
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Saad Dahlab – Blida 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés

Laboratoire de Chimie Organique

Mémoire

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

Spécialité : GENIE CHIMIQUE

Intitulé du Mémoire :

Etude de l'effet de la granulométrie des écorces de deux types d'agrumes (orange douce : *citrus sinensis L osbeck* ; mandarine : *citrus retucalata Blanco*) sur le rendement en huiles essentielles extraites par hydrodistillation assistée par micro-ondes (HDMO)

Présenté par :

TRAORE Souleymane

HAGAR Mamane Lamine Seydina

Encadré par :

Pr EL HADI Djamel

Mme BOUDJIT Djamila

Devant le jury composé de :

Président : Pr BENMAAMAR

U Blida1

Examineur : Pr BOUCHERIT

U Blida1

Rapporteur : Pr CHIKHI

U Blida1

Année 2018 - 2019

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير حجم جسيمات بودرة لحاء نوعين من الحمضيات (البرتقال الحلو: الحمضيات (مع قياس الخواص الفيزيائية الكيميائية *citrus reticulata Blanco* والماندرين: *citrus sinensis L osbeck*) والتركيب الكيميائي للزيوت الأساسية المستخرجة منها. يتم إجراء استخراج الزيت العطري من عينات اللحاء الثمانية (جهاز التقطير المركب على HDMO هذه في المختبر ، عن طريق التقطير باستخدام الميكروويف (لاحظنا لكل عينة من عيناتنا أن جزيئات ذات قطر صغير (أقل من 100 ميكرون) ، (CLEVENGER الميكروويف) يكون العائد منخفضاً جداً بنسبة 0.85% للماندرين و 0.015% للبرتقال وما بين 100 و 600 ميكرومتر يصل المرودود إلى قيمته القصوى 2.2% لـ الماندرين و 2.17 للبرتقال وفوق 600 م يبدأ المرودود في الانخفاض 0.046 للماندرين و 0.010. توضح هذه النتائج أن قطر الجسيمات في ثمار الحمضيات لدينا له تأثير ملحوظ على إنتاجية الزيت الأساسية. من ناحية أخرى ، فإن النتائج التي تم الحصول عليها عن طريق قياس الكثافة ، ومؤشر الانكسار ، ومؤشر الحمض ، والقوة الدورانية للزيوت الأساسية ، تبين أن حجم الجسيمات ليس له تأثير على الخواص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية . أخيراً ، يظهر تحليل كروماتوجرافي ل(3) عينات مختلفة وجود المركبات الكيميائية نفسها بنسب مئوية مختلفة لبعض العينات ولاحظ البعض الآخر عدم وجود مركبات معينة.

الكلمات المفتاحية: الاستخلاص ، الزيت العطري ، التقطير المائي ، الميكروويف ، الحمضيات

RESUME

Le but de ce travail est d'étudier l'effet de la granulométrie sur le rendement, les propriétés physico-chimiques et la composition chimique, des huiles essentielles des écorces de deux variétés d'agrumes (orange douce : *Citrus sinensis* L. Osbeck et la mandarine : *Citrus reticulata* Blanco). L'extraction d'huile essentielle à partir de 8 échantillons d'écorces, est réalisée au laboratoire, par hydrodistillation assistée par micro-ondes (HDMO) (dispositif type Clevenger monté sur un four micro-onde). Nous avons remarqué pour chacun de nos échantillons que les particules de faible diamètre ($< 100 \mu\text{m}$), le rendement est très faible 0,85% pour la mandarine et 0,015% pour l'orange et entre 100 et 600 μm le rendement atteint sa valeur maximale 2,2% pour la mandarine et 2,17 pour l'orange et qu'au-delà de 600 μm le rendement commence à diminuer 0,046 pour la mandarine et 0,010. Ces résultats montrent que le diamètre des particules de nos agrumes, a un effet remarquable sur le rendement en huile essentielle. D'autre part, les résultats obtenus en mesurant la densité, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, le pouvoir rotatoire des huiles essentielles, montrent que la taille des particules n'a pas d'influence sur les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles extraites. Enfin, l'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) de 3 échantillons différents montre la présence de mêmes composés chimiques à des pourcentages différents pour certains échantillons et pour d'autres une absence de certains composés est observée.

Mots clés : Granulométrie, agrumes, extraction, huile essentielle, hydro-distillation, micro-ondes

ABSTRACT

The purpose of this work is to study the effect of granulometry on yield, physicochemical properties and chemical composition, of the essential oils of the bark of two varieties of citrus (sweet orange: *Citrus sinensis* L. Osbeck and the mandarin: *Citrus reticulata* Blanco). Extraction of essential oil from 8 bark samples is performed in the laboratory, by microwave assisted hydrodistillation (HDMO) (device type Clevenger mounted on a microwave). We noticed for each of our samples that the particles of small diameter ($< 100 \mu\text{m}$), the yield is very low 0.85% for the mandarin and 0.015% for the orange and between 100 and 600 μm the yield reaches its maximum value 2.2% for mandarin and 2.17 for orange and above 600 μm the yield begins to decrease 0.046 for mandarin and 0.010. These results show that the particle diameter of our citrus fruit has a remarkable effect on the essential oil yield. On the other hand, the results obtained by measuring the density, the index of refraction, the acid index, the rotatory power of the essential oils, show that the particle size has no influence on the physicochemical properties of the extracted essential oils. Finally, gas chromatographic (GC) analysis of 3 different samples shows the presence of the same chemical compounds at different percentages for some samples and for others an absence of certain compounds is observed.

Keywords: Granulometry, citrus, extraction, essential oil, hydrodistillation, microwaves.

REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord le bon dieu qui par sa grâce nous a donné la force et le dévouement nécessaire pour l'élaboration de ce projet, nos parent respectif pour leurs soutiens sans relâche et aussi à tous nos frères et amis et ainsi à tous ceux avec qui nous avons partagé des moments précieux.

*Nous tenons à remercier le **Pr EL HADI** enseignant au département de génie des procédés pour avoir accepté d'encadrer notre travail et pour ses conseils avisés.*

*Nous tenons à remercier **Mme BOUDJIT** responsable des laboratoires au département de génie des procédés pour son aide, sa disponibilité et ses conseils. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance.*

*Un grand remerciement au **Pr ISSAADI** responsable du master génie chimique pour ses connaissances transmises. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance.*

Nous remercions l'ensemble des corps enseignants de l'université de Blida 1 et du département de génie des procédés en particulier pour nous avoir transmis des connaissances.

Nos remerciements aux membres du jury pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Et enfin nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Qu'ils reçoivent ici l'expression de notre profonde gratitude.

TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

DEDICACES

INTRODUCTION.....1

I . LES HUILES ESSENTIELLES 3

1.1 Historique : 3

1.2 Définition : 3

1.3 Localisation et lieu de synthèse : 4

1.4 Rôle dans les plantes : 4

1.5 Propriétés physico-chimiques 4

1.6 Composition chimique des HE 5

1.6.1 Hydrocarbures : 5

1.6.1.1 Monoterpènes : 6

1.6.1.2 Sesquiterpènes : 6

1.7 Composés oxygénés : 7

1.8 Composés d'origines diverses : 7

1.9 Toxicité des huiles essentielles : 7

1.10 Procédés d'extraction..... 8

1.10.1 Hydrodistillation : 8

1.10.2 Entraînement à la vapeur d'eau 9

1.10.3 Extraction par fluide supercritique : 10

1.11 Extraction assistée par micro-ondes : 11

1.11.1 Les micro-ondes : 11

1.11.1.1 Définition : 11

1.11.1.2 Le chauffage micro-ondes : 11

1.11.2	Procédé d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM)	12
1.11.3	L'extraction par solvant :	13
1.11.4	Hydrodistillation assistée par micro-ondes	13
1.12	Analyse des HE	14
1.13	Principaux domaines d'application des HE	14
2.	LES AGRUMES	16
2.1	Définition :	16
2.2	Description	16
2.3	Importance alimentaire des agrumes	17
2.4	Importance économique	18
2.5	Différentes variétés d'agrumes	19
2.5.1	L'orange :	19
2.5.1.1	Historique :	19
2.5.1.2	Description et composition :	19
2.5.1.3	Importance économique :	19
2.5.1.4	Répartition géographique :	20
2.5.1.5	Utilisation :	20
2.5.2	Les mandarines :	20
2.5.2.1	Historique :	20
2.5.2.2	Description et composition chimique :	20
2.5.2.3	Répartition géographique :	21
2.5.2.4	Utilisation :	21
3.	MATERIEL ET METHODES	22
3.1	Matériel et produits chimiques	22
3.2	Matière première végétale	24

3.3	Préparation de la matière végétale pour l'extraction :.....	25
3.3.1	Le séchage :	25
3.3.2	Le broyage :	25
3.3.3	Le tamisage :.....	25
3.4	La teneur en eau des écorces	26
3.4.1	Principe de l'hydrodistillation	26
3.4.2	Mode opératoire et calcul	26
3.5	La méthode d'hydro distillation assistée par micro-ondes.....	27
3.5.1	Principe	27
3.5.2	Mode opératoire :.....	27
3.6	Caractérisation des huiles essentielles extraites	28
3.6.1	Caractéristiques organoleptiques	28
3.6.2	Propriétés physico-chimiques :.....	29
3.6.2.1	Densité relative à 20°C :.....	29
3.6.2.2	Indice de réfraction à 20°C.....	30
3.6.2.3	Indice d'acide I _A NF ISO 1242, 575-103, AFNOR ; 2000:	31
3.6.2.4	Le pouvoir rotatoire Afnor NFT 75-113-2000 :.....	32
3.7	Rendement en huile essentielle.....	33
3.8	Analyse chromatographique.....	34
3.8.1	Chromatographie en phase gazeuse :.....	34
3.8.1.1	Protocole.....	34
4.	RESULTATS ET DISCUSSION	36
4. 1	La teneur en eau des écorces de mandarine et d'orange :.....	36
4.1.1	Résultat :	36
4.1.2	Discussion :.....	36
4.2	Le rendement :.....	36

4.2.1	Résultats.....	36
4.2.2	Discussion :.....	39
4.3	Caractères organoleptiques :.....	40
4.4	Propriétés physico-chimiques :	40
4.1	Résultats :.....	41
4.4.2	Discussion :.....	41
4.5	Chromatographie en phase gazeuse :.....	43
4.5.1	Résultat :	43
4.5.2	Discussion :.....	46
CONCLUSION.....		47
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		
ANNEXES		

LISTE DE FIGURES

Figure 1.1 :structure de quelques monoterpènes.....	6
Figure 1.2 : Structure de sesquiterpènes.....	7
Figure 1.3 :Hydrodistillation.....	9
Figure 1.4 :Entrainement à la vapeur.....	10
Figure 1.5 :schéma de la technique d'extraction par le CO ₂ supercritique(Pourmortazaviet Hajimirsadeghi, 2007).....	10
Figure 1.6 :Spectre électromagnétique.....	11
Figure 1.7 :Transfert de chaleur sous chauffage classique et sous chauffage par micro onde.....	12
Figure 1.8 :L'extraction par solvant assistée par micro-ondes.....	13
Figure 1.9 :Schéma de l'hydrodistillation assistée par micro-ondes.....	14
Figure 2.1 : Coupe transversale d'une orange.....	17
Figure 2.2: Les 10 pays principaux consommateurs d'oranges fraîches dans le monde durant lapériode 2007 – 2010 (USDA, 2010).....	18
Figure 3.1: Plan de travail.....	23
Figure 3.2:Orange douce : <i>citrus sinensis (L) Osbeck</i>	24
Figure 3. 3: Mandarine : <i>citrus reticulata Blanco</i>	24
Figure 3.4: Les échantillons de poudre d'orange et de mandarine.....	26
Figure 3.5 :Schéma du dispositif d'hydro distillation assistée par micro-ondes.....	28
Figure 3.6: Dispositif de mesure d'indice d'acide.....	32
Figure 3.7 : Appareillage pour une CPG.....	35

Figure 4.1 : Évolution du rendement d'H.E de mandarine en fonction du diamètre des particules pour 30g de matière sèche	38
Figure 4.2 : Évolution du rendement d'H.E d'orange en fonction du diamètre des particules pour 60g de matière sèche.....	39
Figure 4.3 : Chromatogramme CPG pour l'huile essentielle de mandarine pour différents diamètres de la mandarine	44
Figure 4.4: Chromatogramme CPG pour l'huile essentielle d'orange pour différents diamètres d'orange.....	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 : Les principaux pays importateurs et exportateurs d'agrumes dans le monde.....	18
Tableau 3.1: Matériel et produit chimique utilisés.....	20
Tableau 3.2 :Granulométrie des échantillons.....	26
Tableau 4.1 : Volumes, masses et rendements des HE en fonction de la granulométrie de la poudre de mandarine pour 30g de matière sèche.....	37
Tableau 4.2 : Volumes, masses et rendements des HE en fonction de la granulométrie de la poudre d'orange pour 60g de matière sèche.....	38
Tableau 4.3:Composition physico-chimique d'HE des variétés.....	41

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR	Association Française de Normalisation
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
ATCC	American Type Culture Collection
ESAM	Extraction par Solvant Assistée par Micro-ondes
ESSAM	Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes
EHF	Extrêmement Haute Fréquence
FAO	Food and Agriculture Organization
GHz	Giga Hertz
GC	Gaz Chromatography
HDMO	Hydro Distillation assistée par Micro-Ondes
HE	Huile Essentielle
J.C.	Jésus-Christ
MADR	Ministère de L'Agriculture et du Développement Rural
MHz	Méga Hertz
UHF	Ultra Haute Fréquence
UNCTAD	Conférence des Nations unies sur le commerce et le développement
USDA	United States Department of Agriculture
US	United States
SHF	Supra Haute Fréquence

INTRODUCTION GENERALE

Les agrumes représentent une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'Homme dans l'industrie des parfums, agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. 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[1]. Les principaux pays producteurs sont les Etats Unis, le Brésil, la Chine et les pays du bassin méditerranéen. L'Algérie disposait d'une superficie 63.323 ha d'agrumes en 2011. Actuellement, seuls 55.000 ha sont productifs sur les 63.323 ha. Le centre du pays compte 56% de cette surface d'agrumes, 30% se trouvent à l'est du pays, et 14% à l'Ouest. La wilaya de Blida fait partie des principales wilayas agrumicoles avec 15809 ha [2]. Parmi les agrumes les plus produits au monde figurent les oranges et les mandarines.

Au 17ème siècle, l'orange s'appelait Orange du Portugal, Orange douce et le plus populaire Orange de la Chine. Depuis, son nom scientifique est devenu *Citrus sinensis* (agrumes chinois). Elle représente l'espèce commerciale de *Citrus* la plus importante dans le monde.

Les mandarines ont été cultivées en Chine et au Japon sur une grande échelle depuis le 16ème siècle. C'est le dernier agrume important arrivé en Europe au 19ème siècle. En 1805, deux variétés ont été acheminées en Angleterre en provenance de la région chinoise de Canton. De l'Angleterre, ils ont été introduits dans la région méditerranéenne.

La plupart des agrumes renferment des huiles essentielles ; ils sont alors appelés « plantes aromatiques ». Ces huiles essentielles se trouvent dans de nombreuses parties de ces plantes : les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines. Ce sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire de plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes et de composés aromatiques. L'huile essentielle de ces agrumes est recherchée en parfumerie comme en cosmétique (bains, crèmes, lait, ...), en particulier pour ses vertus tonifiantes et régénérantes de la peau.

Elle est aussi utilisée dans les préparations pharmaceutiques et en aromathérapie.

Nous avons effectué l'extraction d'huile essentielle de la poudre des écorces d'oranges et de mandarines par la méthode d'hydrodistillation assistée par micro-ondes car cette méthode est nettement plus rapide que l'hydrodistillation classique tout en conservant une qualité équivalente des huiles essentielles extraites [3].

INTRODUCTION GENERALE

Notre travail est reparti en deux grandes parties : une partie synthèse bibliographique et une partie expérimentale.

La partie synthèse bibliographique comporte deux chapitres, un premier chapitre sur les huiles essentielles en détail à savoir, leur origine, compositions chimiques, techniques d'extraction, diverses activités biologiques et pharmacologiques, ainsi que leurs principaux domaines d'application et un deuxième chapitre les agrumes (les espèces végétales étudiées).

La partie expérimentale est également répartie en deux chapitres, dont un premier chapitre sur le matériel et méthodes consacrés aux différentes étapes de préparation de matières végétales investiguées, la méthodologie adoptée pour le travail expérimental et le matériel manipulé, ensuite un deuxième chapitre sur les résultats et discussions dont le but est de comparer et d'étudier quantitativement et qualitativement l'influence de la granulométrie sur le rendement et de la technique d'extraction sur les propriétés des huiles extraites et une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

1. LES HUILES ESSENTIELLES

1.1 Historique :

Connues depuis l'antiquité, les huiles essentielles sont utilisées en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatisation culinaire, elles font partie de notre quotidien sans que nous le sachions. Déjà 20 siècles av J.C., l'empereur de Chine Kwayg.T mentionne les propriétés de très nombreuses plantes. Toutes les civilisations antiques ont développé la médecine par les plantes. Au cours des siècles, cette utilisation s'est appelée PHYTOTHERAPIE, puis AROMATHERAPIE, selon les époques, les caractéristiques médicinales ou aromatiques, ont prévalu (conservation des momies, aromatisation des bains, désinfection des plaies avec les onguents, parfums, vins aromatiques au Moyen Age).

Les huiles essentielles semblent donc accompagner la civilisation humaine depuis ses premières genèses.

Dans les civilisations chinoise et indienne, on trouve la trace d'utilisations médicinales très anciennes. Le premier livre de matière médicinale "Traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung" fut rédigé vers 2900 avant J.C.

Giocani Baptista della porta (1540-1615), dans son célèbre ouvrage "De destillatione" parut en 1567, mentionne les connaissances avancées des Arabes dans le domaine de la distillation.

Ensuite les huiles essentielles vont bénéficier des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique.

En 1866, le terme "terpène" fut utilisé pour la première fois par Kekule désignant la classe des composés les plus répandus des huiles essentielles.

Depuis, l'ère industrielle a pris peu à peu le pas sur un certain empirisme et développa ainsi de nouvelle technique de distillation.

1.2 Définition :

Un grand nombre d'auteur ont tenté de donner une définition des huiles essentielles.

Selon Durvelle [4], les essences ou huiles essentielles, connues également sous le nom d'huiles volatiles, de parfums, etc., sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu

solubles dans l'eau, plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, incolores ou jaunâtres, inflammables qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à température ordinaire ; quelques-unes sont solides ou en partie cristallisées ; elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité. Leur odeur plus ou moins forte, suave, piquante ou désagréable. Elles ont la propriété de ne pas laisser de tache durable sur le papier.

L'AFNOR donne la définition suivante (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 [5].

Ces composés volatils ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses et par la même ont reçu empiriquement le nom d'huile essentielle, le terme huile souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances, le terme essentiel se comprenant comme la caractéristique principale de la plante à travers ses exhalaisons [6].

1.3 Localisation et lieu de synthèse :

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante tel que : les fleurs, les feuilles, les écorces, les bois, les racines, les fruits secs, les rhizomes, la peau des fruits et se forment dans le cytoplasme de certaines cellules végétales spécialisées [7].

1.4 Rôle dans les plantes :

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologiques :

Interaction plante-plante (inhibition de la germination et de la croissance)

Interaction plante – animale, pour leur protection contre les prédateurs [8]

1.5 Propriétés physico-chimiques

Selon Bernard et al. (1988) [9] et Bruneton (1995) [10] on peut résumer les propriétés physico-chimiques des HE comme suit :

- Elles sont généralement liquides à température ambiante ;
- Elles sont volatiles et très rarement colorées ;
- Elles n'ont pas le touché gras et onctueux des huiles fixes ;
- Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau ;
- L'indice de réfraction dépend essentiellement de la teneur en monoterpènes et dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse ;
- Elles sont solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé, dans la plupart des solvants organiques et les lipides, mais peu solubles dans l'eau ;
- Elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques ;
- Les HE sont stables à température ambiante si elles sont conservées de manière adéquate : à l'abri de l'oxydation et de la polymérisation provoquée par l'air, par la lumière et par les variations de température.

1.6 Composition chimique des HE

Les composants des HE sont généralement dits «aromatiques» en raison de leur caractère odoriférant et non pour indiquer leur structure chimique, ce qui peut prêter à confusion [11].

Le nombre de molécules chimiquement différentes qui constituent une HE est variable. La plupart sont poly-moléculaires, c'est-à-dire composées d'une grande diversité de composés (jusqu'à 500 molécules différentes dans l'HE de Rose). A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), on trouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces [11].

Les HE sont des mélanges très complexes de molécules organiques appartenant aux classes les plus diverses. Ces molécules sont généralement des :

1.6.1 Hydrocarbures :

Au sein de ce groupe, on distingue les hydrocarbures aromatiques, monoterpéniques ($C_{10}H_{16}$) et sesquiterpéniques ($C_{15}H_{24}$) et rarement diterpéniques (C_{20}). Quelques fois on rencontre des hydrocarbures saturés (heptane, octane, nonane, etc...).

1.6.1.1 Monoterpènes :

Ce sont des molécules à 10 atomes de carbones (figure 1.1) ils existent sous la forme d'hydrocarbures simples qui peuvent être acycliques (Mycènes, Ocimène), monocycliques (Cymène, α -Terpinène), ou bicycliques (Camphène, Pinène).

A côté des hydrocarbures, on rencontre des dérivés oxygénés divers : des aldéhydes (Linalal, Gérenial..), alcools (Citronellol, Géraniol..) et acides (Acides linalique...) voire des esters (Acétate de linalyle...) [12].

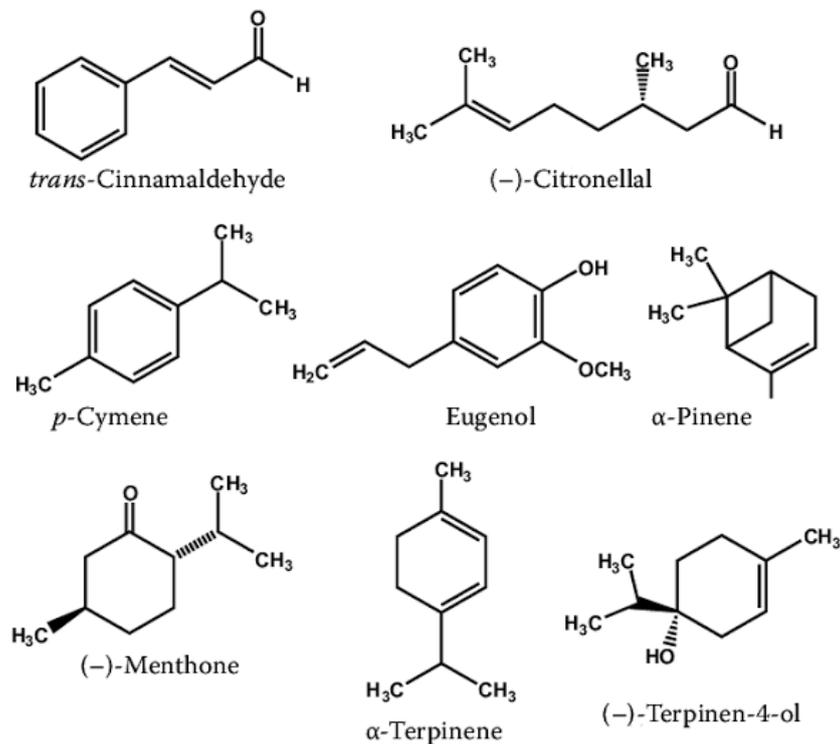


Figure 1.1 : structure de quelques monoterpènes.

1.6.1.2 Sesquiterpènes :

Ce sont des molécules à 15 atomes (figure 1.2) de carbone constitué par trois unités isopréniques, ils forment un sous-groupe reparti de même façon que les monoterpènes [13].

Ils sont abondants dans les essences dont ils constituent parfois une considérable, se distinguent des autres terpènes par leur point d'ébullition plus élevés (250 à 280 °C), par une densité plus forte $d > 0.9$ et par un indice de réfraction plus élevé [14].

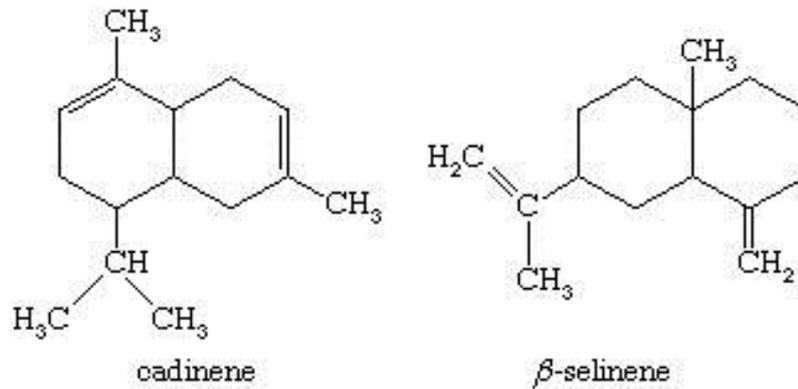


Figure 1.2 : Structure de sesquiterpènes

1.7 Composés oxygénés :

A l'intérieur de ce groupe on rencontre des alcools aliphatiques et cycliques, saturés, des esters oxydes, des phénols, des lactones, des composés sulfurés [15].

Il existe naturellement d'autres corps qui peuvent entrer en faibles proportions dans la constitution de certaines HE : acides organiques, cétones de faible poids moléculaire, coumarines volatiles, flavonoïdes, etc. [9].

1.8 Composés d'origines diverses :

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques généralement de faible masse moléculaire entraînés lors de l'hydro distillation : hydrocarbures (linéaires ou ramifiées, saturées ou insaturées), acides (C_3 à C_{10}), alcools, aldéhydes, esters acycliques et des lactones [10].

1.9 Toxicité des huiles essentielles :

Etant de véritables concentrés des forces vivifiantes, apaisantes et fortifiantes de la nature, elles ont des qualités thérapeutiques très puissantes et sont donc à utiliser avec modération et précaution, il faut retenir leurs pouvoirs toxiques, notamment leurs hépatotoxicité, neurotoxicité et phototoxicité récemment élucidée pour quelques huiles essentielles. Elles possèdent, en général, une toxicité aigüe par voie orale faible [15].

Les espèces du genre citrus, le plus souvent incriminées dans les cas de phototoxicité sont : le bigaradier, le bergamotier, le citronnier et le limettier. Des cas de photosensibilisation ont été rapportés, essentiellement chez des personnes à peau claire [16] pour des produits à usage non traditionnel à base d'huile essentielle d'écorce d'orange amère.

Les huiles essentielles des écorces de citrus, principalement d'orange, de pamplemousse, de bergamote et de citron vert sont irritantes (brûlures, prurit et autres réactions cutanées fortes) sur la peau normale après un contact d'une heure.

Les huiles essentielles ne doivent pas être appliquées sur les muqueuses ou sur les yeux.

La majorité des H.E ne doivent pas être appliquée pures sur la peau mais diluées dans une huile végétale comme l'amande douce. (Sauf indication, ne pas dépasser une concentration de 5%, soit 100 gouttes pour 10cl).

Excepté en cuisine où le dosage sur des corps gras dans des sauces, des crèmes et des desserts est infime, l'ingestion des huiles essentielles relève exclusivement de la médecine.

1.10 Procédés d'extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants qui sont plus ou moins modifiés pendant les processus de préparation [10]. De ce fait le choix du procédé d'extraction varie selon plusieurs paramètres à savoir :

- La nature de la matière première ;
- La richesse en HE (le rendement) ;
- La fragilité et la sensibilité de certains constituants aux températures élevées ;
- L'action de l'eau et sa solubilité dans les solvants organiques.

1.11 Hydrodistillation :

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult). Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des

molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger (figure 1.3).

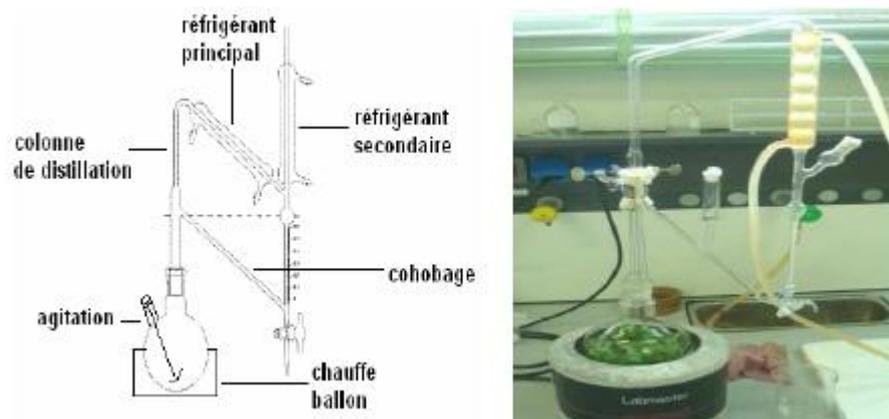


Figure 1.3 : Hydrodistillation.

1.12 Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes standards pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (figure I.4).

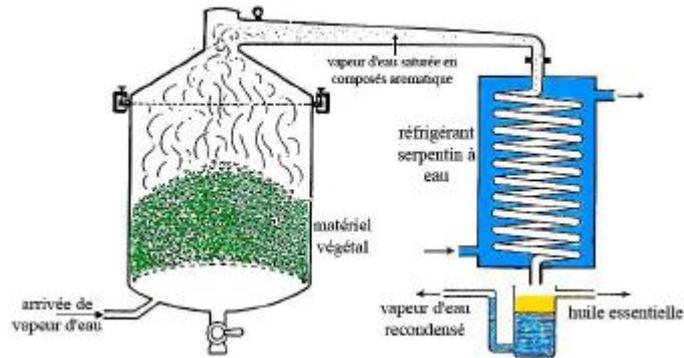
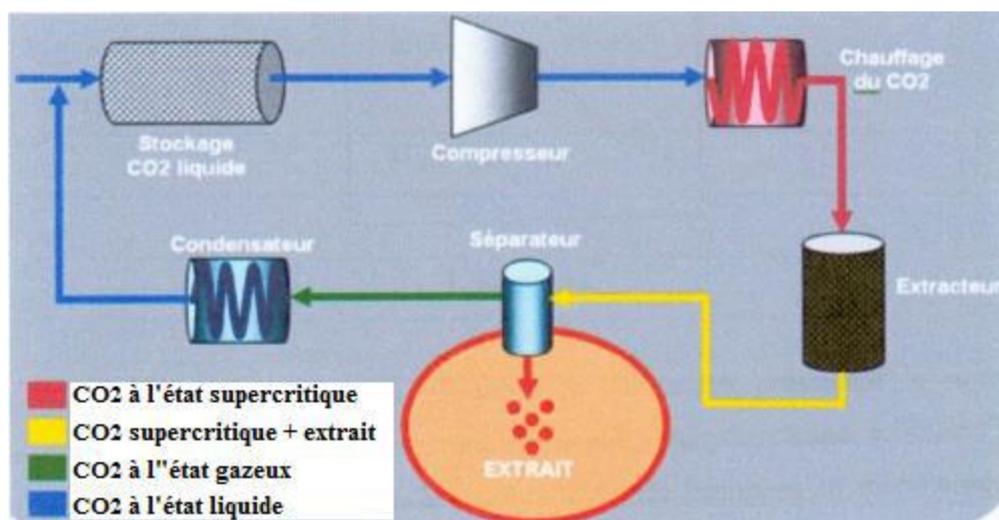


Figure 1.4 : Entraînement à la vapeur.

1.13 Extraction par fluide supercritique :

Extraction par fluides supercritiques a pris ces dernières années, beaucoup d'essor concernant l'extraction des extraits végétaux. Le principal avantage de cette technique est celui de combiner les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus d'extraction (figure 1.5). En outre tous les processus de dégradation possibles tels que l'oxydation ou isomérisation sont réduits au minimum du fait que le temps d'extraction y'est réduit. Toutefois, cette technique d'extraction présente un inconvénient la basse polarité du dioxyde de carbone supercritique qui est le solvant d'extraction le plus employé. Au-delà du point critique ($P = 73,8$ bars, $T = 31,1^\circ\text{C}$), le CO_2 possède les propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction [17].

Figure 1.5 : schéma de la technique d'extraction par le CO_2 supercritique [18]

1.14 Extraction assistée par micro-ondes :

1.14.1 Les micro-ondes :

1.14.1.1 Définition :

Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques couvrant les gammes des ondes décimétriques UHF, centimétriques SHF et millimétriques EHF (figure 1.6). Dans le spectre électromagnétique, les micro-ondes occupent une bande de fréquence de trois décades de 300 GHz à 300 MHz. Les longueurs d'ondes associées s'étalent de 1 millimètre à 1 mètre. La fréquence la plus utilisée est de 2450 MHz correspondant à la fréquence de la majorité des magnétrons des fours micro-ondes de cuisine ayant une puissance de 600 à 1000 Watts et une longueur d'onde dans l'air de 12,2 cm.

Un four à micro-ondes est constitué de trois éléments principaux:

- le générateur micro-ondes,
- le guide d'onde,
- la cavité micro-ondes.

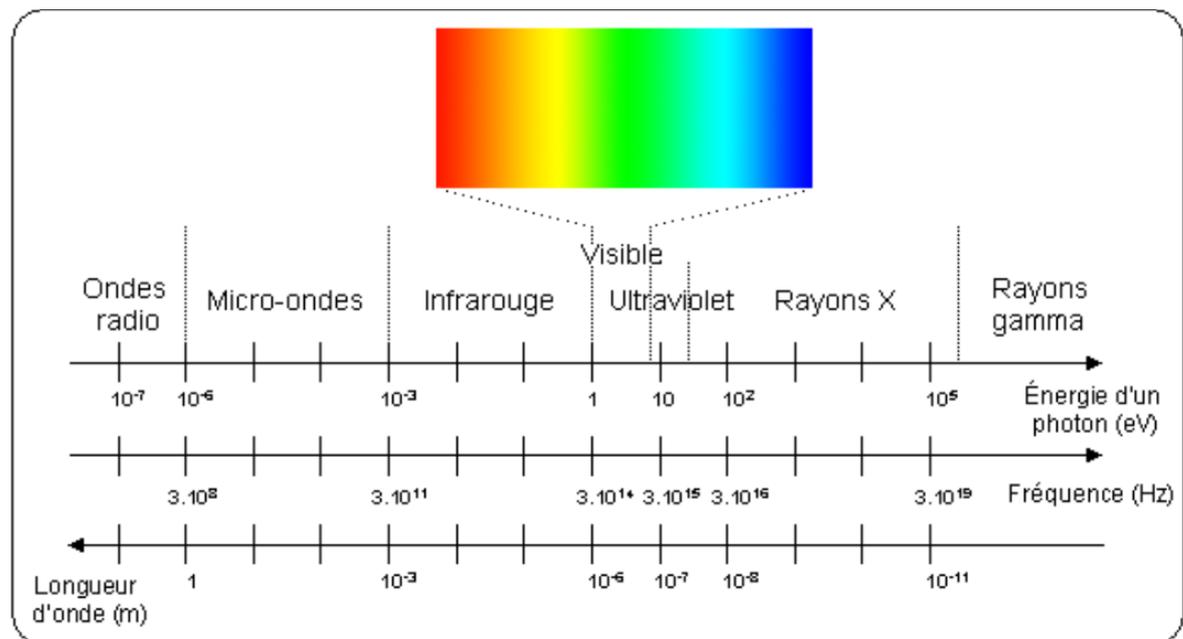


Figure 1.6 : Spectre électromagnétique

1.15 Le chauffage micro-ondes :

Le transfert de chaleur sous chauffage micro-ondes est complètement inversé par rapport au chauffage conventionnel. Le transfert de chaleur classique se transmet de l'extérieur vers l'intérieur du récipient. Sous chauffage micro-ondes, le volume traité devient lui-même source de chaleur. On parle de dégagement de la chaleur de l'intérieur vers

l'extérieur du récipient. La paroi externe du réacteur est plus froide que le milieu du réacteur dans le cas du chauffage micro-ondes, et inversement pour le cas du chauffage conventionnel par double enveloppe, plaque chauffante et flamme. C'est un mode de chauffage instantané en volume et non en surface. Les phénomènes thermiques de conduction et de convection ne jouent plus qu'un rôle secondaire d'équilibrage de la température. Des surchauffes locales peuvent également se produire. La figure 1.7 illustre les deux modes de chauffage.

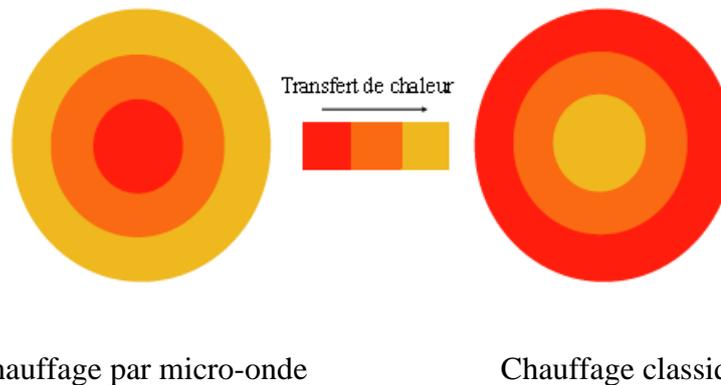


Figure 1.7 : Transfert de chaleur sous chauffage classique et sous chauffage par micro-
onde.

1.16 Procédé d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM)

En 2004, une méthode originale d'extraction des produits naturels assistée par microondes à pression atmosphérique, sans solvant et sans eau a été développée et brevetée par Chemat *et al.* [19]. Basée sur un principe relativement simple, cette méthode décrit une distillation sèche assistée par micro-ondes qui consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajouter ni eau ni solvant organique. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante permet la rupture des glandes contenant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite à partir de l'eau de la matière végétale. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation de façon continue du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, et le retour de l'excès d'eau à l'intérieur du ballon afin de maintenir le taux d'humidité propre au matériel végétal.

1.16.1 L'extraction par solvant :

Ganzler et coll, en 1986 [20], en Hongrie furent les premiers à présenter une technique d'extraction par solvant assistée par micro-ondes en vue d'une analyse chromatographique. Ce procédé consistait à irradier par micro-ondes de la matière, végétale ou non, broyée au préalable en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble était chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. Après, une étape de séparation par centrifugation, les échantillons étaient directement injectés sur colonne chromatographique. La figure 1.8 illustre l'extraction par solvant assisté par micro-ondes :

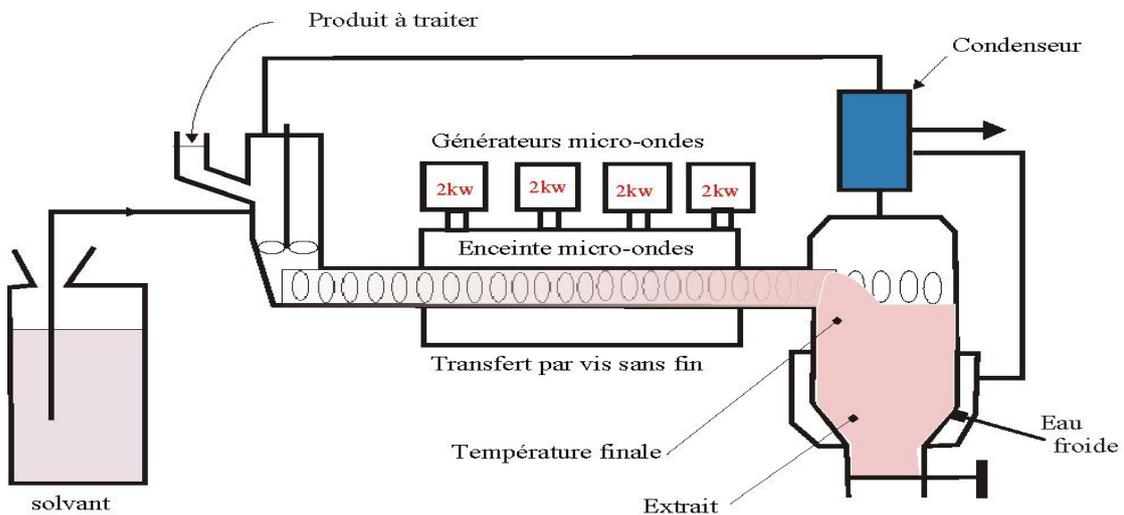


Figure 1.8 :L'extraction par solvant assistée par micro-ondes

1.16.2 Hydrodistillation assistée par micro-ondes

Récemment, Stashenko et *al.* (2004a, b)[3], utilisent un procédé d'hydrodistillation par micro-ondes. Ce procédé basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique consiste à placer une partie du montage d'hydrodistillation dans le four à micro-ondes (figure 1.9). Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four. Les avantages cités par ces auteurs sont la rapidité et la similitude de la composition de l'huile par rapport à une hydrodistillation classique.

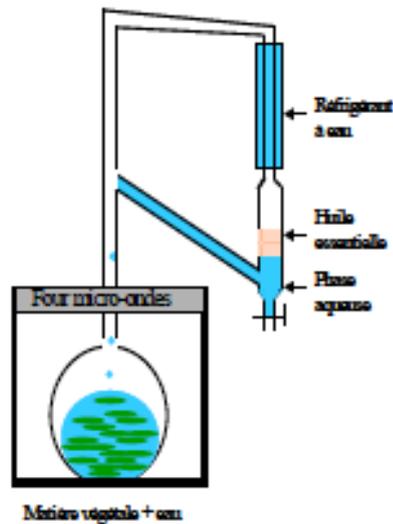


Figure 1.9 : Schéma de l'hydrodistillation assistée par micro-ondes.

1.17 Analyse des HE

L'analyse chimique des HE est généralement réalisée par la chromatographie en phase gazeuse (analyse quantitative) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse qui permet une séparation nette et une identification précise des composés d'une essence végétale [22].

1.18 Principaux domaines d'application des HE

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plantes aromatiques et leurs essences trouvent leurs emplois dans de multiples domaines tels que : l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie, l'aromathérapie et autres [23]. Deux industries se partagent ce marché mondial florissant ; il s'agit de l'industrie agroalimentaire et la parfumerie. Les huiles essentielles interviennent dans la fabrication :

- Des produits alimentaires : jus de fruits, crèmes glacées, bonbons, etc.
- De tabac pour cigarettes,
- Des produits d'hygiène et de beauté,
- Des parfums, la désinfection des locaux (elles sont antiseptiques),
- Des colles et vernis dans l'industrie chimique.

Les huiles essentielles sont utilisées également pour leurs différentes propriétés et effets thérapeutiques divers [24], tels que les effets anti-infectieux. Parmi ces molécules

antibactériennes les plus puissantes, nous pouvons citer: le Cavacol, le Thymol et l'Eugénol, le Géraniol, le Linalool, Térpineol menthol, etc.

Le massage aux huiles essentielles constitue un traitement curatif puissant, stimulant et relaxant. Les huiles essentielles sont incorporées dans les crèmes, les lotions, gels et shampooings. Les huiles essentielles possèdent également des propriétés insecticides et insectifuges : c'est le cas de l'huile essentielle de *Cymbopogonchonanthus*, un biopesticide efficace contre *collasobruchusmaculatus F.*, prédateur de niébé [25].

2. LES AGRUMES

2.1 Définition :

Le terme d'agrumes provient du latin *acrumen* qui signifiait aigre. Ce terme correspond à la saveur acide de la plupart de ces fruits (citron, oranges, pomelo, pamplemousse, clémentine, mandrine, tangerine, kumbaya, kumquat...) qui appartiennent à la grande famille des Rutacées. Cette dernière comprend 900 espèces réparties en 150 genres. [26].

2.2 Description

Les agrumes sont des arbres ou des arbustes, souvent épineux et atteignant 5 à 15 m de haut. Leur feuillage, généralement vert très foncé, est dense et persistant sauf pour quelques variétés hybrides dont les feuilles sont caduques ou semi-persistantes [27]. Les agrumes cultivés en orangerie, sont généralement composés de deux parties :

- une partie aérienne, essentiellement constituée par la variété (ou cultivar) de l'espèce (oranger, mandarinier, clémentinier, citronnier, pomélo, ...). C'est la partie productive de l'arbre, celle qui porte les fruits,
- une partie souterraine, formée par le porte-greffe (ou sujet). C'est la partie qui assure à la fois l'ancrage de l'arbre au sol, et son alimentation en eau et en sels minéraux.

Les fruits charnus des agrumes sont classés parmi les baies. Ils sont le plus souvent comestibles [28]. Ils sont revêtus d'une peau généralement lisse et sont divisés intérieurement en loges, dites quartiers. Ces loges contiennent les vésicules de jus et des pépins. La baie des agrumes est formée de l'épicarpe (ou flavédo) qui correspond à la partie la plus externe de l'écorce, colorée en jaune orangé ou en rouge et, comprenant de nombreuses poches sécrétrices d'huile essentielles [24]. Le mésocarpe (ou albédo) est la couche intérieure de l'écorce blanche et spongieuse et riche en pectines [29]. La combinaison flavédo et albédo est appelée péricarpe, communément connu sous le nom d'écorce ou peau. [30]. Cette peau est aussi appelée zeste et, elle constitue la partie non comestible du fruit.

Parfois elle constitue la majeure partie du fruit (pamplemousse, cédrats...) et, d'autre fois, elle reste peu développée (orange, mandarines,...). L'endocarpe (ou pulpe) représente la partie comestible du fruit, il est composé de segments, recouverts par une membrane mince, distribués autour d'un axe central (placenta) ayant la même composition que

l'albêdo. Les segments sont composés de cellules à jus recouvertes par des membranes plus fines. Pendant que le fruit mûrit, le jus s'accumule dans les vacuoles et occupe la majeure partie du volume des cellules mûres. [31]. Tous les fruits des *Citrus* cultivés présentent la même structure anatomique, mais les éléments composant cette structure varient avec l'espèce et la variété [32]. La figure 2.1 illustre bien la composition générale du fruit des agrumes.

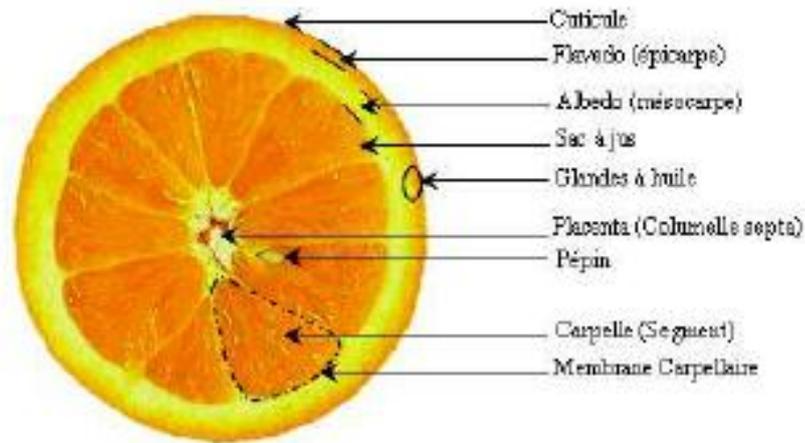


Figure 2.1 : Coupe transversale d'une orange.

2.3 Importance alimentaire des agrumes

Les fruits des agrumes sont d'une grande importance dans l'alimentation humaine. Ils sont riches en sucre, nécessaire pour la plupart, à la production de l'énergie dont le corps humain à besoin. Ils contiennent des sels minéraux et des vitamines indispensables au maintien de la bonne santé. Ils contiennent aussi beaucoup d'eau (80 à 85%) qui est le constituant essentiel du corps humain (Ministère de l'Agriculture, 1995).

Les agrumes présentent une composition variable. Ils ont un apport énergétique modéré (environ de 25 à 45 calories pour 100 g). Ils contiennent très peu des protéines et des lipides. Ils sont riches en fibres (notamment en pectine, une fibre soluble) qui facilitent le transit intestinal. Ils représentent aussi une bonne source de minéraux (calcium, potassium, magnésium...). Leur contenu exceptionnel en antioxydants puissants, est intéressant en prévention des maladies cardiovasculaires et dégénératives liées à l'âge. Ce sont les fruits vedettes de la saison hivernale en raison de leur teneur en vitamines C (environ 30 à 55 mg pour 100g) [26]. Ils représentent une excellente source de vitamine C et ils renferment également des vitamines : A (rétinol), B3 (nicotinamide), B5 (acide pantothénique), B6 (pyridoxine) et E (tocophérol) [33].

2.4 Importance économique

Les exportations d'agrumes frais représentent environ 8 % de la production mondiale d'agrumes. La majeure partie des exportations d'agrumes frais se situe dans l'hémisphère nord et représente environ 62 % des exportations mondiales d'agrumes frais. La région méditerranéenne joue un rôle prédominant en tant qu'exportateur d'agrumes frais, avec 60 % du volume global. Les 10 pays principaux consommateurs d'oranges fraîches dans le monde durant la période 2007 – 2010 (USDA, 2010) sont présentés sur la figure 2.2

Le Tableau II.1 regroupe respectivement les principaux pays importateurs et exportateurs des agrumes durant la dernière saison 2009/2010, d'après les statistiques des Nations Unis (2010) du marché mondial des fruits d'agrumes.

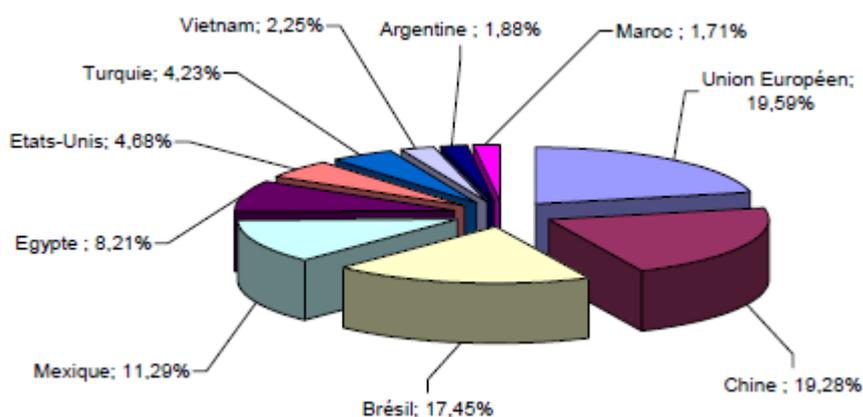


Figure 2.2: Les 10 pays principaux consommateurs d'oranges fraîches dans le monde durant la période 2007 – 2010 (USDA, 2010).

Tableau 2.1 : Les principaux pays importateurs et exportateurs d'agrumes dans le monde.

Pays importateurs	Valeur marchande (\$ US)	Pays exportateurs	Valeur marchande (\$ US)
France	12 507 615,00	Israël	41 137 000,00
Allemagne	12 413 000,00	Hollande	32 164 180,00
Danemark	10 414 032,00	Zimbabwe	16 445 389,00
Canada	9 501 910,00	Chine	11 545 901,00
Hollande	9 169 013,00	Inde	7 662 604,00
Autres	76 305 983,00	Autres	76 085 275,00
Total des importations	130 311 553,00	Total des exportations	185 040 349,00

(Source : Nations Unis, 2010).

2.5 Différentes variétés d'agrumes

Il existe différentes variétés de Citrus, agrumes consommés et utilisés industriellement partout dans le monde : Les Oranges ; Les Bigarades ; Les mandarines ; Les citrons ; Les Limes ; Les Cédrats ; Les pomelos ; Les pamplemousses ; Les cambavas ; Les Kumquats....

2.5.1 L'orange :

2.5.1.1 Historique :

Au 17^{ème} siècle, l'orange s'appelait Orange du Portugal, Orange douce et le plus populaire Orange de la Chine. Depuis, son nom scientifique est devenu *Citrus sinensis* (agrumes chinois). Elle représente l'espèce commerciale de *Citrus* la plus importante dans le monde.

L'introduction de l'oranger en Algérie est ancienne sans qu'il soit possible de la dater avec précision mais le développement de sa plantation caractérise l'époque coloniale [34].

2.5.1.2 Description et composition :

D'une hauteur de 2 à 3 m et d'une durée de vie de 300 à 400 ans, l'orange contient en moyenne 12% de glucides (40% de saccharose) de la vitamine C (80mg/100g), vitamines V, B1, B9, E, provitamine A. Riche en calcium (40mg/100g), 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.

2.5.1.3 Importance économique :

Parmi les raisons qui ont donné aux oranges un poids économique sur la scène internationale figurent leurs bienfaits sur la santé, attribués relativement à leurs compositions chimiques. La production mondiale d'agrumes s'est élevée à 123 millions de tonnes en 2010 avec une part majoritaire d'environ 55% pour les oranges (UNCTAD, 2013).

Bien que ces fruits soient utilisés principalement pour le dessert, ces derniers sont aussi des sources d'huiles essentielles en raison de leurs composés aromatiques [35], [36].

L'industrie de la transformation des oranges dans le monde entier a un chiffre d'affaires de plus de 2 milliards de dollars par an. Plus de 400 à 500 millions d'arbres sont cultivés, principalement au Brésil et en Floride, avec respectivement environ 150 et 60 millions

d'arbres, et quelques 75 000 tonnes /an de *d*-limonène et d'huile d'orange produites à partir du fruit [37].

2.5.1.4 Répartition géographique :

La production d'oranges est très répandue autour du globe. Cependant, la majeure partie de la production se concentre dans certaines zones géographiques et est cultivée dans l'hémisphère Nord (environ 70 % de la production totale). Les principaux pays producteurs d'orange durant la période 2007-2010 sont le Brésil, les pays du Bassin Méditerranéen, la Chine et des Etats-Unis (USDA, 2010).

Ces pays comptent pour plus de deux tiers de la production totale d'agrumes.

Le verger agrumicole Algérien occupe une superficie de 64154 ha dont 50873 ha se répartissent en majorité dans les wilayas de Blida (26%), Chlef (9%) et Alger (8%), dont les oranges sont les principales espèces cultivées avec une production de 72% (MADR, 2009).

2.5.1.5 Utilisation :

En cuisine : écorces d'oranges confites, pâtes de fruits, glaces, eau de fleurs d'oranger, liqueurs à base d'écorces d'oranges douces et amères.

En cosmétologie : elle rentre dans la composition de nombreux parfums et eaux de toilette.

2.5.2 Les mandarines :

2.5.2.1 Historique :

Les mandarines ont été cultivées en Chine et au Japon sur une grande échelle depuis le 16^{ème} siècle. C'est le dernier agrume important arrivé en Europe au 19^{ème} siècle. En 1805, deux variétés ont été acheminées en Angleterre en provenance de la région chinoise de Canton. De l'Angleterre, ils ont été introduits dans la région méditerranéenne. En 1850, le fruit fut solidement établi en Italie. En Algérie le mandarinier a été introduit par Hrды en 1850 [38].

2.5.2.2 Description et composition chimique :

Le mandarinier est un arbuste mesurant de 3 m à 6 m de haut pour 1.5 m à 3 m de diamètre. Ses feuillages persistent et d'un bon vert foncé. Le fruit d'un diamètre de 5 à 9 cm est sphérique et légèrement aplati. Sa chair, sucrée et parfumée, est

l'une des moins acides parmi les agrumes, mais elle a de nombreux pépins. Son écorce est fine et d'une couleur orange.

La mandarine contient en moyenne 85.17% de l'eau, 13.34% de glucides, 0.81% de protéines, 0.31% de lipides et 1.8% des fibres alimentaires (Wikipédia).

2.5.2.3 Répartition géographique :

Comme les oranges, la production des mandarines aussi se concentre beaucoup dans les zones géographiques à climat tempéré notamment dans l'hémisphère nord les principaux pays producteur de mandarine sont la Chine 49%, L'Espagne 10%, le Brésil 5%, le Japon 5%, l'Egypte 3%, les Etats unis 2% (FAO, 2005).

En Algérie la Mitidja de Blida et plus particulièrement à Boufarik est la zone qui regorge la plus grande surface cultivé.

2.5.2.4 Utilisation :

Les mandarines occupent une place de plus en plus importante dans le marché des agrumes frais, du fait que le marché mondial a considérablement changé durant les 20 dernières années avec une préférence accrue des consommateurs vers des mandarines sans pépins, savoureuses dotées d'une peau de belle couleur d'un épluchage facile. Par conséquent, les mandarines sont désormais le plus grand secteur de l'industrie des agrumes frais dans le monde. Le nombre de variétés de mandarines commercialisées est presque égal au nombre de tous les types d'agrumes horticoles

3. MATERIEL ET METHODES

3.1 Matériel et produits chimiques

Les produits chimiques utilisés dans les différentes investigations, ainsi que le matériel de laboratoire sont présentés dans le Tableau 3.1.

Tableau 3.1 : Matériel et produit chimique utilisés.

Produits chimiques	Matériel	
Ethanol 95% Hexane Hydroxyde de potassium 85% Phénolphtaléine	Clevenger Four micro-onde Balance électronique Ballon à fond rond Burette Entonnoir Becher Tube à essais	Pipette Réfractomètre ABBE Polarimètre BIOBLOCK thermomètre Pycnomètre 5ml Ependorf Micro-séringue Moulin à café Déssicateur Radwag Tamiseur Retsch

Le plan de travail est comme suite :

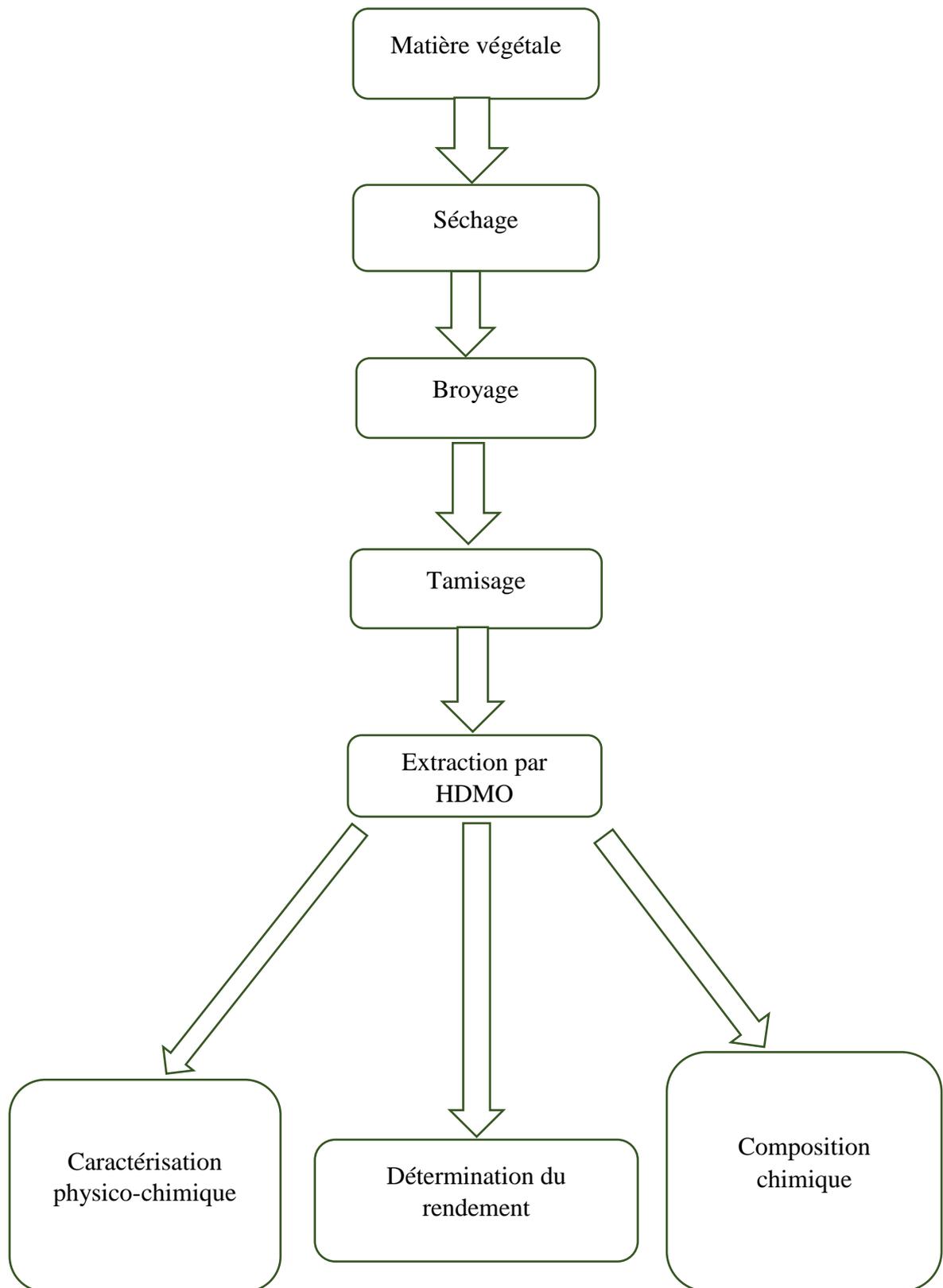


Figure 3.1 : Plan de travail

3.2 Matière première végétale

Nous avons utilisé deux variétés d'agrumes : une variété d'orange (*Citrus sinensis* (L) Osbeck) (figure 3.2) et de mandarine (*Citrus reticulata* Blanco) (figure 3.3). Ces fruits ont été récoltés dans un verger à Boufarik chez un exploitant agrumicole durant le mois de décembre 2018.

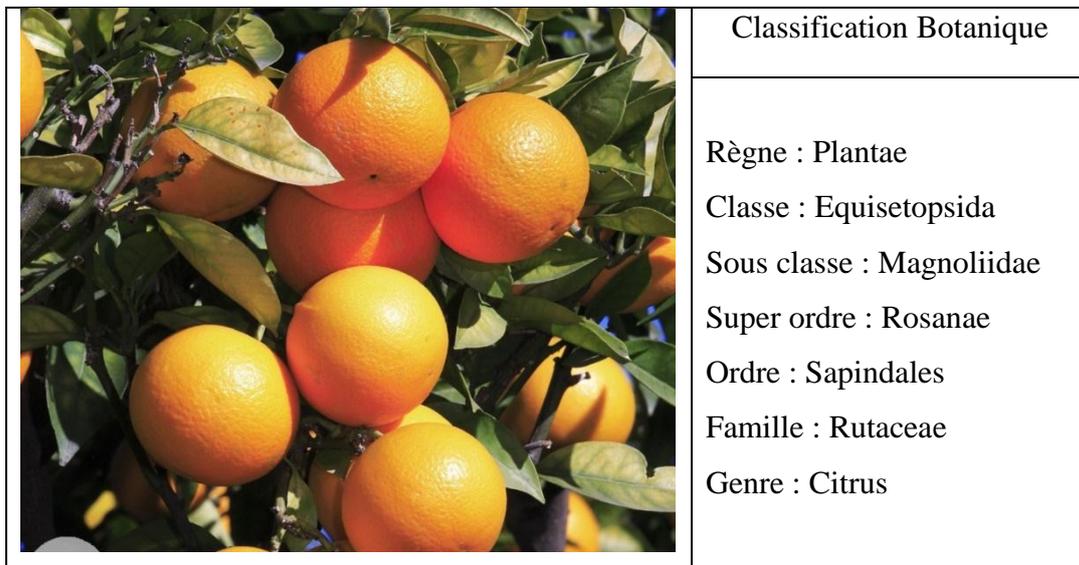


Figure 3.2 : Orange douce : *Citrus sinensis* (L) Osbeck.

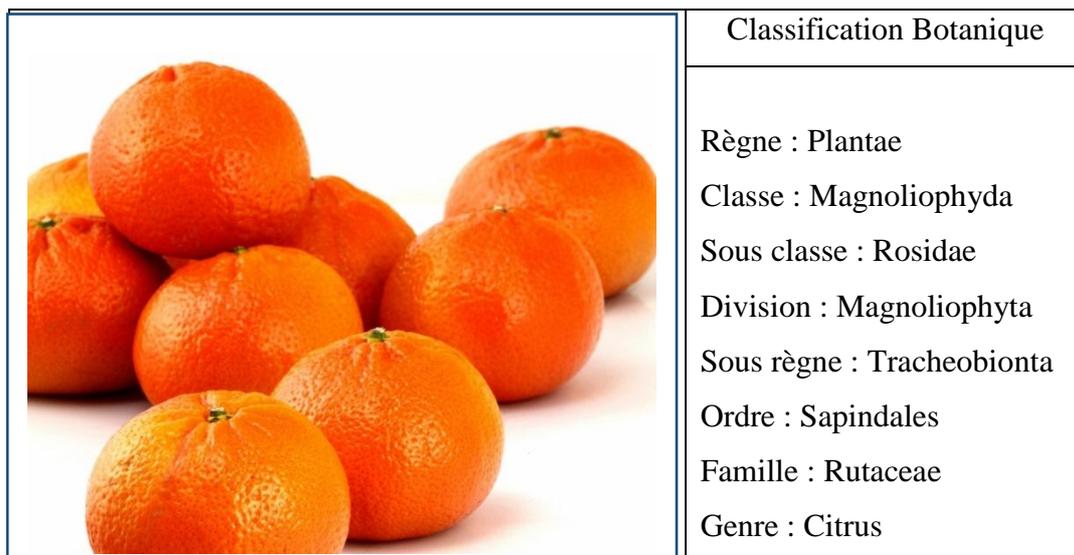


Figure 3.3 : Mandarine : *Citrus reticulata* Blanco.

3.3 Préparation de la matière végétale pour l'extraction :

3.3.1 Le séchage :

Après récolte, les écorces sont nettoyées, séchées à l'ombre ou l'air peut circuler librement à une température de 16 et 20°C pendant 15 jours.

3.3.2 Le broyage :

Le broyage des écorces a été faite à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre.

3.3.3 Le tamisage :

La poudre obtenue est tamisée au laboratoire dans un appareil appelé tamiseur. Cette opération utilise, pour la séparation, différents diamètres à partir d'une série de huit tamis de diamètres différents [$\leq 100 \mu\text{m} - 1 \text{mm}$], pendant 10 min. On récupère dans chaque tamis la poudre d'écorces d'orange et de mandarine.

Après tamisage, les échantillons de poudre d'écorce d'orange et de mandarine sont introduits dans des verreries (figure 3.4).



Figure 3.4 : Les échantillons de poudre d'orange et de mandarine.

Ces échantillons sont étiquetés, le tableau 3.2 illustre les granulométries des échantillons respectifs.

Tableau 3.2 : Granulométrie des échantillons.

Numéro de l'échantillon	Intervalle des diamètres (granulométrie) (μm)
Echantillon 1	[100 - 200]
Echantillon 2	[200 - 300]
Echantillon 3	[300 - 400]
Echantillon 4	[400 - 500]
Echantillon 5	[500 - 630]
Echantillon 6	[630 - 800]
Echantillon 7	[800 - 1000]
Echantillon 8	> 1000

3.4 La teneur en eau des écorces

Pour déterminer la teneur en eau des écorces de nos échantillons, on utilise la méthode thermogravimétrique de référence [39].

3.4.1 Principe :

On pèse l'échantillon (ME). On élimine l'eau par chauffage jusqu'à ce que la masse de l'échantillon demeure constante. On pèse l'échantillon sec (MST), c'est-à-dire les solides totaux. Ces derniers sont définis comme étant le résidu d'un produit restant après élimination de l'eau contenue dans ce produit.

Cette opération est effectuée à l'aide d'un dessiccateur électronique de type Radwag MAC50/1 /NP muni d'un chauffage à lampe infrarouge dans lequel on introduit une certaine masse d'écorces fraîche ME qui est chauffé, on mesure successivement la masse de l'échantillon jusqu'à ce que la masse ne varie plus. Le chauffage des écorces permet d'éliminer la totalité de l'eau qu'elles contiennent et ainsi de calculer la quantité d'eau évaporée. Après séchage, l'échantillon est pesé MST afin de déterminer sa teneur en eau.

3.4.2 Mode opératoire et calcul

Le pourcentage de matière sèche et la teneur en eau des écorces sont donnés par les formules suivantes :

- Le pourcentage de la matière sèche :

$$ST(\%) = \left(\frac{M_{ST}}{M_E} \right) \times 100 \quad (3.1)$$

ST(%) : pourcentage de solides totaux ou de matière sèche.

M_{ST} : masse de l'échantillon sec (g).

M_E : masse de l'échantillon à l'état frais (g).

- La teneur en eau des écorces :

$$H_2O(\%) = 100 - ST(\%) \quad (3.2)$$

$H_2O(\%)$: teneur en eau.

3.5 La méthode d'hydro distillation assistée par micro-ondes

3.5.1 Principe de l'hydrodistillation

Les huiles essentielles ont été extraites par hydro distillation. L'hydro distillation consiste à immerger la plante aromatique dans un volume d'eau. Le mélange obtenu est porté à ébullition. Les vapeurs qui se dégagent sont condensées. L'huile essentielle est récupérée à la surface de l'eau aromatique (phase aqueuse) ainsi obtenue [40].

3.5.2 Mode opératoire :

Dans un ballon de 500 ml, on met 30 g de poudre d'écorce de mandarine et 200 ml d'eau distillée et pour les écorces d'orange dans un ballon de 1000ml, on met 60g de poudre et 400 ml d'eau distillée. Ces préparations sont portées à ébullition dans un four à micro-ondes réglé à la puissance de 600 watts, pendant un premier temps de 10 min et ensuite 600watts pendant 5min. Les vapeurs chargées d'huiles traversent un réfrigérant, se condensent et chutent dans un bécher. En fin d'opération, on obtient deux phases non miscibles (eau et huile essentielle) qui se séparent par leur différence de densité (Pharmacopée Européenne, 2002).

Le four à micro-ondes permet de porter rapidement le mélange à ébullition, les vapeurs d'eau chargées d'huile essentielle et de composés odorants passent dans le système Clevenger qui permet leur condensation dans le réfrigérant. On récupère deux phases non miscibles l'une aqueuse en bas (la plus dense) et l'huile essentielle, moins dense, surnage au-dessus de la phase aqueuse (hydrolat). L'hydrolat est récupéré dans un bécher et les

huiles essentielles obtenues sont stockées dans des épandorfs transparents fermés et recouverts de papier aluminium. Elles sont conservées au réfrigérateur à 4°C.

L'hydrodistillation des écorces des agrumes est réalisée à l'aide d'un dispositif de type Clevenger monté sur un four micro-onde. Le montage utilisé est présenté dans la figure 3.7.

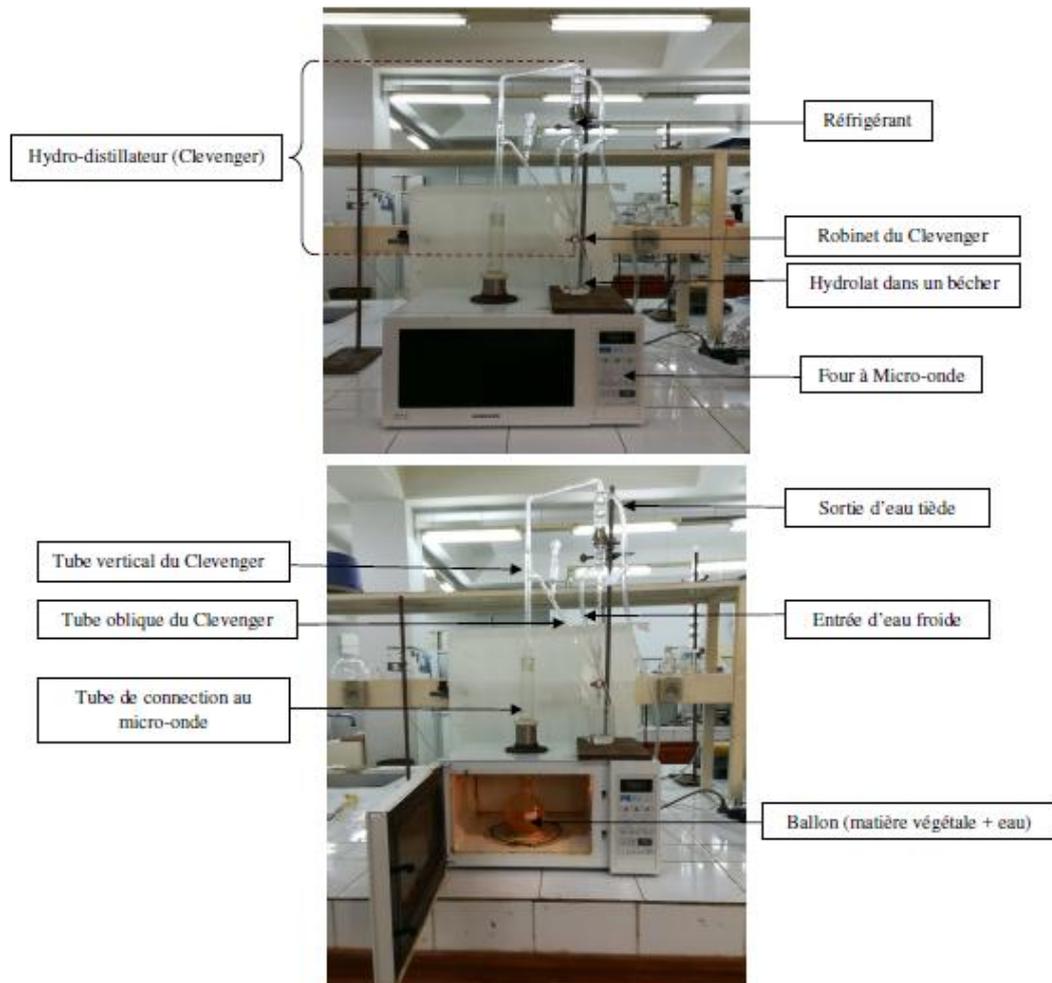


Figure 3.5 : Schéma du dispositif d'hydro distillation assistée par micro-ondes

3.6 Caractérisation des huiles essentielles extraites

La caractérisation des huiles essentielles se fait à fin d'évaluer la qualité de nos extraits, nous avons réalisé une étude analytique, tout d'abord en déterminant les Caractéristiques organoleptiques, puis les propriétés physico-chimiques.

3.6.1 Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) sont des indications qui permettent d'évaluer initialement 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.

- ❖ L'aspect ou état de l'huile essentielle dépend des produits qui la constituent. Il peut paraître sous forme solide, liquide ou solide-liquide. Il est lié au pouvoir de dissolution de la matière végétale. Cette caractéristique est vérifiable à l'œil nu.
- ❖ L'odeur de l'huile essentielle fait intervenir le sens de l'odorat qui est un sens chimique très sensible. Une substance pour être sentie doit être volatile. À 3 gouttes d'huile sont ajoutés 5 ml d'alcool à 90% qui sont agités avec 10 g de saccharose pulvérisé. L'odeur est ainsi semblable à celle de la plante ou des parties composant la plante (Pharmacopée Européenne, 2001).
- ❖ **La couleur** de l'huile essentielle dépend des produits qui constituent l'extrait. Cette caractéristique est vérifiable à l'œil nu.

3.6.2 Propriétés physico-chimiques :

3.6.2.1 Densité relative à 20°C :

3.6.2.1.1 Définition :

La densité relative à 20°C représente le rapport entre la masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20°C et la masse d'un volume égal d'eau à 20°C. Elle constitue un point de repère important. Sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE (AFNOR, 2000).

$$d_{(\text{HE}) 20^\circ\text{C}} = \frac{\rho_{(\text{HE}) 20^\circ\text{C}}}{\rho_{(\text{eau}) 20^\circ\text{C}}} \quad (3.3)$$

$d_{(\text{HE}) 20^\circ\text{C}}$: densité relative de l'huile essentielle à 20°C.

$\rho_{(\text{HE}) 20^\circ\text{C}}$: masse volumique de l'huile essentielle à 20°C.

$\rho_{(\text{eau}) 20^\circ\text{C}}$: masse volumique de l'eau à 20°C.

Avec: $\rho_{(\text{HE}) 20^\circ\text{C}} = m_{(\text{HE}) 20^\circ\text{C}} / v_{(\text{HE}) 20^\circ\text{C}}$

$m_{(\text{HE}) 20^\circ\text{C}}$: masse d'huile essentielle à 20°C.

$v_{(\text{HE}) 20^\circ\text{C}}$: volume d'huile essentielle à 20°C.

$\rho_{(\text{eau}) 20^\circ\text{C}} = 998,29 \text{ g/l}$

3.6.2.1.2 Mode opératoire et calcul :

La méthode de référence utilisée pour déterminer la densité relative à 20°C de l'huile essentielle des écorces des agrumes est donnée dans la norme NF ISO 279 : 1999 ou NF T 75 – 111.

Pour chaque H.E. extraite, nous avons prélevé un volume de 1.5 ml à l'aide d'une pipette. Ensuite, ce volume a été introduit dans un pycnomètre de 5 ml et pesé à l'aide d'une balance analytique de précision, en prenant en considération le coefficient de température :

$$d_{20} = \left(\frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \right) + 0.00073 \times (T - 20) \quad (3.4)$$

d_{20} : densité relative à 20°C

m_0 : masse de la fiole vide (g).

m_1 : masse de la fiole remplie d'eau (g).

m_2 : masse de la fiole remplie d'huile essentielle (g).

T : température ambiante (° C).

3.6.2.2 Indice de réfraction à 20°C

3.6.2.2.1 Définition

C'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. On entend par indice de réfraction d'une substance le rapport de la vitesse d'une lumière de longueur d'onde définie dans le vide à sa vitesse dans la substance (NF ISO 280 : 1999 ou NF T 75 – 112).

L'appareil qui sert à mesurer l'indice de réfraction des liquides, est le réfractomètre ABBE dont l'usage est assez recommandé et qui permet la détermination d'indices de réfraction compris entre 1,300 et 1,700. L'indice de réfraction dépend de la longueur d'onde de la lumière incidente et de la température à laquelle est effectuée la mesure. La longueur d'onde de référence est la raie D du sodium (= 589 nm) et la température de référence est de 20°C.

L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé, supérieur à celui de l'eau, ceci indique leur richesse en composants déviant la lumière polarisée [5].

L'indice de réfraction renseigne sur la qualité de l'huile végétale [41]. Sa mesure permet d'identifier un liquide et de contrôler sa pureté. La présence d'impuretés modifie la valeur de l'indice de réfraction.

3.6.2.2.2 Mode opératoire et calcul

La méthode de référence utilisée pour déterminer l'indice de réfraction à 20°C de l'huile essentielle des écorces des agrumes est donnée dans la norme NF ISO 280 : 1999 ou NF T 75 –112.

Un nettoyage préalable de l'appareil à l'éthanol est nécessaire avant de débiter toute mesure. Puis l'étalonnage du réfractomètre est vérifié en mesurant l'indice de réfraction de l'eau distillée qui doit être de 1,333 à une température de 20°C.

Après ouverture du prisme secondaire, nous déposons 2 gouttes d'huile essentielle sur la partie centrale du prisme principal et nous fermons délicatement le prisme secondaire. La lecture de la mesure s'effectue à une température stable. L'indice de réfraction est lu à 0,0001 en valeur absolue et la température du prisme de l'appareil est notée.

L'indice de réfraction de l'huile essentielle η^t_D à la température de référence t est donné par la formule suivante :

$$[\eta^T_D] = \eta^T_D + 0,00045 (T' - T) \quad (3.5)$$

η^T_D : indice de réfraction de l'huile essentielle.

η^T_D : valeur de la lecture obtenue à la température t'.

T' : température à laquelle a été effectuée la mesure.

T : température de référence t = 20 °C.

f : facteur égal à 0.00045 pour t = 20°C.

3.6.2.3 Indice d'acide I_A NF ISO 1242, 575-103, AFNOR; 2000:

Les acides libres contenus dans les huiles essentielles sont neutralisés par une solution titrée de KOH, c'est-à-dire la mesure de l'indice acide est réalisée par un simple titrage (figure 3.6)

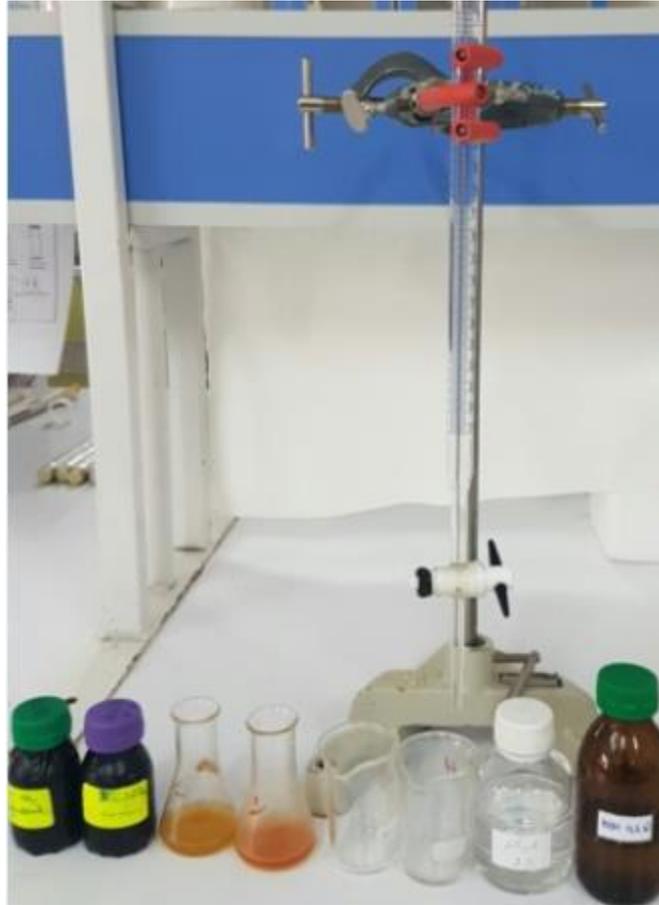


Figure 3.6: Dispositif de mesure d'indice d'acide

1g d'huile essentielle est introduit dans une erlenmeyer de 25ml ; on ajoute 2.5ml d'éthanol absolue à 99,8% et 2 gouttes de l'indicateur coloré phénophtaléine à 0,2%. Puis on neutralise la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium à 0,1N. A la fin on prend le volume exact de KOH consommé pour le calcul de l'indice d'acide par la relation suivante :

$$I_A = \frac{(56,11 \times N \times V)}{m} \quad (3.6)$$

N: normalité de KOH.

V : Volume en ml de solution éthanolique de KOH utilisée pour le titrage

m : Masse en grammes de l'huile essentielle. (AFNOR ; 2000).

3.6.2.4 Le pouvoir rotatoire Afnor NFT 75-113-2000 :

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle est un critère important de la pureté de l'huile essentielle, et permet d'indiquer si elle possède une activité optique dextrogyre ou

lévogyre. Pour ce faire on remplit la cellule par l'huile essentielle dans l'éthanol à raison de 0.2g dans 100ml, puis l'angle de rotation est lu directement sur le polarimètre.

- Source lumineuse (lampe à vapeur de sodium), permettant d'obtenir une lumière de longueur d'onde $589,3 \pm 0,3$ nm.
- Tube d'observation de $20 \pm 0,5$ dm de longueur.

3.6.2.4.1 Mode opératoire :

- Dilution de l'essence d'écorces d'agrumes : 0,25g/ 100 ml d'éthanol.
- Remplir le tube avec l'échantillon pour essai, en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposé.
- Placer le tube dans le polarimètre et lire l'angle de rotation de l'échantillon pour essai sur l'échelle de l'appareil.

Le pouvoir rotatoire est donné par la formule suivante :

$$[\alpha]^{20}_d = \frac{\alpha}{L \times C} \quad (3.7)$$

Où

α : La valeur lue sur l'appareil en degrés d'angle

L: L'épaisseur di film (cellule) en dm

C:La concentration de l'essence exprimée en (g/100 ml). (Afnor: 2000).

3.7 Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle (R_{HE}), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M_{HE}) et la masse de la matière végétale utilisée (M_V). Il est donné par la formule suivante :

$$R_{HE} = \left(\frac{M_{HE}}{M_V} \right) * 100 \quad (3.8)$$

R_{HE} : rendement en huile essentielle des graines.

M_{HE} : masse de l'huile essentielle obtenue en gramme.

M_V : masse de la matière végétale utilisée en gramme.

3.8 Analyse chromatographique

3.8.1 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 [42].

Toutes les huiles essentielles extraites ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse.

Le chromatographe utilisé est un modèle GC- 17A de marque SHIMADZU équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et de colonne capillaire en silice fondue de dimension 25 m de long, 0,25 mm de diamètre intérieur et 0,25 μm d'épaisseur du film de la phase stationnaire. Les analyses ont été effectuées avec une colonne moyennement apolaire de type FS-OV-1701CB-0.25.

3.8.1.1 Protocole

Avant d'être analysées toutes les huiles essentielles ont été diluées dans l'hexane. Les conditions analytiques opératoires sont les suivantes : le gaz vecteur est l'azote avec un débit constant de 6 ml/min. Les températures d'injection et de détection sont respectivement de 200 et 220 °C. Les solutions injectées sont préparées par dilution de 30 μl d'huile essentielle dans 0.5ml de solvant (l'hexane). Le volume injecté est de 0,40 μl pour un temps d'analyse de 50min et sous une pression de 10.

La programmation de la température du four est de 50 °C pendant 5 min, puis suivant un gradient à raison de 4 °C/min jusqu'à 230 °C. Cette température finale est maintenue constante pendant 5 min.

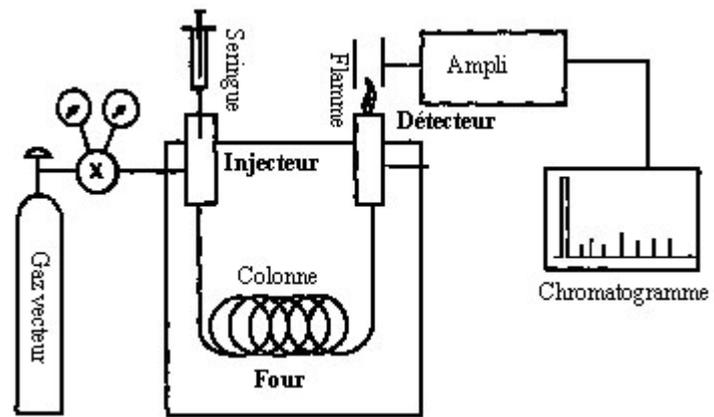


Figure 3.7 : Schéma de la CPG.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1 La teneur en eau des écorces de mandarine et d'orange :

Une masse certaine masse de nos écorces (mandarine et orange) ME ont été placée dans un dessiccateur afin d'éliminer et de calculer la quantité d'eau évaporée.

Les masse de nos écorces fraiche sont : $ME_{(mandarine)} = 67,695g$ et $ME_{(orange)} = 31,511g$

4.1.1 Résultat :

Après séchage, les échantillons d'écorces ne pèsent plus que : $MST_{(mandarine)} = 19,95g$ et $MST_{(orange)} = 7,782g$

Les pourcentages de matière sèche sont de : $ST(\%)_{mandarine} = 29,47 \%$. Ce qui correspond à une teneur en eau de $H_2O(\%) = 70,52 \%$.

$ST(\%)_{orange} = 24,69 \%$. Ce qui correspond à une teneur en eau de $H_2O(\%) = 75,30 \%$.

4.1.2 Discussion :

Les écorces d'orange sont plus riches en eau que celle de la mandarine et renferment environ 75.30% d'eau tandis que la mandarine renferme 70,52% d'eau. D'une manière générale Ces résultat confirment des résultats obtenus dans une autre étude réalisée en 2013, sur d'autres variétés d'agrumes [42]. Les fruits du genre citrus sont classés parmi les fruits les plus désaltérants due à leur grande teneur en eau [33].

4.2 Le rendement :

La température mesurée au laboratoire est de 20°C. Cette valeur correspond à la température de référence.

4.2.1 Résultats

Le tableau 4.1 présente les différents résultats obtenus pour les rendements en huile essentielle sachant que :

- Les volumes d'HE des échantillons et pour chaque diamètre sont directement mesurés sur le dispositif Clevenger à l'aide d'une seringue et notés $v(HE)_{20^\circ C}$.
- Les masses d'HE de chaque échantillon et pour chaque diamètre sont calculées à partir des volumes d'HE à l'aide de la formule :

$$m(\text{HE}) = \rho(\text{HE})_{20^\circ\text{C}} \times v(\text{HE})_{20^\circ\text{C}} \quad (4.1)$$

La masse volumique de l'HE de chaque échantillon calculée est :

- ❖ Pour la mandarine : $\rho(\text{HE})_{20^\circ\text{C}} = 940,30 \text{ g/l}$
- ❖ Pour l'orange : $\rho(\text{HE})_{20^\circ\text{C}} = 871,70 \text{ g/l}$: (voir paragraphe sur la densité relative à 20°C).

Tableau 4.1 : Volumes, masses et rendements des HE en fonction de la granulométrie de la poudre de mandarine pour 30g de matière sèche.

Diamètre des écorces (μm)	Volumes HE (ml)	Masse HE (g)	Rendement HE (%)
E ₁ : 100	0,285	0,248	0,85
E ₂ : 200	0,5	0,47	1,56
E ₃ : 300	0,6	0,564	1,88
E ₄ : 400	0,5	0,47	1,56
E ₅ : 500	0,7	0,66	2,2
E ₆ : 630	0,5	0,47	1,56
E ₇ : 800	0,5	0,47	1,56
E ₈ : 1000	0,015	0,014	0,046

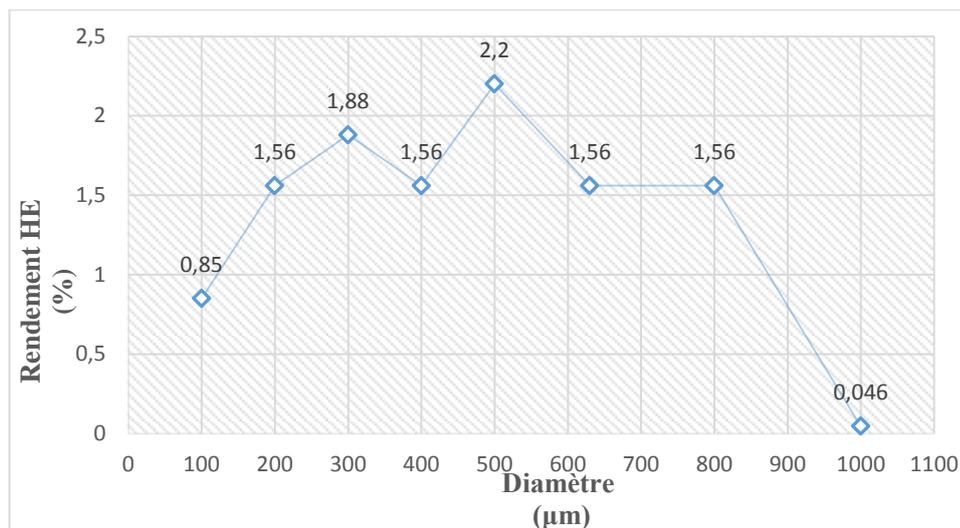


Figure 4.1 : Évolution du rendement d'H.E de mandarine en fonction du diamètre des particules pour 30g de matière sèche

Tableau 4.2 : Volumes, masses et rendements des HE en fonction de la granulométrie de la poudre d'orange pour 60g de matière sèche.

Diamètre des écorces (µm)	Volumes HE (ml)	Masse HE (g)	Rendement HE (%)
E ₁ : 100	0,105	0,091	0,015
E ₂ : 200	1,5	1,307	2,17
E ₃ : 300	1,5	1,307	2,17
E ₄ : 400	1,1	0,958	1,6
E ₅ : 500	1	0,871	1,45
E ₆ : 630	1,4	1,220	2
E ₇ : 800	0,5	0,046	0,072
E ₈ : >1000	0,7	0,061	0,010

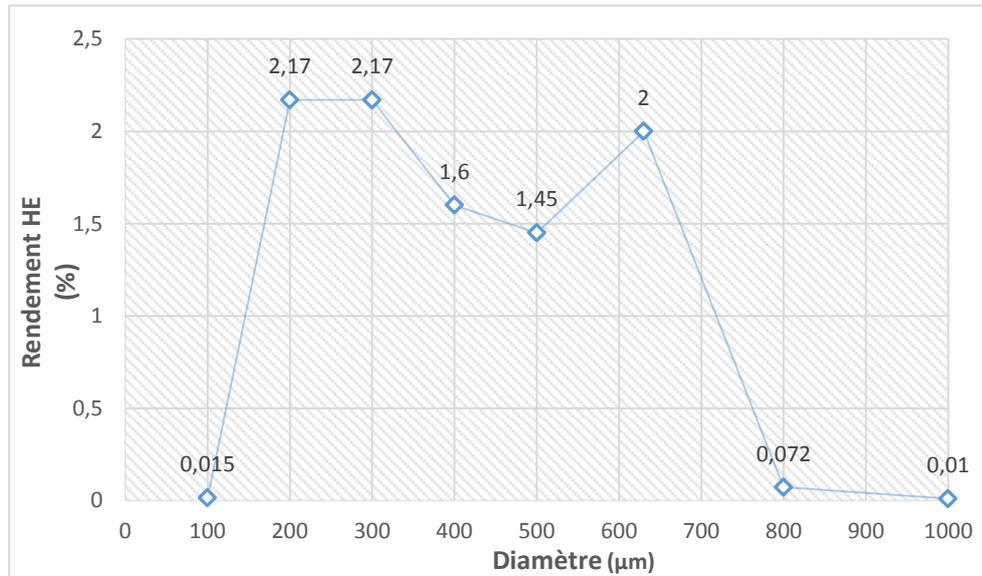


Figure 4.2: Évolution du rendement d'HE d'orange en fonction du diamètre des particules pour 60g de matière sèche.

4.2.2 Discussion :

De nombreux facteurs peuvent influencer le rendement, les caractéristiques physicochimiques et la composition chimique des huiles essentielles tels que les conditions environnementales, la technique d'extraction, le séchage, la période et le milieu de récolte, les pratiques culturales et l'âge du matériel végétal ([44]; [45] ; [46]). Dans cette partie, nous nous intéressons particulièrement au facteur représenté par la granulométrie des particules de poudre de nos variétés.

La taille des particules influe sur le rendement d'HE de la façon suivante :

❖ Pour la mandarine :

Première phase [100-300] : Dans cette tranche correspondant aux poudres fine on remarque une augmentation considérable du rendement de 0,85% à 1,88%.

Deuxième phase] 300-400] : le rendement diminue légèrement de 1,88% à 1,56%.

Troisième phase] 400-500] : le rendement augmente de 1,56% à 2,2%.

Quatrième phase] 500-630] : une diminution du rendement de 2,2% à 1,56% toujours dans le sens de l'augmentation du diamètre des écorces.

Cinquième phase] 630-800] : le rendement reste constant.

Sixième phase] 800-100] : Correspondant aux écorces de grandes diamètre, le rendement diminue encore jusqu'à une valeur de 0,046% .La valeur maximale du rendement est atteinte pour les écorces de diamètre 500µm.

❖ Pour l'orange :

Première phase [100-200] : Dans cette tranche correspondant aux poudres fine on remarque une augmentation considérable du rendement de 0,015% à 2,17% dans le sens que plus le diamètre augmente.

Deuxième phase] 200-300] : le rendement reste constant

Troisième phase] 300-500] : diminue lentement jusqu'à 1,45%

Quatrième phase] 500-630] : une augmentation du rendement de 1,45% à 2% toujours dans le sens de l'augmentation du diamètre des écorces.

Cinquième phase] 630-1000] : Correspondant aux écorces de grandes diamètre, le rendement diminue encore jusqu'à une valeur de 0,01%.La valeur maximale du rendement est atteinte pour les écorces de diamètre 200 et 300 µm.

Ces résultats ont révélés l'existence d'une différence de rendement en huile essentielle d'un diamètre à un autre, ce qui implique que la granulométrie des particules a un effet sur le rendement d'huile essentielle. Ces résultat confirme celui obtenu lors d'études similaires, faite sur des écorces d'agrumes (l'oranger amer : *Citrus aurantium* L [47]).

4.3 Caractères organoleptiques :

Les caractères organoleptiques des HE des échantillons obtenus par hydrodistillation assistée par micro-onde ont un aspect : liquide limpide de couleur jaune pâle et une odeur forte

4.4 Propriétés physico-chimiques :

Les propriétés physico-chimiques tels que : le pouvoir rotatoire, l'indice d'acide, l'indice de réfraction Etc., constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle. Ces essais sont déterminés selon un protocole précis et obéissent à des

normes édictées par l'association française de normalisation (A.F.N.O.R).les résultats obtenus sont portés dans le tableau suivant :

4.4.1 Résultats :

Ces analyses ont été réalisées à la température de référence de 20°C.

Tableau 4.3: Composition physico-chimique d'HE des variétés

Spécification à (20° C)	Mandarine	Orange
Densité	0,8732	0,9419
Indice de réfraction	1,473	1,474
Indice d'acide	0,5611	0,5611
Pouvoir rotatoire	+ 16,5	+ 33,83

4.4.2 Discussion :

Les résultats obtenus lors de trois tests (100µm ,500µm et 800µm) de chacun de deux espèces, confirment la répétabilité des propriétés physico-chimiques. Ces analyses indiquent que les échantillons analysés se trouvent dans les fourchettes de référence établies par les normes Afnor. Ces paramètres physico-chimiques sont influencés par les conditions édaphiques ainsi que par les conditions de culture des plantes.

❖ Densité :

La densité est parmi les caractéristiques physiques généralement utilisées dans la classification des huiles essentielles. Mais elle ne peut pas être utilisée seule pour l'identification des huiles .Les résultat obtenus sont conformes à la norme Afnor.

❖ Indice de réfraction :

L'indice de réfraction dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaines d'acides, de leurs degrés d'insaturation et la température. Il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en

monoterpènes donnera un indice élevé. Pour certains auteurs, le faible indice de réfraction de l'huile essentielle indique sa faible réaction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques. L'indice de réfraction obtenu est respectivement pour la mandarine et l'orange de 1,473 et 1,474 sont à la norme mentionnée par les normes françaises des huiles essentielles.

❖ **Indice d'acide :**

Les valeurs de l'indice d'acide des huiles essentielles de nos échantillons trouvées sont égales 0,561 et conformes à ceux rapportée par AFNOR (2002) (< 5) ; Il est à noter qu'un indice d'acide inférieur à deux, est une preuve de bonne conservation de l'huile. En effet, une huile fraîche ne contient que très peu d'acides libres. C'est pendant la période de stockage que l'huile peut subir des dégradations telle l'hydrolyse des esters. Lazouni et *al.* 2007 constatent des variations des indices d'acide au cours du temps et en fonction de la température.

❖ **Pouvoir rotatoire :**

L'analyse du pouvoir rotatoire indique si l'huile est dextrogyre ou lévogyre ce qui est un critère important pour connaître la pureté d'une huile essentielle. Les résultats du pouvoir rotatoire mentionnent une valeur respectivement pour la mandarine et l'orange de + 16,50 et + 33,83 montrent que nos deux huiles sont dextrogyres.

Les résultats indiquent que les paramètres physicochimiques des échantillons analysés se trouvent dans les fourchettes de références établies par les normes. Ces analyses ont été effectuées à différents diamètres pour chaque échantillon (mandarine et orange) et sont identiques quel que soit le diamètre.

La détermination des propriétés physico-chimiques (densité, indice d'acide, indice de réfraction ...) est une étape nécessaire mais non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Il est donc nécessaire de compléter par des analyses chromatographiques : GC et GC/MS ces dernières, sont souvent utilisées comme moyen analytique

complémentaire pour l'analyse structurales des substances volatiles, elles ont été employées pour identifier qualitativement les huiles essentielles.

4.5 Chromatographie en phase gazeuse :

4.5.1 Résultat :

L'analyse par CPG de nos échantillons nous a permis d'avoir des pics, l'identification des composés n'a pas été possible faute de produit chimique (mélange d'alcane de C_8 à C_{20}).

Nous avons donc procédé à une étude comparative de nos composés sur chaque chromatogramme en fonction de leurs temps de retentions et de la surface des pics obtenu.

• **Mandarine**

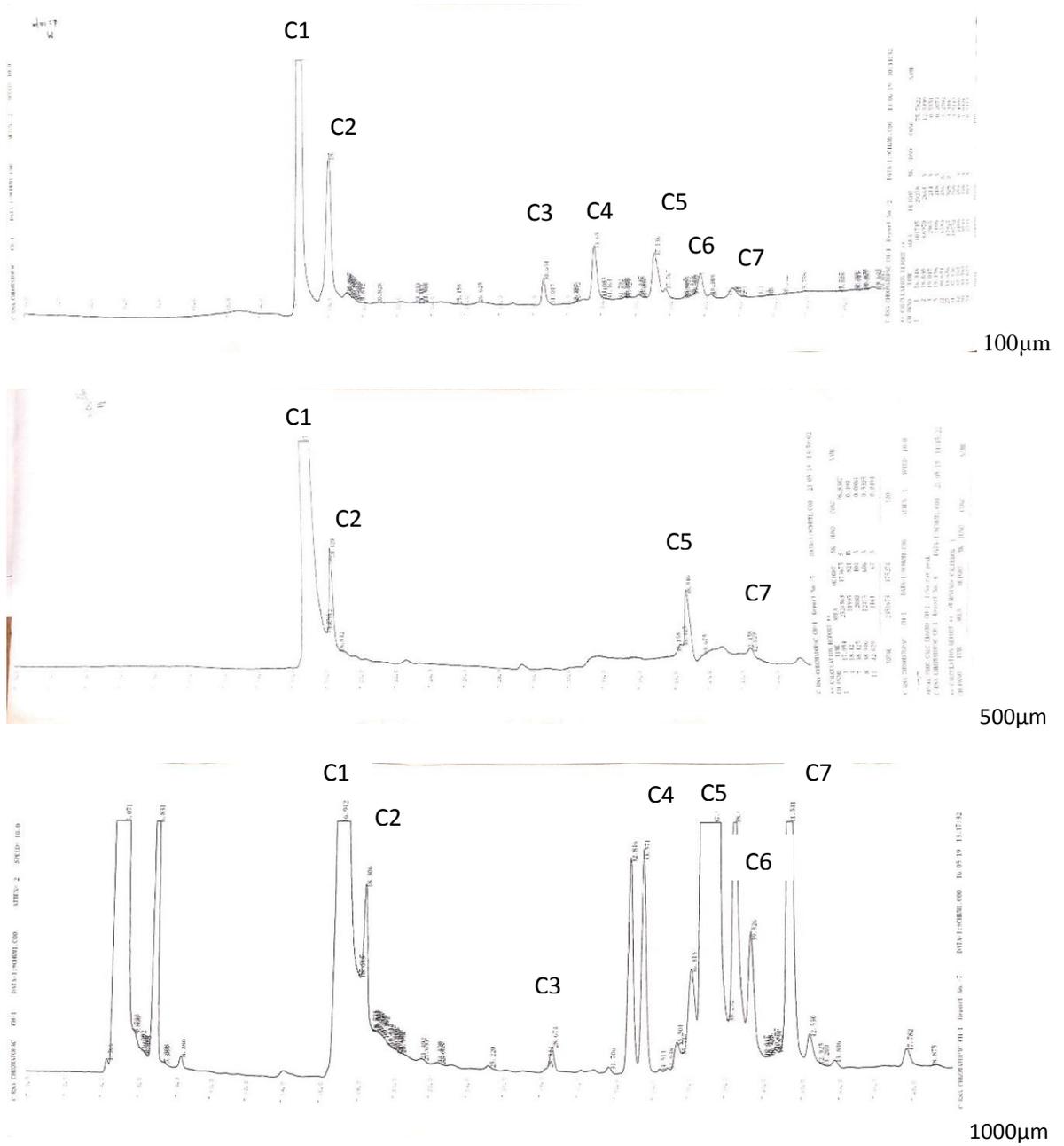


Figure 4.3 : Chromatogramme CPG pour l’huile essentielle de mandarine pour différents diamètres de la mandarine

- Orange

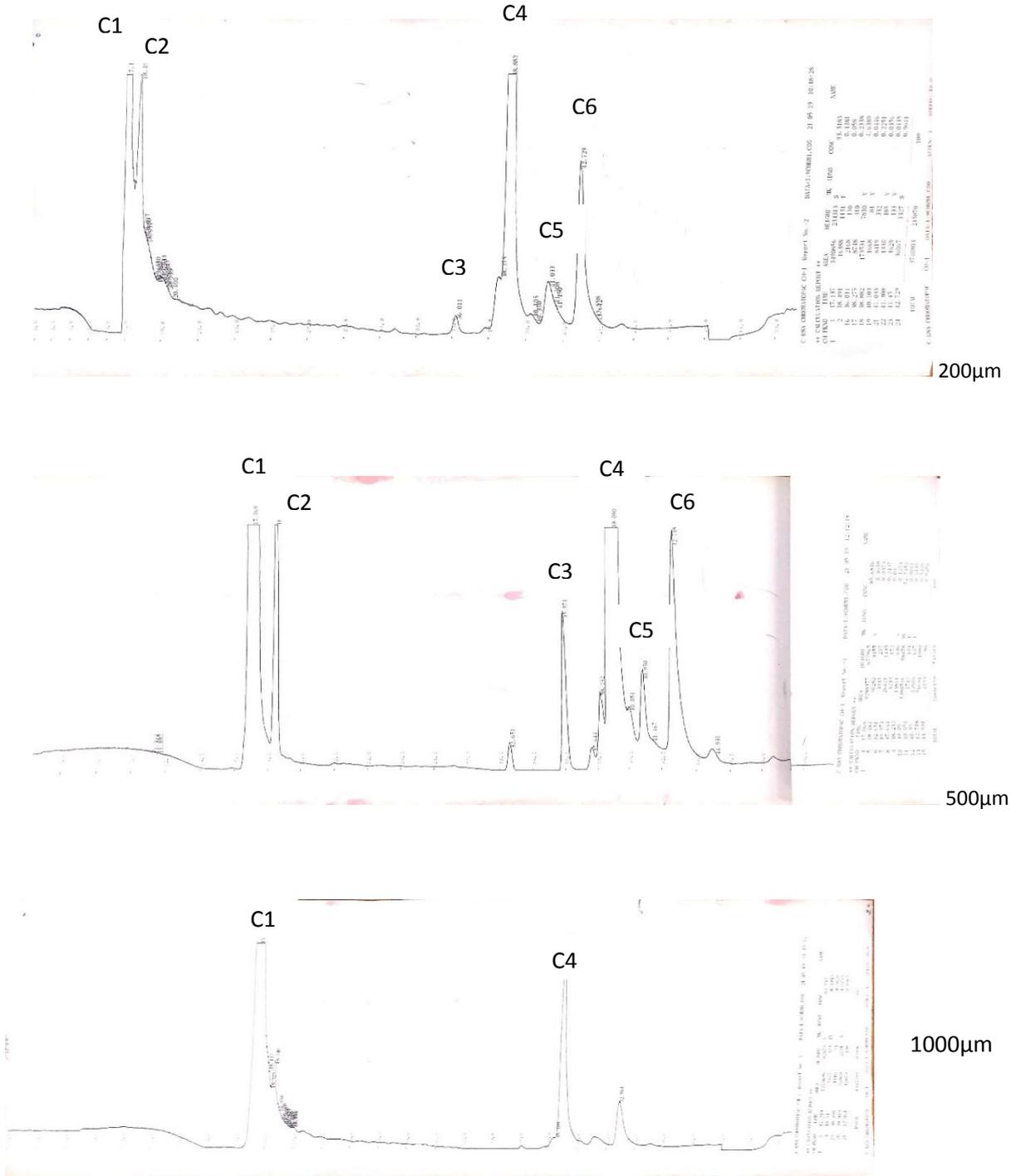


Figure 4.4: Chromatogramme CPG pour l'huile essentielle d'orange pour différents diamètres d'orange

4.5.2 Discussion :

En fonction des temps de retentions de nos composés nous avons procédé à une étude comparative sur les différents chromatogrammes d'huile essentielle extraite à partir de différents diamètres. Nous avons recensé un certain nombre de composé que nous avons noté : C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7 pour nos échantillons Par comparaison nous avons trouvé que certains composés sont communes à chaque chromatogramme avec des surfaces de pic différentes comme les composés C1 , C2 , C5, C7 pour la mandarine et C1, C4, C6, pour l'orange tandis que d'autres sont absent comme les composés C3, C4, C6, sur le chromatogramme de l'échantillon de diamètre 500 μ m pour la mandarine et C2, C3, C7 sur le chromatogramme de l'échantillon de diamètre 1000 μ .

CONCLUSION GENERALE

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des ressources végétales. L'étude est portée sur deux variétés d'agrumes de la famille de Rutaceae : *citrus sinensis* (L) *Osbeck* et de *citrus reticulata* *Blanco*.

Nous nous sommes intéressés à l'extraction, à la caractérisation et à l'effet de la granulométrie sur le rendement des huiles extraites.

L'objectif de cette étude est de démontrer l'effet de la taille des particules.

L'étude granulométrique a été faite sur 8 différents diamètres de chaque variété.

L'extraction des huiles essentielles par HDMO a fourni des rendements inégalement répartis en fonction de la taille des particules. Ainsi les rendements les plus importants ont été enregistrés dans des intervalles de [200µm -630µm] pour l'orange et de [200µm-800µm] pour la mandarine. Les plus faibles ont été enregistrés sur les deux extrémités : inférieure (100µm) et supérieure (1000µm). Les valeurs maximums du rendement de l'orange et de la mandarine sont respectivement 2.17% et 2.2%.

Les résultats ont montré que la granulométrie des espèces utilisées a une influence remarquable sur le rendement en huile essentielle. Ces résultats nous montrent aussi que pour obtenir un meilleur rendement en HE des espèces étudiés, il faut travailler avec des poudres ni très fines, ni trop épaisses.

Les caractéristiques physico-chimique des HE (la densité ; l'indice de réfraction ; l'indice d'acide et le pouvoir rotatoire) de chaque variété sont identiques quelle que soit la taille de la particule étudiée. Les caractéristiques organoleptiques (aspect, odeur et couleur) sont aussi en accord avec celles retrouvées dans la littérature.

Ces résultats témoignent la qualité des HE obtenues, donc la crédibilité de la méthode d'hydrodistillation assistée par micro-ondes utilisée pour l'extraction.

L'analyse par CPG a révélé la présence de plusieurs composés avec des surfaces inégalement réparties. Cela prouve la présence des composés majoritaires.

Perspectives :

- Faire le broyage par un appareil normalisé
- Elargir la gamme de la granulométrie utilisée.
- Utiliser des techniques d'analyses plus avancées pour identifier les composés comme la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (CG-MS).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Loeillet, 2010. La production mondiale des agrumes "les marchés mondiaux".
2. Houaoura, 2013. Production des agrumes : Comment augmenté le rendement ?
3. Stashenko E.E., Jaramillo B. E., Martinez J.R., 2004. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba*(Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. Journal of chromatography A, vol. 1025, pp : 93-113.
4. Durvelle J.-P., 1930 : Fabrication des essences et des parfums. Ed. Desforges, Girardot et Cie, 807 p.
5. AFNOR, 2000 : Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P.
6. Bruneton J., 1993. Essential oils in PharmacognosicPhytochimie. Plantes médicinales, 2ème Éd. Lavoisier, Paris, pp : 41-54.
7. Farhat A., 2010. Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : Conception, Optimisation et application. Université d'Avignon et des pays de Vaucluse, 136p.
8. Fouche J ;G., Market A., Hambuckers A., 2000. Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament . Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.
9. Bernard T ; Perinau F ; Brav O ; Delmas M. et Gaset A ; 1988. Extraction des huiles essentielles. Chimie et technologie. Information chimie.
10. Bruneton J; 1995. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Ed. Lavoisier, Paris.915 p
11. Pibiri M. C., 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat, EPFL Lausanne, Suisse, p : 161.
12. Singh N., Luthra P., SANGWAN R.S., ThakurR.S., 1989. Metabolisme of monoterpenoides in aromatic plants grown in soil Almadén mining ditrict (Spain). Food and Chemical Toicology. N.47, p. 2761-2767.
13. Wink M., 2003.Evolution of secondary metabolites from ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochemister , vol. 64, p ? 3-19.

-
14. Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec & Doc. ;pp : 461 – 769.
 15. Girod-Quillaini., Grundschole F., 1998. Les arômes alimentaires : réalité et perspectives. Ind. Alim. Agr., pp. 72-79
 16. Daovy A., 2009. L'oranger amer ou bigaradier .actualités pharmaceutique. Vol. 48, pp : 47- 49.
 17. Piochon M., 2008. Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : Composition chimique, activités pharmacologiques et hémisynthèse. Mémoire, Université du Québec à Chicoutimi, Canada.
 18. Pourmontazlavi s .M., Hajimirsaddeghi S.S., 2007. Supercritical in plant essential and volatil oil analysis, Journal of chromatography A , 1162, pp 2-24.
 19. Chemat F., Lucchesi M. E., 2005. Extractions assistées par micro-ondes des huiles essentielles et des extraits aromatiques. Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments. thèse de doctorat. Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, p : 87, 94.
 20. Ganzler K, Salgo A, Valko K, A novel sample preparation method for chromatograph ., Journal of Chromatography A, 1986, 371, pp299-306.
 21. Lucchesi M. E., 2005. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat. Université de laRéunion, p : 17.
 22. Lahlou M; 2004.Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. PhytotherapyResearch, Vol. 18, p.p.435-448.
 23. Richard H ; 1992.Epices et aromates. Ed. Lavoisier, Paris. 339 p. (Technique & Documentation).
 24. Tenscher E., Anton R. et Lobstein A. 2005.Agrumes. In : Plantes aromatiques, épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec et Doc, p : 77.
 25. Oussalah M ; Caillet S ;Saucier L. et Lacroix M ; 2007.Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria : E coli O157 :H7,Salmonella Typhimurium,Staphylococusaureus and Listeria monocytogenes.Food control,Vol.18,p.p.414-420.
 26. Rachel F., 2015. Les agrumes saveurs et vertus. Éd. Grancher. P : 127.
 27. Parloran J.C., 1971.Les agrumes. Éd. Maison neuve et Larose, Paris, p : 565.
 28. Boccas B., 1976.Les maladies phytophthora des agrumes, Éd. IRFA, Grande Bretagne, p : 162.
 29. Bouroukaa A., 2012. Étude biochimique de l'adultération du jus de fruits. Université de Carthage.

-
30. Salunkhe D.K. et Kadam S.S., 1995. Botany. In : Handbook of Fruit Science and Technology : Production, Composition, Storage, and Preprocessing. Ed. CRC Press, pp : 41-42.
31. Kimball D.A., 1999: Citrus processing: A complete guide. Second edition, Aspen Publication inc. 435 p.
32. Loussert R., 1989. Les agrumes 2. Production Lavoisier, Paris, p : 157.
33. Souci S.W., Fachman N W. et Kraut H., 1995. Food composition and nutrition tables. 6th ed. Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart. p : 352-354.
34. Mutin G. 1969. L'Algérie et ses agrumes : Revues de géographie de Lyon. Vol.44 n°, 1969. pp. 5-56
35. Chitla M., Bhuyan D.P., Pathak M.G., Sarma T.C. ET Boruah P., 2009: Antifungal activity and chemical composition of Citrus reticulata Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. LWT Vol. 42, pp: 777-780. USDA, 2010: World Horticultural Trade: Trade data edition, URL <http://www.fas.usda.gov/ustrade>.
36. Minh TU N.T., Thanh L.X., UNE A., Ukeda H. et Sawamura M., 2002 : Volatile constituents of Vietnamese pummelo, orange, tangerine and lime peel oils. Flavour Fragrance J. Vol. 17, pp : 169 – 174.
37. Bovill H., 1996. Natural aroma chemicals from oranges and other botanical sources. *Perfum. Flavour*. Vol. 21, pp 9 - 11.
38. Trabut L., Mares R. 1906. L'Algérie agricole en 1906. Ed. Direction de l'agriculture. 543p.
39. Salghir., 2015. Cours d'analyses physico-chimiques des denrées alimentaires. Filière Génie des Procédés, Énergie et Environnement (GPEE), 1ère année. ENSA Agadir, Maroc, p : 11.
40. Millet F., 2013. Le grand guide des huiles essentielles. Éd. Marabout (Hachette Livre).
41. Koba K., Sanda K., Raynaud C. Mandin D., Millet J., Chaumont J.P., 2003. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* L. *naradus* et *C. schoenanthus*. Journal de Mycologie médicale, Vol 13, N°4, pp : 175-180.

-
42. Rouessac F. et Rouessac A., 1992. Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes, Éd. Masson. Paris.
43. Drareni S., 2013. Caractérisations physico-chimiques des huiles essentielles de fruit du *Citrus aurantium* et son action sur la bruche de la fève *Bruchus rufimanus* (Coléoptère Bruchidae). Mémoire de Master, Université Saad Dahlab, Blida, p : 33.
44. Aberchane M. , Fechtal M. , Chaoucha., Bouayoune T., 2010. Influence de la durée et de la technique d'extraction sur le rendement et la qualité des huiles essentielles du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti). Annales de la recherche forestière au Maroc Issn 0483-8009 Coden Afrma, vol.34, pp : 110- 118.
45. Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhsine M., Chaoucha., Satrani B., 2009. Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl). Masters, agrosolutions, vol.20(1), p : 44.
46. Okoh O.O., Sadimenko A., AN A.J., 2007. The Effects of Age on the Yield and Composition of the Essential Oils of *Calendula officinalis*. J. Applied Sci. Vol. 7, pp : 3806-3810.
47. Hannane N., 2018. Étude de l'influence de la taille des particules sur le rendement, la qualité et l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des écorces des fruits de l'oranger amer : *Citrus aurantium* L. Thème de master. Université de Blida 1. Algérie.
48. Bousbia N., 2011. Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach .Algérie
49. Bruneton J., 1987. Éléments de Phytochimie et de pharmacologie. Technique et documentation, Éd. Lavoisier, Paris, p : 585.
50. Bruneton J., 2009. Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales, 4ème Éd. Lavoisier, Tec et Doc, Paris
51. Bruneton J., 1999. Huiles essentielles, Pharmacognosie, Phytochimie plantes médicinales, 3ème Éd. Doc. Et Tec. Lavoisier.
52. Menaceur F., 2011. Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles et extraits du romarin (*Rosmarinus officinalis*) et de la Lavande (*Lavandula stoechas*). Thème de Magister. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach .Algérie . p 4-27.
53. Nations unies, 2010: world trade data of citrus. URL: <http://www.un.org>.

ANNEXES



Figure : Dessiccateur électronique.



Figure : Tamiseur Retsch (AS 200)



Figure : Refractomètre ABBE



Figure : polarimètre BIOBLOCK



Figure : Appareillage pour une CPG

DEDICACE

A mon père et ma mère FATOGOMA&AWA

A mes grandes mères

A mes frères et sœurs

A mes oncles

A mes amis

A mes binômes B.A.K et H.L.M

TRAORE S

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes très chers parents qui ont toujours crus à moi

A mon oncle Issa Lamine

A mon grand frère Adam Hagar

A mon cousin et ami de tout le temps Mahamadou Mahamane

A mon ami et collègue de travail Souleymane Traore

A toute ma famille

A mes amis et mes collègues de la promotion

Seydina Hagar

INTRODUCTION GENERALE

CHAPITRE 1 : LES HUILES ESSENTIELLES

CHAPITRE 2 : MONOGRAPHIE DES AGRUMES

CHAPITRE 3 : MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

CONCLUSION GENERALE