces de Citrus font partie des sources riches en composés bioactifs à savoir les coumarines, les flavonoïdes, les carotènes, les terpènes et linalool, etc. (Mondello et *al.*, 2005). Elles sont aussi utilisées contre l'anxiété, les troubles du sommeil. Elles ont également des effets stomachique, eupeptique, sédatif et antispasmodique (Chevallier et Crouzet-Segarra, 2004).



Figure 06 : Microscopie électronique d'une coupe de péricarpe du fruit de Citrus sp. G X 100 (La cavité correspond à une poche sécrétrice vidée de son HE) (Caissard et Baudino, 2012).

Chapitre IV : Oxydation

IV.1. Définition de l'oxydation

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactive de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd et *al.*, 2003).

IV.2. les radicaux libre

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomes ou molécules, possédant un ou plusieurs électrons non appariés. La tendance des électrons non appariés à interagir avec les autres molécules ou atomes voisins, pour former des liaisons covalentes, procure aux radicaux libres une très grande instabilité (Cheesman et *al.*, 1993). On distingue deux types des radicaux libres

- L'Espèce Réactive d'Oxygène (ERO)

Le terme ROS réfère aux espèces oxygénées qu'elles soient radicalaires tels l'anion super oxyde et le radical hydroxyle ou non radicalaires tel le super oxyde d'hydrogène. La génération des ROS est liée au fonctionnement normal de la cellule. Cependant, elle est amplifiée dans certaines conditions pathologiques telles l'inflammation et l'ischémie/reper fusion, qui peuvent évoluer vers de multiples maladies (Fuji et *al.*, 2003; Mates, 2000).

- L'espèce réactive d'azote (RNS)

L'oxyde nitrique est un radical libre synthétisé par trois iso formes de l'oxyde nitrique synthétase (NOS). Il peut être formé par voie non enzymatique à partir de nitrite à pH bas (O₂). Il est impliqué dans plusieurs fonctions biologiques comme la respiration, la transmission nerveuse, l'apoptose et l'homéostasie (Roncon et *al.*, 2005).

L'effet des radicaux libres sur les molécules biologiques

• Les lipides

L'oxydation des lipides est initiée par l'arrachement d'un hydrogène situé entre deux doubles liaisons; formant un radical diène conjugué qui s'oxyde en radical peroxy. Ce dernier évolue en peroxyde en contact avec un autre acide gras pour produire un nouveau radical diène conjugué (réaction en chaîne). Les hydroperoxydes et les radicaux peroxydes se transforment soit en d'autres espèces moléculaires ou propagent le processus de peroxydation lipidique (Favier, 2003).

- **L'ADN**

Les études expérimentales sur l'action des ROS sur l'ADN ont mis en évidence quatre grands types de lésions:

1. Modification des bases nucléiques.
2. Apparition des sites abasiques.
3. Apparition des adduits de l'ADN.
4. Cassure de simple ou double brin.

L'ADN mitochondrial est plus sensible au stress oxydatif à cause de l'absence des histones et la génération des ROS dans ce site, de même pour les cellules en division car leur ADN est nu et non enroulé (Davier, 2000; Lee et *al.*, 2004).

Le déséquilibre dans la balance oxydants/antioxydants contribue au développement des cancers par différents mécanismes: Modulation des gènes d'expressions. Induction des altérations génétiques (Valko et *al.*, 2004).

- **Les protéines**

Les protéines sont très sensibles à l'attaque du radical hydroxyle (HO•) qui peut dénaturer les sites actifs des protéines enzymatiques. Les ROS sont à l'origine des changements fonctionnels, des fragmentations et une augmentation des attaques protéolytiques des protéines (Gardes et *al.*, 2003).

L'accumulation des protéines oxydées peut être à l'origine de nombreuses maladies telles que la maladie d'Alzheimer et la dystrophie musculaire (Berlette et Stadtman, 1997).

- **Les glucides**

Les ROS attaquent les mucopolysaccharides particulièrement les proteoglycanes du cartilage. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans les conditions physiologiques en présence des traces d'ions métalliques libérant le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle et le cetoaldehyde, entraînant l'hydrolyse des protéines ou leur glycation (Favier, 2003).

IV.3. Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés sur plusieurs classes :

A) Les antioxydants naturels

Des études ont montré qu'un taux élevé d'anti oxydants obtenus grâce à une alimentation riche en fruits et légumes réduits le risque relatif de mortalité dans diverses pathologie : cancers, maladies cardiovasculaire et broncho pneumonies.

Les fruits et les légumes contiennent une grande quantité d'antioxydants comme la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes, les oligoéléments et surtout les polyphénols (defraigne et pincemail, 2008) L'organisme possède deux types de systèmes de défense très efficaces

- a. Les antioxydants enzymatiques qui constituent la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS tels que la catalase
- b. Les antioxydants non enzymatiques : Contrairement aux antioxydants enzymatiques, la plupart de ces composés ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antis oxydants nous retrouvons les oligoéléments, les vitamines E et C et les polyphénols tels que les tanins les flavonoïdes (Marwah et *al.*, 1991).

B) Les antioxydants de synthèse

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le galate propylée (PG) et la butylhydroxytoluène(BHT), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après les sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (Lisu et *al.*, 2003).

IV.4. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antis oxydant produit par l'organisme agissent en harmonie avec les antis oxydants exogènes issus principalement de l'alimentation par deux mécanismes :

La neutralisation de radicaux libre : en empêchant les réactions en chaine initialisés par ces derniers, les radicaux libres agissent dans ce cas, comme des accepteurs d'électrons et arrachant donc des électrons a d'autres molécule. Cette perte caractéristique d'un électron correspond au phénomène d'oxydation et les radicaux libres sont donc considérés comme des agents oxydants puisqu'ils incitent les molécules à donner des électrons.

La destruction des hydro peroxydes (composant intermédiaire formant des radicaux libres) diminuant ainsi la vitesse de formation des radicaux libres (Ribeiro 2001, Sherki et *al.*, 2001, Tapiero, 2006).

Matériels et méthodes

Ce travail consiste à une étude sur les huiles essentielles des extraits fraîche et seches de l'écorce d'orange douce *Citrus sinensis*.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

Le matériels végétales est constitué des fruits d'orange douce *Citrus sinensis* (variété *Washington navel*) ont été directement récoltés au hasard à partir d'une exploitation agrumicole privée située à Berbissa, wilaya de Tipaza, le mois de Mars 2020.

I.1.2. Méthode utilisé dans l'extraction des huiles essentielles

L'huile essentielle a été extraite à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger (Kamal et al., 2011)

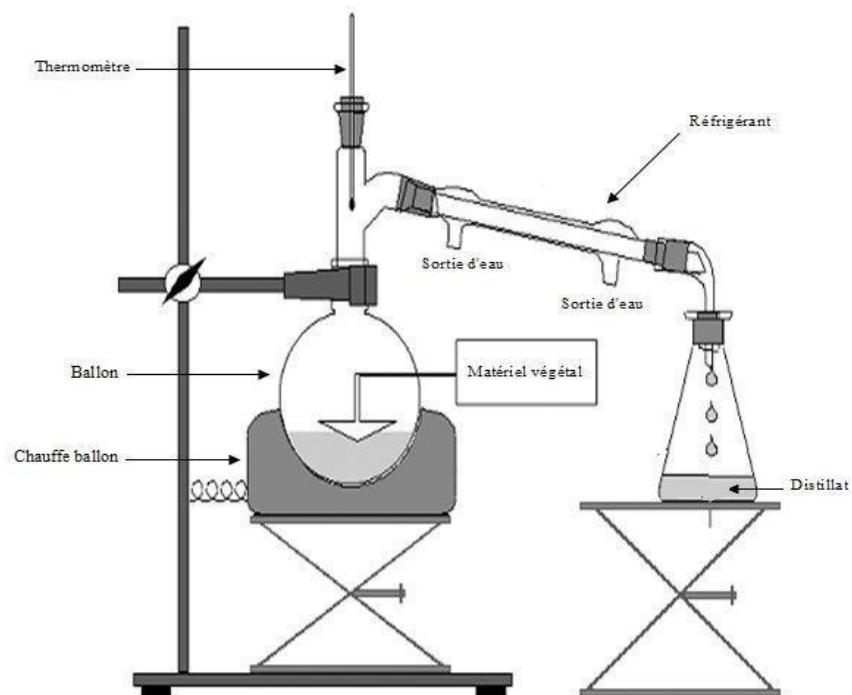


Figure 07 : Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clevenger.

1.2. Méthodes

1.2.1. Préparations du matériels végétal

Les fruits ont été soigneusement lavés, et épluchés à l'aide d'un économe (en évitant d'inclure l'albédo). 500 grammes des écorces ont été coupées en petits morceaux d'environ 1 cm maximum. (Figure 07)



Figure 08 : Les écorces fraîches de *Citrus sinensis*

1.2.2. Extraction de l'huile essentielle

Nous avons immergé la matière végétale (dans notre cas l'épicarpe frais de l'orange douce) dans de l'eau distillée : 250 gramme d'écorces sont introduites dans le ballon. Après addition de l'eau distillée (1.5 L), le mélange est porté à ébullition jusqu'à 3h après obtention de la première goutte d'huile essentielle. (Ferhat et *al.*, 2010). L'expérience est réalisée 3 fois.

Le rendement en HE est le rapport entre le poids de l'HE extraite et le poids de la biomasse végétale à traiter.

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{Phe}{Pmv} \times 100$$

Où

R : rendement en HE (%)

Phe : poids de l'HE extraite (g)

Pmv : poids du matériel végétal traité (g)

L'huile essentielle est conservée à 4°C dans des flacons opaques pour une utilisation ultérieure (Chanthaphon et *al.*, 2008 ; Sharma et Tripathi, 2008).

1.2.3. Taux d'humidité

Le taux d'humidité des échantillons a été déterminée selon la méthode du séchage. Une quantité d'écorces est pesée à l'état frais, puis après séchage, et le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{Mf - Ms}{Mf} \times 100$$

Où

H : humidité (%)

Mf : masse du matériel végétal frais (g)

Ms : masse du matériel végétal sec (g)

1.2.4. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante des écorces fraîches et sèches d'orange douce

L'expérience est faite par Bouhali Halima 2015 ; L'activité antioxydant des huiles essentielle extraites des écorces fraîches et seches a été déterminée par le test de piégeage du DPPH.

Activité scavenger du DPPH

Ce test qui se base sur l'utilisation d'un radical libre fait partie des méthodes spectrophotométriques les plus populaires pour la détermination de la capacité antioxydante (Gülçin et *al.*, 2010).

Le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl ; α , α -diphényl- β -picrylhydrazyl) est pratiquement, le radical libre le plus stable (Molyneux, 2004). Par cette méthode, on ne considère que l'activité antioxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piégeur des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration dans la solution initiale.

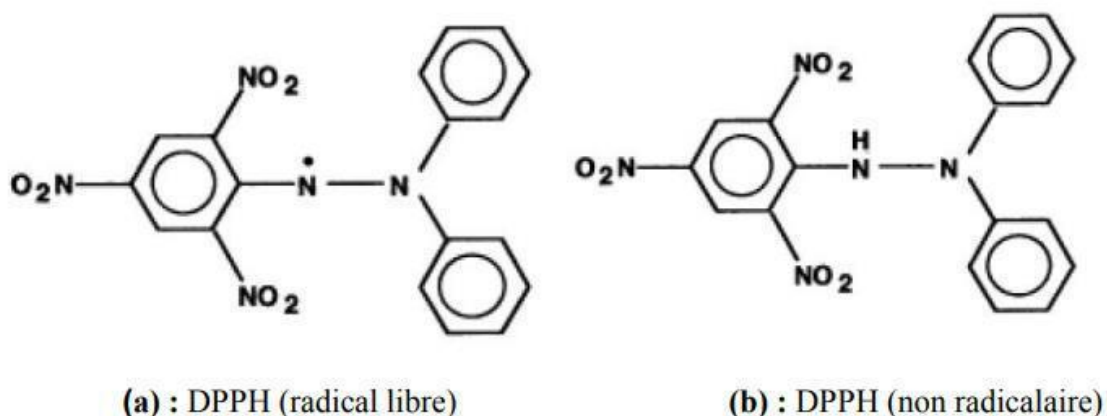


Figure 09 : Formes du **DPPH**, (a) radicalaire et (b) réduite (Molyneux, 2004).

Le protocole expérimental suivi était celui de Cuendet et *al.*, (1997) et Burits & Bucar(2000) décrit par Tepe et al. (2005) avec certaines modifications. Cinquante microlitres de cinq différentes dilutions (5, 10, 15, 20, 25 mg/ml) des HE dans du méthanol sont ajoutés à 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0.004%. Après Agitation, le mélange a été laissé pour une incubation à l'obscurité pendant 30 min et l'absorbance a été mesurée contre un blanc à 517 nm. L'acide ascorbique et le BHA ont été utilisés comme standards. Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH (I%) est calculé Suivant la formule :

II.1. Rendement des huiles essentielle :

Après la réalisation de l'hydrodistillation on des écorces fraîches d'orange douce nous avons obtenus une huile essentielle ; limpide de couleur blanchâtre légèrement jaune et une certain fraicheur concernant l'odeur.

Nous avons obtenu 0.48% d'huile essentielle de 250 gramme des écorces fraîches d'orange douce, ces resultats sont proches de celui trouvé par Bouhali Halima en 2015 de BEJAIA avec un pourcentage de 0.5% de l'huile essentielle extraite par la même méthode.



Figure 10 : Huiles essentielle de l'orange douce.

II.2. Le taux d'humidité

Le but de ce test était d'estimer la quantité d'eau présente dans le matériel végétal. Ce dernier étant séché à température ambiante. Le pourcentage de taux d'humidité trouvé est 62.30%.

II.3. Activité antioxydante réalisé par Bouhali Halima en 2015

II.3.1. Activité scavenger du radical DPPH

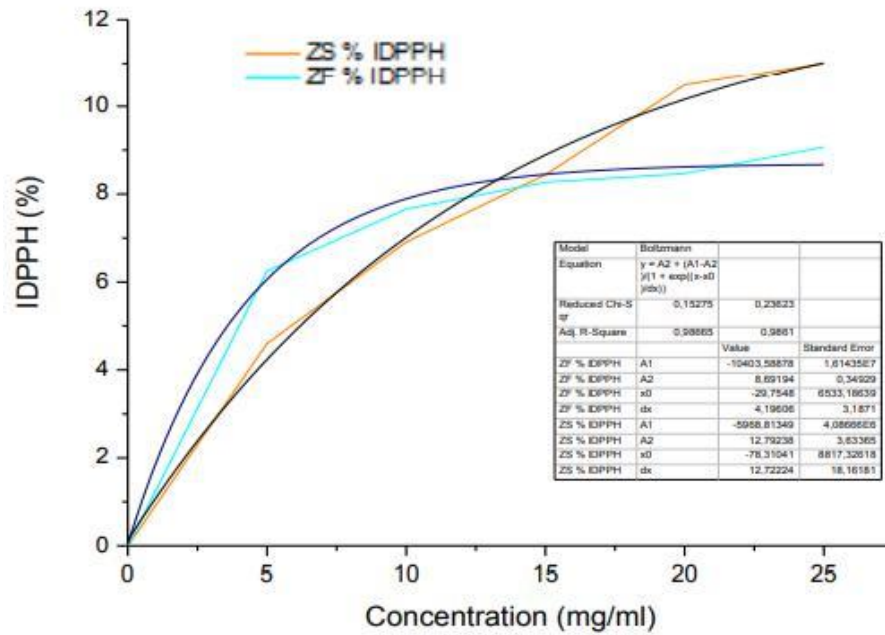


Figure 11 : Activité scavenger du DPPH des HEs exprimée en pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (mg/ml)

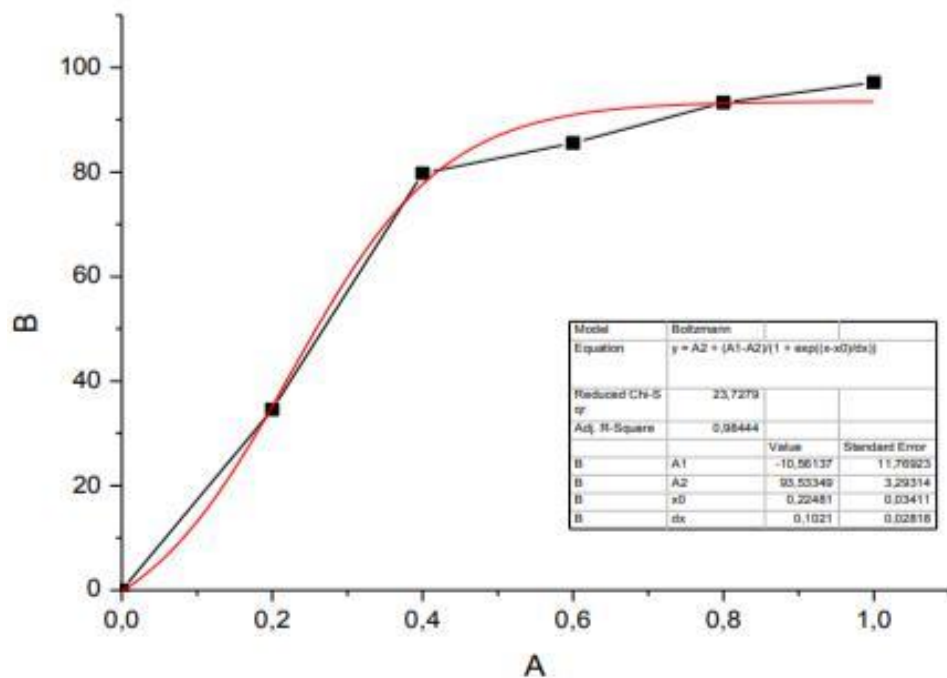


Figure 12 : Activité scavenger du DPPH de l'acide ascorbique exprimée en pourcentage d'inhibition (B) en fonction de la concentration (mg/ml) (A)

Le pouvoir scavenger à l'égard du DPPH exercé par l'HE du zeste sec était plus élevé que celui du zeste frais. D'après les résultats du test effectué, nous avons constaté qu'à la plus grande concentration utilisée qui est de 25 mg/ml nous avons obtenu un pourcentage d'inhibition de $11 \pm 0.46\%$ et $9.07 \pm 0.06\%$ avec les HEs du zeste frais et sec, respectivement, et suite à la faible quantité de ces huiles, nous n'avons pas pu aller au delà de la concentration 25 mg/ml, par

conséquent, il était impossible de déterminer la concentration correspondante à 50% d'inhibition de l'HE. D'ailleurs, Sarrou et *al.*, (2013) ont obtenu un pourcentage d'inhibition de l'HE de d'écorces de *C. aurantium* vis-à-vis du DPPH égal à 19.29%. Nous avons constaté qu'il y a un très fort coefficient de corrélation entre la concentration de l'huile essentielle et son effet scavenger du DPPH (ce coefficient est égal à 0.83 et 0.96 pour l'huile essentielle du zeste frais et sec respectivement).

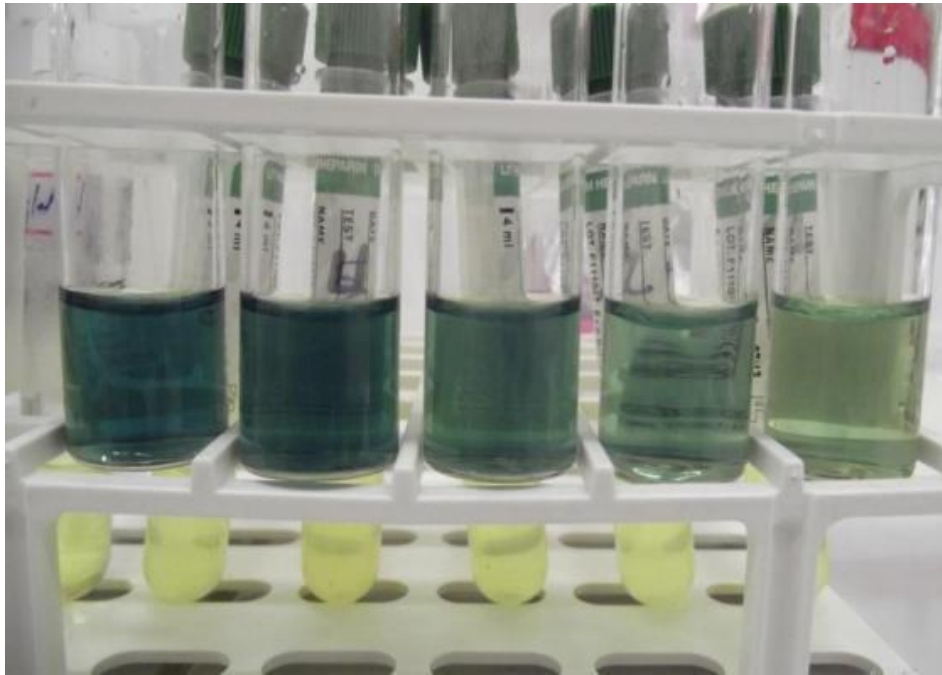


Figure 13 : changement de coloration de la solution du jaune vers le bleu, test du pouvoir réducteur .

Conclusion

Les agrumes occupent aujourd'hui la seconde place dans les échanges mondiaux des produits végétaux. Dans l'industrie agroalimentaire, les oranges sont largement exploitées pour en extraire leur jus, vitamine C, voire des pectines. Mais, les déchets de ces transformations, principalement les écorces, sont souvent jetées.

Ces dernières peuvent nous fournir des composés à propriétés biologiques importantes notamment les huiles essentielles ; notre étude été basé sur les huiles essentiels extraite des écorces d'oranges douces *citrus sinensis* Qui sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe, ce qui leur confère des propriétés biologiques très intéressantes à mettre à profit dans divers domaines : industrie pharmaceutique, agroalimentaire, cosmétique, Dans ce travail, nous avons fait une extraction par la méthode d'hydrodistillation cette méthode montre un rendement de **0.48%** des huiles essentielle des écorces fraîches de *citrus sinensis* . Notre recherche ; nous a guidé à une étude comparative entre les huiles essentielles extraites des écorces fraîches et sèches de *C. sinensis* en prenant l'exemple de la variété *Valencia late* faites par Bouhali Halima 2015.

L'activité antioxydante d'huile essentielle du zeste sec présente généralement plus d'efficacité par rapport au zeste frais ($11 \pm 0.46\%$ et $9.07 \pm 0.06\%$ respectivement. pour le test DPPH, Bien que leurs effets antioxydants semblent être faibles en comparaison aux antioxydants standards, les huiles essentielles de *C. sinensis* exercent un effet antioxydant et pourront être utilisées dans la conservation d'aliments, en pharmacologie ou en cosmétique. Etant donné la complexité de la composition des huiles essentielles il serait intéressant :

- De les caractériser par GC-MS et HPLC, pour identifier les composés responsables de l'activité antioxydante;
- D'extraire ces composés et de tester leurs activités biologiques séparément ;
- D'effectuer une étude de l'activité antimicrobienne pour éventuellement l'utiliser comme antibiotique ou conservateur ;
- De tester leur activité antiproliférative, ce qui prouverait leur pouvoir protecteur contre la cancérisation cellulaire
- De rationaliser les paramètres variables tels que le temps de séchage ;
- D'utiliser d'autres techniques d'extraction des huiles essentielles afin d'optimiser les rendements ainsi que la qualité des huiles essentielles
- Extraire les huiles essentielles à partir des autres partie de la plante (fleurs, feuilles)
- Etudier les différentes activités biologiques in vivo.

Références bibliographique :

- 1- G., Varoquaux, P., Montigaud, J.C., 2002. Technologie de transformation des fruits,
- 2- *La voisier*, Paris, 302-304.
- 3- Aust, O., Sies, H., Stahl, W., Polidori, M.C., 2001. Analysis of lipophilic antioxidants in human serum and tissues: tocopherols and carotenoids. *Journal of Chromatography A*, 936 (1-2), 83-93.
- 4- Bâches. B ,2012 Anonyme, (2007). cité par Ghazzaz .R et Toumi.H –étude de comportement de variété Washington navel, 22 p ‘Thèse’ 2007-2008
- 5- Bampidis, V.A., Robinson, P.H., 2006. Citrus by-products as ruminant feeds: a review. *Animal Feed Science Technology*. 128, 175-217.
- 6- Barros, H. R.D.M., Ferreira, T.A. P.D.C., Genovese, M. I., 2012. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. *Food Chemistry*. 134, 1892-1898.
- 7- *Belaïche P. (1979)*. Traité de phytothérapie et d’aromathérapie. *Ed. Maloine SA., tome 1. 9-128*
- 8- Bocco, A., Cuvelier, M.E. Richard, H., Berset, C. (1998). Antioxydant Activity and Phenol Composition of Citrus Peel and Seed Extracts. *J. Agric. Food Chem*, 46(6): 2123-23.
- 9- Bouamer A. BELLAGHIT M. et MOLLAY AMERA. Etude comparative entre l’huile essentielle de la menthe verte et la menthe poivrée de la région de Ouargla ; Mémoire DES. Unive. Ouargla, 2004 p 2-5 ; 10 ; 19 ; 21-22.
- 10- Bouanane N, Boussehel N, contribution agroécologique aux essais d’introduction de la menthe poivrée (menthe piperata L) dans la région de Ouargla en vue de l’utilisation de ses huiles essentielles en thérapie mém. Ing. Univ. *Ouargla 2005- p22-23 ; 28.*
- 11- Bouhalhalima, caractérisation des huiles essentielles de citrus sinensis et étude de leur activité antioxydante : étude comparative entre l’huile essentielle des écorces sèches et fraîches , thèse de master en ingénierie biochimique et biotechnologie. *Bejaia (2014-2015)*
- 12- BRUNETON J. *Pharmacognosie : Phytochimie : Plantes médicinales*. 4e éd. Paris : Tec & Doc, 2009. 1269
- 13- Burgot G., Burgot J. L., Méthodes instrumentales d’analyse chimique et applications : *Méthodes chromatographiques électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques*, 3ème Edition Tec & Doc Lavoisier, 2011, p.10, ISBN : 978-2-7430-1337-0.
- 14- Burits, M., & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, 323–328. In Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Daferera, D., Polissiou, M. and Sokmen, A. (2005). Antioxidative activity of the essential oils of Thymus sipyleus subsp. Sipyleus var. sipyleus and Thymus sipyleus subsp. sipyleus var. rosulans. *Journal of Food Engineering*. 66:447–454.
- 15- Chanthaphon S., Chanthachum S., Hongpattarakere T. (2008). Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against food related microorganisms. *ongklanakaran J. Sci. Technol.* 30 (Suppl.1), pp. 125-131.
- 16- Cheesman K., Slater H. (1993). An introduction to free radicals biochemistry. *British Medical Bulletin*. 49: 481-493.
- 17- Chevallier L., Crouzet-Segarra C. (2004). Médicaments à base de plantes. *Editions Masson. p 18,23, 162-175*. content in peels of citrus cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*. 106, 1, 277-284.
- 17- Cuendet, M., Hostettmann, K., & Potterat, O. (1997). Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*, 80, 1144–1152. In Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Daferera, D., Polissiou, M. and Sokmen, A. (2005). Antioxidative activity of the essential oils of Thymus sipyleus subsp. Sipyleus var. sipyleus and Thymus sipyleus subsp. sipyleus var. rosulans. *Journal of Food Engineering*. 66:447–454.
- 18- D. Festy. *Je ne sais pas utiliser les huiles essentielles : spécial enfants*. Editions Quotidien Malin ; Paris ; 2013
- 19- D. Festy. *Ma bible des huiles essentielles*. Editions Quotidien Malin ; Paris ; 2008
- 20- Davier, K.J.A. (2000). Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*, 50: 279–289.

- 21- Delome.C, 2013 : changement climatique et phénologie, INRA .Paca
Domaracky M, Rehak P, Juhas Š, Koppel J - Effects of Selected Plant Essential Oils on the Growth and Development of Mouse Preimplantation *Embryos In Vivo Physiol. Res* (2007); Vol. 56; pp 97-104.
- 21- Dorman H.J.D, et Deans S.G- **Antimicrobialagents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils-** *Journal of Applied Microbiology*; Vol. 88; N° 2, pp 308-316. 2000.
- 22-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 performance liquid chromatography, and physicochemical indices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45(9), 3608-3616.
- 23-Duoss-Jennings, H. A., Schmidt, T. B., Callaway, T. R., Carroll, J. A., Martin, J. M.,
- 24-Shields- Menard, S.A., 2013. Effect of citrus byproducts on survival of O157:H7 and non-O157 Escherichia coli serogroups within in vitro bovine ruminal microbial fermentations. *International Journal of Microbiology*. 1-5.
- efficacy of essential oil extracted from orange peel on the food contact surfaces. *Food Control*. 2, 1710-1715.
- 25- Farhat A., Fabiano-Tixier A.S., El Maataoui M., Maingonnat J.F., Romdhane M.,
- 26-Chemat F., 2011. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange
- 27-Favier, A. (2003). Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Mécanismes biochimiques, 108-115.
- 28-Ferhat M. A., Meklati B. Y., Chemat F. (2010). Citrus d'Algérie, les huiles essentielles et leurs procédés d'extraction. *Office des Publications Universitaires*. P 38, 42, 52-57
- 29-Fuji, J., Iuchi, Y., Matsuki, S., Ishi, T. (2003). Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissue. *Asian Journal of Andrology*, 1-12.
- 30- Gamarra, F. M. C., Sakanaka, L. S., Tambourgi, E. B., Cabral, F. A., 2006. Influence on the quality of essential lemon (*Citrus aurantifolia*) oil by distillation process. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 23, 147-151.
- 31-Gamiz-Gracia, L., Luque de Castro, M. D., 2000. Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques. *Talanta*. 51(6), 1179-1185.
- 32- Gardes-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh Z., Jore, D. (2003). Espèces réactivées de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. *Mécanisme biochimique*, 91-96.
- 33- Garnero P. (1996). Huiles essentielles. In techniques de l'ingénieur. Paris. K345
- 34- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ebrahimzadeh, M.A., 2009. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 22, 3, 277-281.
- 35-Girotti, A.W. (1998). Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research*, 39: 1523-1542.
- 36- Gordon, M.H. (1990). *The mechanism of antioxidant in vitro*. In: "Food antioxidants": Ed.
- 37- Goulas V., Manganaris, G.A., 2012. Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus. *Food Chemistry*. 131, 39-47.
- 38- Gülçin I., Bursal E., Şehitoğlu M.H., Bilsel M. and Gören A.C. (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 48 : 2227-2238

- 39-Gutteridge, J.M.C. (1995). *Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage*. *CLIN CHEM*, 41/12: 1819-1 828.
- 40-Halliwell, B. (2007). Dietary polyphénol: good, bad, or different for your health?, *Cardiovasc Res*, 73(2): 47-341.
- 41-Hosni, K., Zhaed, N., Chrif, R., Abid, I., Medfei, W., Sebei H., 2010. Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence. *Food chemistry*. 123, 1098-1104.
- 42- Houaoura(2013)-Production des agrumes :Comment augmenté le rendement ?
- 43- Houel, 2011. Etude des substances bioactives issues de la flore amazonienne. *Analyse de préparations phytothérapeutiques a base de Quassia amoral*
- 44- Huet R., 1991. Les huiles essentielles d'agrumes. *Fruits*, 4, 551-576.
- 45- JACQUEMEND. C., et BLONDEL, L, 1986: Contribution à l'étude des portegreffes des agrumes. Le *Poncirus trifoliata*: 41p.
- 46- Jean-François Cavalli. *Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar*. Autre. Université Pascal Paoli, 2002.
- 47- Jouant s . 2012. *La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de doctorat* d'état en pharmacie. Université de lorraine. Faculté de pharmacie. France 137p.
- 48- Kamal, G. M., Anwar, F., Hussain, A. I., Sarri, N. and Ashraf, M. Y. (2011). Yield and chemical composition of Citrus essential oils as affected by drying pretreatment of peels *International Food Research Journal* 18: 1275-1282
- 49- Kammoun Bejar, A., Ghanem, N., Mihoubi, D., Kechaou, N., Boudhrioua Mihoubi, N., 2011. Effect of Infrared Drying on Drying Kinetics, Color, Total Phenols and Water and Oil Holding Capacities of Orange (*Citrus Sinensis*) Peel and Leaves. *Journal of Food Engineering*. 7, 5, 1-25.
- 50- Kratchanova, M., Pavlova, E., Panchev, I., 2004. The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydrates Polymers*. 56, 181- 185.
- 51- Lahlou M- *Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils* Phytotherapy research; Vol.18; pp 435-448. 2004
- 52- Lin, C.M., Sheu, S.R., Hsu, S.C., Tsai, Y.H., 2010. Determination of bactericidal
- 53- Lisu W (2003): *distinctive antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonols* *journal of agricultural and food chemistry* 54.
- 54- Liu, Y., Shi, J., Langrish, T.A.G., 2006. Water-based extraction of pectin from flavedo and albedo of orange peels. *Journal of Chemical Engineering Data*. 120, 203-209
- 55- Loeillet(2010)-la production mondiale des agrumes "les marchés mondiaux".
- 56- MACKEE, H, S., 1985 : Les plantes introduites et cultivées en Nouvelle-Calédonie. Supplément à la Flore de la Nouvelle-Calédonie et dépendances (volumes hors série). *Museum National d'Histoire Naturelle, -Laboratoire de Phanérogamie, Paris, France*.
- 57- Magda, R.A., Awad, A.M., Selim, K.A., 2008. Evaluation of mandarin and orange peels as natural sources of antioxidant in biscuits. *Journal of Food Science & Technology*. 75- 82.
- 58- MANNER, H.I., BUKER, R. S., EASTON SMITH, V & ELEVITH, CR., 2005: 35- *Citrus species (Citrus)*, ver . 1, 1. In : CR Elevith (Ed) *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR), Holualoa, Hawaii, 31p*.
- 59- Marfak, A. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de pesticides. Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie, *Université de LIMOGES- Ecole Doctorale Science Biologie Santé, Décembre 2003, p. 220*.
- 60- Marin, F.A., Soler-Rivas, C., Benavente-Garcio., Castillo, J., Perez-Alvarez, J.E., 2007. By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food*

Chemistry. 100, 736-741.

- 61- Matés, J.M. (2000). *Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactiveoxygen species toxicology. Toxicology*, 84, 153: 83–104.
- 62- Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M., Heredia, F.J., 2007. Critical Review Review:Analysis of carotenoids in orange juice, *Journal of Food Composition and Analysis*. 20, 638-649.
- 63- Mendham J., Vogel A.I, Denny R.C., Toullec J., Barnes J., Barnes J.D., Mottet M., Tomas M.J.K.,Analyse chimique quantitative de Vogel, Ed. De Boeck Université. (2005), p.231-314.
- 64- Mohamdi. Z. Etude du pouvoir et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat, université Abou Baker belkaïd Tlemcen, 2005, 89-92.
- 65- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant Activity. *Songklanakarín J. Sci. Technol.* 26: 211- 219.
- 66- N. Purchon. Huiles essentielles, initiation à l'aromathérapie. Editions de Noyelles; Paris ; 2008
- 67- Oreopoulou, V., Tzia, C., 2007. In Utilization of By-products and Treatment of Waste in Food, chapitre 11: Utilization of plant by-products for the recovery of proteins, dietary fibers, antioxidants and colorants. *Springer, USA: 209-232.*
- 68- Ouraïni D, Agoumi A, Alaoui M.I, Alaoui K, Cherrah Y, Alaoui M.A, Belabbas M.A –
69- *Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de Thymus saturejoidesL.* MenthapulegiumL.,comparé aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques –
Phytothérapie
; Vol. 1 ; pp 6–14. 2007. peel: Kinetic data, extract's global yield and mechanism. *Food Chemistry*. 125, 255-261. phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits:potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*. 278, 75-87. Praloran, J.C., 1971. Les agrumes, Maisonneuve G.P.Larose, Paris.
- 70 - Porter N. Essential oils and their production.*Crop & Food Research*.Number 39(2001).
- 71 - Prabuseenivasan S, JayakumarM etIgnacimuthu S- In vitro antibacterial activity ofsome plant essential oil; *BioMed Central Complementary and Alternative Medicine*; Vol. 6; pp 39. 2006.
- 72- Prabuseenivasan S, JayakumarM etIgnacimuthuS- In vitro antibacterial activity of
- 73- PRALORAN., 1971: Les agrumes, techniques agricoles et production tropicales. Ed Maisonneuve et Larox, Paris, T.XXI et XXII, 665p.
- 74-Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary. *J. Agric. Food Chem*, 53: 4290- 4302.
- 75- Purseglove. J.W. (1974) Tropical Crops. Discotyledons. Volume 1 and 2 combined. English lunaguage Book society and longmans. London.
- 76- Ramful, D., Bahorunb, T., Bourdonc, E., Tarnusc, E., Aruoma, O.I., 2010. Bioactive
77-Rebour,(2007)-l'arboriculture en algerie.almanach
- 78-ROBERTO, C., 1982 : Guide vert, des plantes médicinale. Solar, Ed. A"Paris, pour la tradu.Fran., pp. 87-89.
- 79-Roncone, R., Barbieri, M., Monzani, E., Casella, L. (2006). Reactive nitrogen species generated by heme proteins: Mechanism of formation and targets. *Coordination ChemistryReviews*, (sous press).
- 80- Rouessac F., Rouessac A., Brooks S., *Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques*, Ed. John Wiley and Sons, 2007, p.31.
- 81- Sahraoui, N., AbertVian, M., El Maataoui, M., Boutekedjiret, Chemat, F., 2011. Valorization of citrus by-products using Microwave Steam Distillation (MSD).*Innovative Food Science Emerging Technologies*. 12, 163-170.
- 82- Sanchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Tech Int*, 8(3): 121– 137.

- 83- **Sarrou E., Chatzopoulou P., Dimassi-Theriou K. and Therios I. (2013).** Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium* L. *Growing in Greece. Molecules* .18 : 10639-10647
- 84- **Soman. E . (1987)** arbres. Arbustes e arbrisseau en Algerie .INRA .Ed . OPU, pp 67-68
some plant essential oil; *BioMed Central Complementary and Alternative Medicine; Vol. 6; pp 39. 2006.*
- 85- **Soto-Mendivil E.A, Moreno-Rodriguez J.F, Estarron-Espinosa M, Garcia-Fajardo JA et Obledo-Vazquez E.N - Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*- E-Gnosis [online]; Vol. 4 ; N° 16. 2006.**
- 86- **Stone. B.C. (1970)** Flora of Guam . Micronica , 6. Complete
- 87- **Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A ., Daferera, D., Polissiou, M. and Sokmen ,A. (2005).** Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *Sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of Food Engineering*.66:447–45
- 88- **Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J. (2004).** Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266: 37-56.
- 89- **WALTER, A. & SAM, C., 2002:** Fruit of Oceania.(Trans., P. Ferrar frome Fruits d'Océanie.). **ACIAR Monograph 85. Australian Centre of International Agricultural Research, Canberra, Australia.**
- 90- **Wang, Y.C., Chuang, Y.C., Hsu, H.W., 2008.** The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*. 106, 1, 277-284.
- 91- **Wang, Y.C., Chuang, Y.C., Hsu, H.W., 2008.** The flavonoid, carotenoid and pectin
- 92- **Xu, G.H, Chen, J.C., Zhang, Y.H., Iang, P.J., Ye, X.Q., 2008.** Minerals, phenolic compounds, and antioxidant capacity of Citrus peel extract by hot water. *Food Chemistry*. 73, 1, 11-17.
- 93- **Yeoh, S., Shi J., Langrish, T.A.G., 2008.** Comparisons between different techniques for waterbased extraction of pectin from orange peels. *Desalination*. 218, 229-237.
- 94- **Zaouiet. J (2010)** -formation nationale sur la culture d'agrumes.

les sites /liens internet :

- 95- **Anonyme(2012)**-l'égère base de la production agrumicole en 2011/2012 Source : <http://www.elmoudjahid.com>
- 96- **Loussert (1989)**-la culture des agrumes(2013). ITAV Site : www.itafv.dz.
- 97- **Anonyme(1968)**. -porte greffe des oranges
Site : <http://www.annales.org/archives/cofrhigeo/boulaine-bio.pdf>