

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A. M. OULHADJ - Bouira  
Faculté des Sciences et des Sciences Appliquées  
Département de Génie des Procédés



# Mémoire

Présenté par

HYDRA Lynda  
GUETTAF Naouel  
Pour l'obtention du diplôme de

## MASTER

Filière : GÉNIE DES PROCÉDÉS  
Spécialité : SCIENCES ET GÉNIE DE L'ENVIRONNEMENT

*Caractérisation de l'huile essentielle extraite des  
écorces d'oranges et sa mise en évidence  
dans l'activité antibactérienne*

Soutenu le / / 2016

M. H. LOUNICI	Professeur	UAMO, Bouira	Président
M <sup>me</sup> A. ZAABAR	Maître de conférences	UAMO, Bouira	Examinatrice
M <sup>me</sup> L.SEID	Maître de conférences	UAMO, Bouira	Encadreur

# *Dédicace*

*Je tiens à dédier ce travail :*

*A la mémoire de mon très cher père*

*A ma mère que Dieu la garde et la bénit*

*de bonne santé et de longue vie*

*A mon fiancé Ismail*

*A mes frères et mes sœurs*

*A toute ma famille*

*A toutes mes amies*

*Lynda*

*«Le vrai point d'honneur n'est pas d'être toujours dans le vrai. Il est d'oser, de proposer des idées neuves, et ensuite de les vérifier»*

Pierre Gilles-De Gennes, Prix Nobel de physique en 1991

# *Dédicace*

*Je dédié ce modeste travail :*

*A mes chers parents que Dieu les garde et les bénits de bonne  
santé et de longue vie.*

*A mon mari et ma belle famille*

*A mon enfant Emir*

*A mes frères et mes sœurs*

*A toute ma famille*

*A toutes mes amies*

*A toute personne qui m'a accordé aide ou conseil*

*Naouel*

## **REMERCEMENTS**

*Ce travail de mémoire a été effectué au laboratoire de Département de Génie des Procédés, Faculté des Sciences et des Sciences Appliquées, Université Akli Mohand Oulhadj Bouira,, sous la direction du Docteur Madame **I. SEID**, qu' elle trouve ici le témoignage de notre profond respect, nous tenons à lui exprimer notre reconnaissance pour nous avoir initié sur ce sujet et pour avoir contribué à notre formation. Ses qualités humaines et pédagogiques, sa compétence scientifique sont d'une grande part responsable de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous voudrions exprimer toute notre reconnaissance aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail :*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur **H. LOUNICI** Professeur à l'Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Nos plus vifs remerciements à Madame **A. ZAABAR**, Docteur r à l'Université de Bouira d'avoir accepté de faire partie de jury. Nous la remercions surtout pour ses qualités humaines.*

*Nous tenons également à remercier le personnel du laboratoire de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Bouira pour nous avoir accepté de réaliser l'activité antibactérienne.*

*Enfin un grand merci à nos amies, nos proches et tous ceux qui nous ont aidé de près au de loin.*

# Liste des tableaux

## Chapitre I : Etude bibliographique

<b>Tableau 1</b> : Avantages et inconvénients des différents procédés d'extraction.....	12
---	----

## Chapitre III : Résultats et discussions

<b>Tableau 1</b> : Propriétés physicochimique de la plante fraiche écorce d'orange.....	38
---	----

<b>Tableau 2</b> : Indices physico-chimiques de l'huile essentielle.....	40
--	----

<b>Tableau 5</b> : Composition chimique de l'huile essentielle.....	43
---	----

<b>Tableau 4</b> : Diamètre de zone d'inhibition en mm en présence de différentes dilutions de l'huile essentielle.....	45
---	----

# Liste des figures

## Chapitre I : Etude bibliographique

<b>Figure 1</b> : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation.....	9
<b>Figure 2</b> : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes.....	10
<b>Figure 3</b> : Les deux formes énantiomères du limonène. a) R-(+)-limonène. b) S-(-)-limonène.....	16
<b>Figure 4</b> : Coupe d'une orange. On peut remarquer les petites poches d'huile essentielle....	18
<b>Figure 5</b> : Gouttes d'huile essentielle perlant de la peau par simple pression.....	19
<b>Figure 6</b> : a) Limonène. b) Acide périllique. c) Esther méthylique de l'acide paralique.....	20
<b>Figure 7</b> : a) Limonène. b) Dérivé du limonène actif sur certaines lignées tumorales.....	21
<b>Figure 8</b> : a) Halopéridol. b) Dibutylauroylglutamide (GP1).....	21
<b>Figure 9</b> : N, N-diéthyl-m-méthylbenzamide.....	22
<b>Figure. 10</b> : Gram positif .....	25
<b>Figure.11</b> : Gram négatif.....	25

## Chapitre II : matériels et méthodes

<b>Figure.1.</b> Hydrodistillation.....	29
<b>Figure. 2.</b> La décantation.....	30
<b>Figure .3.</b> Réfractomètre pour mesurer les indices de réfraction.....	31
<b>Figure.4.</b> pH mètre.....	32
<b>Figure .5.</b> Principe de la méthode de diffusion par disque.....	35
<b>Figure .6.</b> Principe de la loi d'absorptiomètre.....	36
<b>Figure .7.</b> Spectromètre UV- visible Unicam UV 300.....	37
<b>Figure .8.</b> Les types de vibration.....	37
<b>Figure 9</b> : Principe d'un spectrophotomètre IR à double faisceau.....	38

**Figure 10 :** Spectromètre Infrarouge à transformée de Fourier FTIR- Perkin-Elmer 1000...38

### **Chapitre III : matériels et méthodes**

**Figure.1.** Evolution de rendement en huile essentielle en fonction de temps .....40

**Figure .2.** Spectres UV- visible d'huile essentielle dans une solution de DMSO.....42

**Figure 3:** Spectre IR d'huile essentielle.....43

**Figure 4 :** Tests antibactériens en présence de DMSO.....45

**Figure 5:** Tests antibactériens en présence de différentes dilutions de l'huile essentielle avec Pseudomonas.....45

**Figure 6 :** Tests antibactériens en présence de différentes dilutions de l'huile essentielle avec Escherichia coli.....46

**Figure 7 :** Tests antibactériens en présence de différentes dilutions de l'huile essentielle avec Staphylococcus.....46

# Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	1

## Chapitre I : Etudes bibliographiques

I.Historique.....	2
I.2. Définition .....	2
I.3. Composition et propriétés des huiles essentielles .....	2
I.3.1. Composition chimique.....	2
I.3.2. Propriétés physiques .....	3
I.4. Répartition et localisation .....	4
I.4.1. Répartition.....	4
I.4.2. Localisation.....	4
I.5. Rôles des huiles essentielles .....	5
I.6. Les facteurs influençant la composition .....	5
I.7. Domaine d'utilisation des huiles essentielles .....	5
I.7.1. Phytothérapie .....	6
I.7.2. Utilisation en aéro-ionisation (désinfection de l'air).....	6
I.8. Choix de la méthode d'extraction .....	6
I.9. Principaux paramètres d'extraction .....	6
I.10. Paramètres influençant l'extraction .....	7
I.10.1. Matière végétale.....	7
I.11. Les techniques d'extraction des huiles essentielles .....	7



I.11.1.Extraction par expression à froid .....	7
I.11.2.Extraction par distillation.....	7
I.11.3. Hydrodistillation .....	8
I.11.4. Hydrodifusion .....	8
I.11.5.Entrainement à la vapeur d'eau .....	8
I.11.6.Extraction par micro-onde .....	9
I.11.7.Macération .....	10
I.11.7.1.Macération à chaud .....	10
I. 11.7.2. Macération à froide.....	10
I.11.8.Extraction par solvant organique volatil .....	11
I.11.9.Extraction par les gaz supercritiques .....	11
I.12.Comparaison entre les procédés d'extraction des huiles essentielles .....	12
I.13.Toxicité des huiles essentielles .....	13
I.14.Situation économique des huiles essentielles .....	13
I.15. Mode d'action contre les bactéries.....	14
I.16.Limonène .....	15
I.17.Les composés terpènes.....	15
I.18.Les monoterpènes .....	16
I.19.Les Aromes .....	16
I.20.Les technique d'extraction de limonène .....	17
I.20.1.Le pressage.....	17
I.20.2.L'hydrodistillation .....	18
I.21. L'utilisation du limonène.....	18
I.21.1.La thérapie anticancéreuse .....	18
I.21.2.Des patchs à l'orange .....	19
I.21.3. Les insecticides .....	20
I.21.4.Le limonène est tant que solvant de nettoyage .....	21

I.21.5. Préparation de plastiques du pétrole aux oranges .....	21
I.22. Les avantages et les inconvénients du limonène.....	21
I .22.1. Avantages de limonène .....	21
I.22.2. Inconvénients de limonène .....	21
I.23. Activité antibactérienne .....	22
I.23.1. Historique.....	22
I.23.2 .Introduction.....	23
I.23.3. Définition des bactéries.....	23
I.23.4. Bactéries à gram négatif.....	24
I.23.4.1. Escherichia coli .....	24
I.23.4.1.1. Historique .....	24
I.23.4.1.2. Définition .....	24
I.23.4.1.3. Risque d'Escherichia coli sur la santé humaine.....	25
I.23.4.2. Définition de Pseudomonas .....	25
I.23.4.2.1. Le risque de Pseudomonas sur la santé humaine .....	26
I .23.5. Les bactéries de gram positif .....	26
I.23.5.1. Définition de Staphylococcus .....	26
I.23.5.2. Le risque de Staphylococcus sur la santé humaine .....	26

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

II.1. Matériel.....	27
II.1.1. Matériel végétal .....	27
II.1.2. Produits chimiques.....	27
II.2. Dispositif expérimentaux.....	27
II.2.1. Dispositif d'extraction par méthode d'hydrodistillation.....	27
II.2.2. Extraction liquide-liquide .....	28
II.3. Caractérisation d'écorce d'orange .....	28

II.3.1. Le taux d'humidité d'écorce d'orange.....	28
II.3.2. Les cendres .....	29
II.4. Indice physico-chimique de l'huile essentielle.....	29
II.4.1. L'indice de réfraction .....	29
II.4.2. PH.....	30
II.4.3. La densité relative.....	30
II.4.4. L'indice d'acide.....	31
II.4.4. L'indice d'ester.....	31
II.4.4. L'indice d'acide.....	33
II.5. Calcul de rendement .....	32
II.6. Activité antibactérienne.....	32
II.6.1. Souches bactériennes.....	32
II.4.2. Milieux de culture des micro-organismes.....	32
II.7. Techniques de caractérisation .....	33
II.7.1. Spectroscopie UV-visible.....	33
II.7.2. Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) .....	35
II.7.3. Caractérisation par chromatographie en phase gazeuse couplée par la spectroscopie de masse (CG-MS) .....	36

### **Chapitre III : Résultats et discussions**

III.1. Extraction de l'huile par hydrodistillation .....	38
III.2. ExtCaractérisation d'écorce d'orange .....	38
III.3. Evolution du rendement d'huile essentielle en fonction du temps (étude de la cinétique).....	38
III.4. Caractérisation de l'huile essentielle.....	39
III.4.1. Caractéristique organoleptique .....	39

III.4.2. Indice physico-chimique.....	39
III.4.3. Caractéristique par l'UV-Visible.....	40
III.4.4. Caractérisation par spectroscopie (F-T-IR).....	41
III.4.5. Caractérisation par chromatographie en phase gazeuse couplée par la spectroscopie de masse (CG-MS).....	42
III.5. L'activité antimicrobienne .....	43
Conclusion .....	46

# ***Introduction***

---

## ***Introduction***

Une bonne partie des recherches scientifiques s'oriente actuellement vers les voies de l'usage des extraits qui ont un principe actif des déchets des plantes aromatiques naturelles notamment les huiles essentielles (soignées) [1].

Les huiles essentielles sont des produits odorants, de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiées au cours de la préparation [2]. Elles sont extraites soit par l'entraînement à la vapeur d'eau, par hydrodistillation, soit par un procédé mécanique sans chauffage [3]. Elles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques [2]. Leurs domaines d'applications sont diversifiés malgré l'arrivée sur le marché des composés de synthèse ; c'est ainsi qu'elles trouvent de nombreuses applications dans l'industrie chimique, dans le domaine agroalimentaire (condiments, épices) dans l'aromathérapie (parfumerie, cosmétique et savonnerie) [2] et aussi dans l'industrie médicinale.

Ce travail de mémoire consiste à l'extraction d'une huiles essentielle d'écorces d'orange récoltées dans la région de Boufarique (Blida) et l'identification de sa composition chimique et ses propriétés physicochimiques.. Ce travail a pour objectif aussi la détermination de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite sur des souches qui infectent l'homme dans le but de rechercher des substances bioactives capables d'éliminer la prolifération microbienne en limitant l'utilisation des antibiotiques qui cause de sérieux problèmes pour l'environnement.

Ce mémoire est réparti en trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur les huiles essentielles, limonene et l'activité antibactérienne.

Le deuxième chapitre décrit en détail les dispositifs expérimentaux ainsi que les techniques de caractérisation utilisées.

Dans le troisième chapitre, nous discuterons les résultats obtenus lors de cette étude.

Une synthèse sur les résultats obtenus ainsi que les perspectives sont finalement discutés dans la conclusion.

# *Chapitre I*

---

## **I.1. Historique de l'huile essentielle**

Depuis long temps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide.

Les huiles essentielles sont très anciennes et assez universelles, leurs utilisations date de plus de 7000 ans ( on trouve les premières traces chez les aborigènes d'Australie avec fumigation) preuve en est un alambic en terre cuite retrouvé au Pakistan datant de cette époque .On retrouve des inscriptions datant de 4000 ans en Mésopotamie et des écrits Egyptiens datant de 3500 ans .Les Egyptiens obtenaient les huiles essentielles en pressant les plantes[4].

## **I.2.Définition de l'huile essentielle**

L'huile essentielle est le parfum des plantes aromatiques. Elle s'appelle aussi « essence » ou « huile volatile » qui est un produit de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation [5]. D'après Naves (1976), aucune des définitions des HE n'a le mérite d'être claire, ni précise. Les HE sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passant avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau.

Selon la pharmacopée une huile essentielle est un produit de composition complexe qui renferme des principes volatils contenus dans les végétaux. Elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation. [6]. Une huile essentielle contient en moyenne soixante-quinze molécules actives.

## **I.3.Composition et propriétés des huiles essentielles**

### **I.3.1.Composition chimique**

La composition chimique d'une huile essentielle peut varier considérablement :

Dans une même plante, selon les organes traités (feuille, fleur, fruit, bois). Selon les conditions de culture pour une même souche végétale (ensoleillement, humidité, longueur de jour, fertilisiez du sol).

## *Chapitre I*

---

Selon les races chimiques, ou chimio types, pour une même espèce : l'exemple classique est le cas du thym avec 7 races chimique [7].

Les HE constituent des mélanges complexes organiques qui possèdent des structures des fonctions chimiques très diverses [8]. L'ensemble de ces composés peut être divisé en deux grands groupes :

- ❖ Les hydrocarbures terpéniques.
- ❖ Les composés aromatiques.

### **I.3.2. Propriétés physiques**

Les huiles essentielles possèdent un certain nombre de propriétés physiques communes très connues:

- A température ambiante, elles sont généralement liquides ; alors qu'elles sont volatiles à température élevées.
- Pouvoir intense de diffusion et de pénétration.
- Elles sont incolores à jaune pâle mais il existe toutes fois des exceptions.
- Elles ont généralement une densité inférieure à celle de l'eau ( $d < 1$ ), mais il existe des exceptions (les huiles essentielles de girofle).
- Elles sont douées d'un pouvoir rotatoire justifié par la présence des molécules asymétriques.
- Elles possèdent un indice de réfraction généralement élevé.
- Elles sont peu solubles dans l'eau (entraînables à la vapeur d'eau), et soluble dans les solvants organiques usuels, dans les graisses (liposolubles), et dans les alcools.
- Sensibles à l'oxydation ; elles ont généralement tendance à se polymériser pour former des produits résineux ; ce qui limite leur conservation [9].
- Leur point d'ébullition varie entre  $160\text{ }^{\circ}\text{C}$  et  $240\text{ }^{\circ}\text{C}$  [10].

### **I.4. Répartition et localisation des huiles essentielles**

#### **I.4.1. Répartition**

Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, par ex. : myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, etc [11].

## *Chapitre I*

---

La production 'HE dans les plantes est, généralement, associée avec la présence des structures spéciales sécrétrices ; des cellules sécrétrices, des poile sécréteurs, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs et des trichomes glandulaires qui existant dans toutes les partie aériennes de la plante.

Les HE sont situés dans différents parties de la plante aromatique :

- ❖ Dans les feuilles comme pour basilic,
- ❖ Dans les fleurs comme chez la rase,
- ❖ Dans les grains comme pour la coriandre,
- ❖ Dans l'écorce comme pour la cannelle,
- ❖ Et pour certaines plantes. C'est dans les racines [9].

### **I.4.2.Localisation**

Les HE sont légèrement répandus dans le règne végétal pour les familles a haute teneur en matières odorantes comme les labiacées, géraniacées, rutacées myrtacées, conifères, etc. on distingue deux types de dépôts des huiles essentielles dans les végétaux; les dépôts exogènes et endogènes :

❖ Le dépôt exogène :

C'est un dépôt à la surface des organes du végétal qui produit l'huile essentielle durant la végétation donnant l'odeur caractéristique du végétal.

❖ Le dépôt endogène :

C'est un dépôt à l'intérieur des organes du végétal, constitué de cellules mortes ou vivantes.

Toutes les parties d'une Oléane puissent contenir des essences, leurs compositions chimiques varient d'un organe à un autre, mais la plus importante concentration se trouve au niveau des fleurs et des feuilles [9].

### **I.5.Rôles des huiles essentielles**

Plusieurs hypothèses ont été avancées sur le rôle des HE. Les constituants des huiles essentielles sont considérés par Lutz comme des modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaire protégeant la plante contre les argents atmosphériques.



## *Chapitre I*

---

Les travaux de Nicholas ont montré que les monoterpènes et sesquiterpènes peuvent jouer des rôles aussi variés qu'importants dans la relation des plantes avec leur environnement. Par exemple, le 1,8-cinéole et le camphre dans la germination des organes infectés ou la croissance des agents pathogènes de ces organes [11].

Réduction de la compétition des autres espèces de plante (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines, et protection contre les herbivores par goût.

L'huile comme source énergétique, facilitant certaines réaction chimique, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertique [12].

Rôle défensif protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores [13].

### **I.6. Les facteurs influençant la composition**

La composition chimique et le rendement en HE varient suivants diverses conditions : L'environnement le génotype origine géographique, la période de récolte le séchage lieu de séchage, la température et dure de séchage, les parasites, les virus et mauvaises herbes [14], le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement la composition du sol sont autant de facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques. Chez la *Mentha Piperita* par exemple., les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofuranne.

L'heure de la récolte du matériel végétal ainsi que le moment dans l'année sont en effet des facteurs importants [15].

### **I.7. Domaine d'utilisation des huiles essentielles**

Les HE peuvent être utilisés dans les cas suivants : friction inhalation, vaporisation, bain aromatique diffusion, bain de pieds en compresse, massage et soin de peau...

Différents secteurs ont utilisé les huiles essentielles :

#### **I.7.1. Phytothérapie**

Les huiles essentielles largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes, en médecine dentaire, le traitement et la prévention des caries [16].

Les HE ont un grand intérêt en pharmacie. Elles s'utilisent sous forme de préparation galénique et dans la préparation d'infusion. Aussi, elles s'emploient pour leurs propriétés aromatisants pour masquer l'odeur désagréable des médicaments destinés à la voie orale.

# *Chapitre I*

---

Plus de 40% des médicaments sont à base de composants actifs issus de plantes. De nombreuses huiles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de produits pharmaceutiques : sirop,, gouttes, gélules.

## **I.7.2.Utilisation en aéro-ionisation (désinfection de l'air)**

Les HE sont composées d'un grand nombre de molécules volatiles en diffusion dans l'atmosphère, ou diluées dans des produits de nettoyage. Elles désinfectent, désodorisent et parfument agréablement et naturellement l'air en éliminant 90% du pouvoir bactérien. Cette pratique est utile en particulier dans le milieu hospitalier, comme elle peut être utilisée également pour l'assainissement de l'atmosphère des locaux [17]. On peut aseptiser l'atmosphère avec un ionisateur d'huile essentielle. Il se forme ainsi des aérosols.

## **I.8.Choix de la méthode d'extraction**

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte [18].

## **I.9.Principaux paramètres d'extraction**

Les principaux paramètres à prendre en compte dans les opérations fondamentales d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont :

- ❖ La volatilité
- ❖ La solubilité
- ❖ La taille et la forme des molécules constitutives
- ❖ L'adsorption [18].

## **I.10.Paramètres influençant l'extraction**

### **I.10.1. Matière végétale**

Choix des plantes: Seules les plantes saines de l'espèce recherchée doivent être récoltées. On peut cueillir les fleurs, feuilles bourgeons et petites baies en les arrachant simplement de la plante à la main. Puis on récolte les tiges, les racines et écorces de préférence avec un petit couteau ou un sécateur. Cette méthode est plus écologique et permet d'obtenir des huiles essentielles de meilleure qualité. Provenance (région d'origine) : Le sol dans lequel pousse la plante et le climat qui règne dans une région donnée déterminent et

## *Chapitre I*

---

différencient en grande partie la qualité de l'essence que produit cette région par rapport à l'essence de la même plante provenant d'une autre région.

Stade végétatif : La récolte doit avoir lieu pendant le stade végétatif quand la plante est plus riche en essence. Ce moment varie d'une plante à une autre.

Période de la journée: La qualité de l'essence d'une plante varie en fonction de la période de la journée où elle est récoltée. C'est dès l'aube, lorsque la rosée s'évapore, que la concentration des huiles essentielles est la plus élevée dans les plantes, car les gouttelettes de rosée empêchent encore l'évaporation des huiles. A défaut, on peut récolter en fin d'après-midi ou en début de soirée, au moment où les plantes exhalent le moins leur parfum.

Partie de la plante distillée: Les diverses parties d'une même plante (fleur, feuille, tige, écorce, racine, etc.) peuvent produire des essences différentes [18].

### **I.11.Les techniques d'extraction des huiles essentielles**

#### **I.11.1.Extraction par expression à froid**

L'extraction par expression à froid, est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. [2]

Dans les agrumes, l'huile essentielle se trouve dans la partie extérieure du fruit [19] (la peau).Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car n'a subi aucune modification chimique. [20]

L'HE est séparé par condensation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau. [2]

#### **I.11.2.Extraction par distillation**

C'est une méthode découverte au deuxième siècle par le grand médecin arabe Avicenne, elle est aujourd'hui la méthode d'obtention d'huile essentielle la plus utilisée et la plus répandue.

Elle est employée avec des plantes peu sensibles à la chaleur comme la lavande, la menthe, ainsi qu'avec la plupart des feuilles, des graines et des bois.

La distillation est un procédé de séparation des composés d'un mélange de deux ou plusieurs liquides basés sur la différence de volatilité. Pour capter les HE contenues dans les

## Chapitre I

plantes à parfum par distillation, trois procédés sont régulièrement mis en pratique : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau [9].

### I.11.3. Hydrodistillation

Le principe de la méthode est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic remplie d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition [2]. Les espèces chimiques volatiles non miscibles à l'eau sont entraînées à la vapeur [7]. Les vapeurs d'eau et d'huile essentielle sont condensés dans un réfrigérant et l'huile est séparée des eaux condensées par la décantation [7,9].



*Figure.1.* Appareillage pour l'hydrodistillation de l'huile

### I.11.4. Hydrodiffusion

Cette technique est relativement récente particulière. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas, et à pression réduite la vapeur d'eau au travers la matière végétales.

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'huile essentielle obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale : « essence de percolation », et traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps de vapeur et d'énergie [2,12].

### **I.11.5. Entrainement à la vapeur d'eau**

C'est le procédé le plus ancien et le mieux adapté à l'extraction des essences des végétaux.

C'est aussi la seule distillation préconisée par la pharmacopée française car elle minimise les altérations hydrolytiques (notamment des esters) [21].

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille [8].

Les vapeurs chargées d'huile sont refroidies, décantés, distillées et l'huile essentielle est récupérée. La vapeur d'eau, sous l'action de la température élevée, pénètre à l'intérieur des te dessus des végétaux ou elle constitue avec l'huile essentielle de la plante une émulsion de très grande miscibilité [9].

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. Donc cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques [12].

### **I.11.6. Extraction par micro-onde**

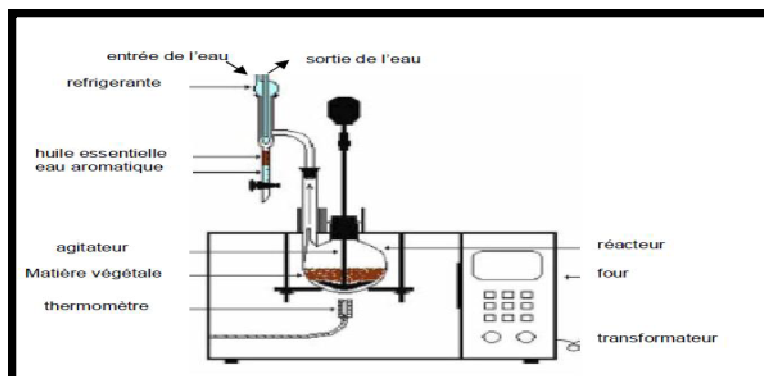
Les micro-ondes sont des rayonnements électromagnétiques, caractérisées par un champ magnétique et un champ électrique ; elles sont courtes à haute fréquences comprise entre les ondes radios et les ondes infrarouges [22]. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement, et décantation [20].

Les micro-ondes provoquent la vibration des molécules d'eau présentent dans le système glandulaire et vasculaire du végétale, ce qui produit un échauffement suivit de l'évaporation de l'HE, qui est entraînée dans le mélange azéotrope formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (sans ajout d'eau pour les produits traités en frais) [22].

Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (température plus basse) considérable [14]. Et un rendement d'extraction élevé [20].

## Chapitre I

La composition de l'HE obtenue par ce procédé est bien souvent semblable à celle obtenue par un procédé d'entraînement à la vapeur d'eau traditionnel. Toutefois, une grande proportion de composés oxygénés est généralement observée dans les huiles essentielles extraites par micro-onde [14].



*Figure.2:* Principe d'hydrodistillation sous micro-ondes.

### I.11.7.Macération

La macération est un procédé d'extraction des huiles essentielles à partir des organes végétaux particulièrement fragiles dans les fleurs.

Le principe de ce procédé est l'épuisement de la matière végétale par les corps gras et se base sur l'affinité des essences vis-à-vis de ce corps gras (ils ont la possibilité d'absorber et de retenir les essences).

Deux méthodes sont employées :

- Macération à froid ou enfleurage ;
- Macération à chaud ou digestion [9].

#### I.11.7.1.Macération à chaud

Cette méthode est une macération des plantes dans une graisse pure fondue au bain marie, la température d'utilisation varie entre 50 et 70°C, les pétales sont agités avec une palette en bois. Cette graisse est ensuite filtrée et la pommade obtenue est traitée de la même manière que la technique à froid pour l'obtention de l'essence absolue [9].

### I.11.7.2. Macération à froid

Cette technique consiste à mettre les pétales en contact avec un corps gras pendant une durée de temps, l'EH passe des fleurs à la graisse et devient facile à récupérer, en lui ajoutant de l'alcool, qui ne se dissout que dans les huiles. Finalement par simple évaporation de l'alcool, on récupère l'huile essentielle seule. L'essence obtenue est dite absolue [9]. Cette technique est employée en parfumerie [8].

### I.11.8. Extraction par solvant organique volatil

Certains organes de végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation.

Il faut donc, pour ces végétaux, recourir à d'autres méthodes d'extraction des composés odorants volatils. Ces méthodes sont l'extraction par les solvants fixes c'est-à-dire une extraction par les corps gras (enfleurage) et l'extraction par les solvants volatils (extraction par l'hexane) [14].

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Parmi les solvants les plus utilisés on recense : le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou en corps le dichlorométhane.

Le choix du solvant d'extraction va s'avérer très délicat, d'autant que la législation sur les produits à destination de l'industrie agro-alimentaire est extrêmement rigoureuse. Le solvant choisi, doit répondre à de très nombreuses exigences :

- ❖ Non miscible dans l'eau, car le cas contraire rendrait impossible la séparation entre l'eau, le solvant et l'huile essentielle .
- ❖ Avoir une température d'ébullition basse afin d'être facilement et rapidement éliminé après l'opération d'extraction, par évaporation sans l'application d'une température élevée qui pourrait altérer la qualité du produit final.
- ❖ Etre suffisamment puissant pour dissoudre les molécules responsables du parfum, mais sans extraire les molécules inutiles dans la composition du parfum, comme les pigments par exemple .
- ❖ Etre liquide à la température et la pression sélectionnées pour l'opération d'extraction, tout en étant ininflammable .
- ❖ Etre non réactif avec les composants du produit final .
- ❖ Etre peu chère [8].

### *1.11.9.Extraction par les gaz supercritiques*

Le fluide dans cette extraction est porté au-dessus du point critique, qui est caractérisé par la température et la pression qui correspond à un changement de l'état physique de la substance, autrement dit, au-delà du point critique, le fluide peut avoir la densité d'un liquide et la viscosité d'un gaz, qui lui confère une bonne diffusibilité dans les solides et un bon pouvoir solvant [22].

Si plusieurs gaz peuvent en théorie être utilisés, l'intérêt s'est porté initialement sur le dioxyde de carbone, ce qui s'explique si l'on considère ses atouts : produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, strictement atoxique, facile à éliminer totalement, sélectif, aisément disponible, peu réactif chimiquement et peu coûteux.

Le point critique se situe à  $p=73,8$  bars et  $T=31,1^{\circ}\text{C}$  [2].



## Chapitre I

### I.12. Comparaison entre les procédés d'extraction des huiles essentielles [9]

**Tableau.1** : *Avantage et inconvénients des différents procédés d'extraction*

<b>Procédés d'extraction</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
Expression à froid	<ul style="list-style-type: none"><li>-Essence de trais bonne qualité, non trop altérable.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Procédé non généralisé.</li><li>-Rendement trais faible en essence.</li></ul>
Hydrodistillation	<ul style="list-style-type: none"><li>-Rendement en huile essentielle très élevé.</li><li>-Essence de bonne qualité, très concentrée.</li><li>-Contact direct entre matière végétale-eau.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Altération de certaines substances odorantes à la température d'ébullition de l'eau.</li><li>-Perte d'une partie d'essence par évaporation, oxydation, dissolution et cyclisation.</li><li>-Procédé violent.</li></ul>
Entraînement à la vapeur d'eau	<ul style="list-style-type: none"><li>-Réduire l'altération des constituants d'huile essentielle.</li><li>-Economie d'énergie, de temps d'extraction.</li><li>-Efficacité d'extraction.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Réaction secondaire hydrolyse et formation d'artéfacts.</li></ul>
Enfleurage	<ul style="list-style-type: none"><li>-Obtention d'absolues ou concentré de pommade qui garde tout la finesse et l'odeur de la fleur épuisée.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Cout très élevé.</li><li>-Diffusion lente et processus délicat.</li></ul>
Micro-onde	<ul style="list-style-type: none"><li>-Rapidité</li><li>-Réduction considérable du temps d'extraction</li><li>-Amélioration du rendement.</li><li>-L'optimisation des conditions de l'extraction.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Détérioration des constituants odorants par les micro-ondes qui possèdent une grande énergie de pénétration</li></ul>
Solvants organiques volatils	<ul style="list-style-type: none"><li>-Universalité</li><li>-Procédé doux, non violent</li><li>-Principes actifs olfactivement proche du végétal lui-même.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>-Danger sur l'homme et l'environnement en cas de manque de prévention</li><li>-Impossible e contrôler les paramètres de pression et de température.</li></ul>

## *Chapitre I*

---

### **I.13. Toxicité des huiles essentielles**

Les HE sont des molécules actives. Elles peuvent avoir de graves effets secondaires. Il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. Parmi ces effets, citons : des allergisants ou hypersensibilisants, photosensibilisants dus aux furocoumarines, neurotoxiques dus aux cétones, néphrotoxiques dus aux terpènes majoritaires dans l'huile essentielle de Térébenthine et des rameaux de Genévrier, hépatotoxiques dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives L'eugénol, qui est l'un des constituants du Thym, est hépatotoxique. Chez l'enfant, 10 ml eugénol peut conduire à une insuffisance rénale. Il a été démontré que le linalol, l'un des constituants d'une autre espèce de thym, est cytotoxique pour les cellules de la peau humaine.

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible : la majorité des huiles qui sont couramment utilisées ont une dose létale (DL50) comprise entre 2 et 5 g/kg (Anis, Eucalyptus, Girofle...etc.) ou, ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/kg (Camomille, Lavande...etc.). D'autres, une quinzaine, ont une DL50 comprise entre 1 et 2 g /kg : Basilic, Estragon, Hysope (1,5ml/kg). Les plus toxiques sont les huiles essentielles de Boldo (0,13 g/kg ; convulsions apparaissant dès 0,07 g/kg), de Chénopode (0,25 g/kg), de Thuya (0,83 g/kg), ainsi que l'essence de moutarde (0,34 g/kg) [18].

### **I.14. Situation économique des huiles essentielles**

Les quantités d'huiles essentielles produites dans le monde varient considérablement. La production annuelle de quelques huiles essentielles dépasse 35 000 tonnes tandis que d'autres ne peuvent atteindre que quelques kilogrammes. . De même, de grandes variations se produisent également pour la valeur monétaire des différentes huiles essentielles. Les prix varient de 1,80 \$ US/kg pour l'huile d'orange à 120 000,00 \$ US/kg pour l'huile d'iris. La valeur annuelle totale du marché mondial est de l'ordre de plusieurs milliards de dollars US [23].

La production d'huiles essentielles à partir des plantes sauvage ou des plantes cultivées est possible presque partout, sauf dans les pays les plus froids du monde et les régions couvertes de neige en permanence. Le nombre global des espèces végétales est de l'ordre de 300 000.

Environ 10% d'entre elles contiennent des huiles essentielles et pourraient être utilisées comme bases pour leur production. Tous les continents possèdent leurs propres flores caractéristiques. Parfois, ces plantes peuvent être limitées à une zone géographique particulière, comme Santalum album en Inde et au Timor en Indonésie, Pinus mugo dans les

## *Chapitre I*

---

Alpes européennes, ou *Abies sibirica* à la CEI [Communauté des Etats Indépendants (ex-Russie)]. Pour de nombreux pays, principalement en Afrique et en Asie, la production d'huile essentielle est leur principale source d'exportation. Pour l'Indonésie, le Sri Lanka, le Vietnam, et même l'Inde, les chiffres d'exportation d'HE sont très élevés.

Les principaux pays producteurs se trouvent dans tous les continents. En Europe, le cœur de production se trouve dans les pays méditerranéens : Italie, Espagne, Portugal, France, Croatie, Albanie et Grèce, qui produisent tous des huiles essentielles en quantités industrielles. Sans oublier de mentionner les pays d'Europe centrale tels que, la Bulgarie, la Roumanie, la Hongrie et l'Ukraine, l'immense Fédération de Russie, répartie sur une grande partie de l'Europe de l'Est et de l'Asie du Nord, a non seulement des ressources de plantes sauvages presque infinies mais aussi de vastes zones de terres cultivées. Le continent asiatique avec la diversité de ses climats semble être le plus important producteur d'huiles essentielles. La Chine et l'Inde jouent un rôle majeur suivies de l'Indonésie, le Sri Lanka et le Vietnam. Beaucoup d'huiles essentielles uniques et insolites proviennent de l'immense continent australien et de ses voisins : la Nouvelle-Zélande et la Nouvelle-Calédonie. Les principaux pays producteurs d'HE en Afrique sont le Maroc, la Tunisie, l'Égypte, l'Algérie et la Côte d'Ivoire. Les pays qui jouent un rôle mineur sont l'Afrique du Sud, le Ghana, le Kenya, la Tanzanie, l'Ouganda et l'Éthiopie. Le continent américain est également l'un des plus grands producteurs d'huiles essentielles. Les États-Unis, le Canada et le Mexique possèdent une richesse en matières végétales naturelles et aromatiques. En Amérique du Sud, les huiles essentielles sont produites au Brésil, en Argentine, au Paraguay, en Uruguay, au Guatemala, et dans l'île d'Haïti.

La culture des plantes aromatiques a changé de site géographique au cours des deux derniers siècles. De 1850 à 1950, les centres de la culture commerciale des plantes à huiles essentielles étaient la Provence en France, l'Italie, l'Espagne et le Portugal. Avec l'augmentation du coût de la main d'œuvre, la culture s'est déplacée vers les régions méditerranéennes de l'Afrique du Nord [23].

### **1.15. Mode d'action contre les bactéries**

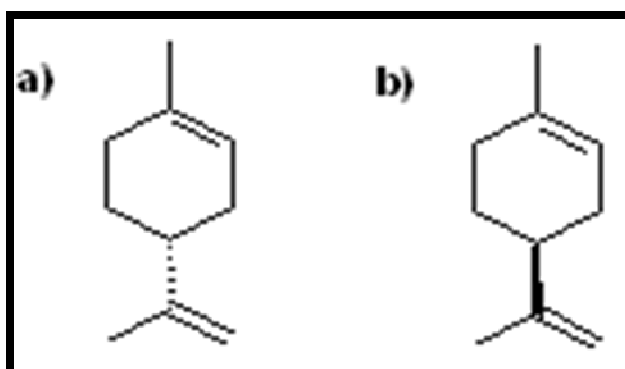
Les huiles essentielles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches de bactéries, mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phases.

- ❖ Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.

- ❖ Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- ❖ Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie. plante utilisée... Par conséquent, leurs propriétés antimicrobiennes varient également. Il est donc important de sélectionner une huile essentielle standardisée dont les composants actifs sont clairement identifiés et quantifiés [24].

### I.16.Limonène

Le limonène est un terpène. Les terpènes sont une classe de substances naturelles dont la structure moléculaire est formée de multiples de l'isoprène qui est une molécule à cinq carbones. Le limonène est un mono terpène formé de deux molécules d'isoprènes. Le camphre et le caoutchouc naturel sont des exemples bien connus des terpènes. Le limonène est une molécule chirale. La chiralité est la propriété que possèdent certaines molécules de ne pas être identiques à leur miroir. Le limonène existe sous la forme de deux énantiomères. Seule la lumière polarisée peut différencier les deux formes : **R**-(+)-limonène, **S**-(-)-limonène [25].



**Figure 3** : Les deux formes énantiomères du limonène. a) *R*-(+)-limonène. b) *S*-(-)-limonène.

### I.17.Les composés terpènes

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) reconnue par Wallach dès 1887 in Cet isoprène est à la base du concept de la «règle isoprénique» énoncée en 1953 par Ruzicka.

## Chapitre I

---

Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (IPP), désigné sous le nom d'isoprène actif comme le véritable précurseur de la molécule terpénique. Les systèmes enzymatiques responsables de cette conversion (IPP en composés terpéniques dans les trois compartiments: cytoplasmes, mitochondries et plastes) sont hydrosolubles ou membranaires.

Ces derniers permettent l'élongation de la chaîne isoprénique conduisant à tout l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones

Seuls les terpènes dont la masse moléculaire est relativement faible (mono – et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles et leur confère un caractère volatil et est à la base de leurs propriétés olfactives

Il convient de souligner que la synthèse des terpènes n'est pas propre aux végétaux. Le squalène, ainsi que son nom l'indique est un terpène abondant chez les requins.

Des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent également chez les spongiaires et les coelentérés.

Les terpènes sont constitués d'un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Dans certaines huiles essentielles, les hydrocarbures prédominent (exemple : l'essence de térébenthine), dans d'autre partie, la majeure partie de l'essence est constituée de composée oxygénée.

Il est à noter que le goût et l'odeur des huiles essentielles sont données par ces composés oxygénés.

Parmi ces composés oxygénés, on note d'alcool (géraniol, linalol), d'ester (acétate de linalyle), d'aldéhydes (menthone, camphre, thuyone), les cétones les éthers, les phénols et les peroxydes [26].

### I.18. Les monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est  $C_{10}H_{16}$ .

Ces composés peuvent être: monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques ( $\alpha$ - et  $\gamma$ -terpinène, p-cymène) et aux monoterpènes bicycliques (pinènes,  $\Delta^3$ -carène, camphène, sabinène). Selon Bruneton (1999), la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions: alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols [26].

### I.19. Arome

## Chapitre I

---

La notion d'arôme est à la fois différente et plus vaste que celle d'huile essentielle puisqu'elle s'applique à tout principe odorant qui émane des substances naturelles ou qui est engendrée par un processus physique, chimique ou enzymatique (café torréfié, viande grillée, poisson, fromage ...) [25].

### I.20. Les techniques d'extraction du limonène

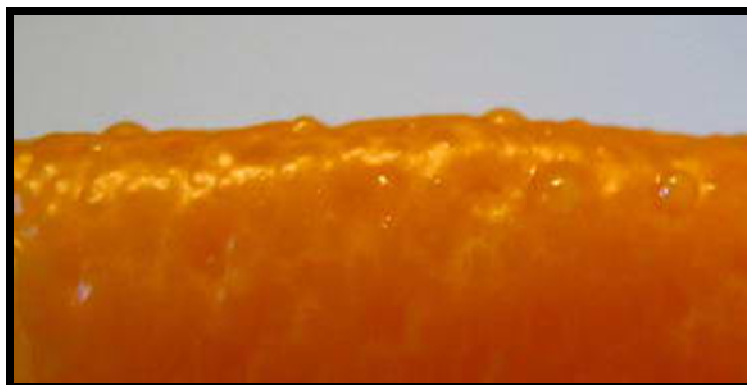
Il s'agit de l'extraction du limonène à partir des peaux d'oranges.

#### I.20.1. Le pressage

Actuellement, l'huile essentielle d'orange de meilleure qualité s'obtient par simple pressage des peaux d'orange [27]. En effet l'huile essentielle est contenue dans de petites poches insérées dans la peau de l'orange. Il suffit alors de presser celle-ci entre son doigt pour voir perler des microgouttes d'un liquide fortement odorant : l'huile essentielle.



*Figure.4* : Coupe d'une orange. On peut remarquer les petites poches d'huile essentielle.



*Figure.5* : Gouttes d'huile essentielle perlant de la peau par simple pression.

## Chapitre I

Les peaux d'oranges sont placées dans un presseur à vis et l'huile est récupérée par simple pression.

L'avantage de cette méthode est sa simplicité de mise en œuvre, son coût réduit et l'absence de solvant organique.

### I.20.2.L'hydrodistillation

L'huile essentielle d'orange peut être obtenue comme de nombreuses autres huiles par hydrodistillation, c'est-à-dire en entraînant l'huile avec de la vapeur d'eau [20].

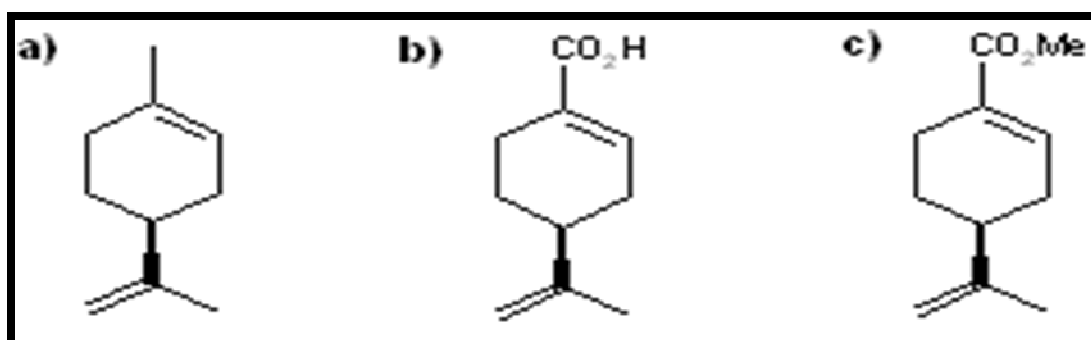
En effet, si le limonène seul présente une température d'ébullition de 175°C (à pression atmosphérique), un mélange d'eau et de limonène distille à 97,4° en formant un azéotrope. Par condensation de la vapeur, on obtient un mélange d'eau et de limonène qui se sépare sous la forme d'une huile. Si cette méthode peut-être employée pour des petites extractions en laboratoire, elle n'est cependant pas appliquée à l'échelle industrielle [29].

### I.21. L'utilisation du limonène

Le limonène est obtenue comme sous-produit par « l'industrie des jus de fruit » à plus de 5000 tonnes par ans [30]. L'industrie ne pouvait laisser ce perdre une telle quantité de matière première et diverses applications ont été envisagées, du domaine médical à la fabrication de plastiques.

#### I.21.1.La thérapie anticancéreuse

Il a été montré que certains terpènes, tel le limonène possédaient une activité anticancéreuse, à la fois in-vitro et in-vivo [31]. Les mécanismes à la base de cette action ne sont pas encore clairs mais des pistes ont cependant été explorées. Ainsi il semble que le limonène ou son produit de dégradation majoritaire – l'acide périllique – ne soient pas en eux-mêmes actifs. En revanche, Gould a identifié l'ester méthylique de l'acide périllique comme un possible inhibiteur de l'isoprénnylation de certaines protéines cellulaires [32].



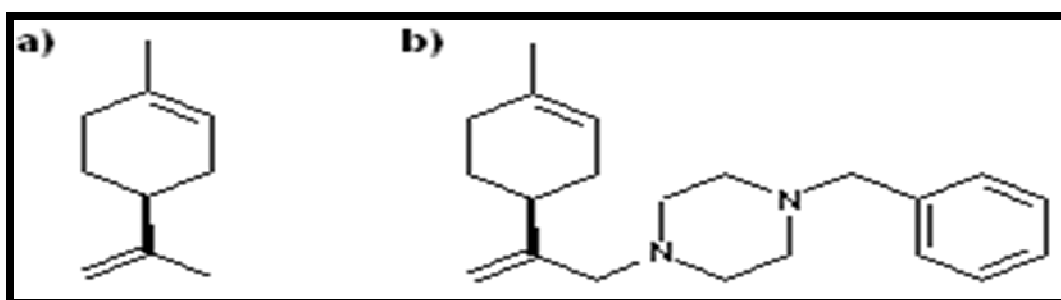
**Figure.6:** a) Limonène. b) Acide périllique. c) Esther méthylique de l'acide périllique.

## Chapitre I

L'isoprénnylation consiste à ajouter un groupe farsényl ou géranyl à l'extrémité libre d'un acide carboxylique d'une protéine. La protéine ainsi dénaturée ne va plus assurer son rôle biologique, pouvant entraîner la formation de tumeurs. Inhiber cette dénaturation permet de stopper l'évolution d'un cancer et de réduire la proportion de cellules tumorales. La mise en évidence de ce mécanisme d'action du limonène a ouvert la voie à la préparation d'inhibiteur de cette transformation [33].

Ainsi le limonène a été engagé dans des essais sur des patients atteints de cancers et semble bien toléré [34].

Certains dérivés du limonène ont prouvés leur activité anticancéreuse sur des tumeurs de la prostate.



**Fig.7 :** a) Limonène. b) Dérivé du limonène actif sur certaines lignées tumorales.

### 1.21.2.Des patches à l'orange

Pour rester dans le domaine médical, il a été mis au point par Chan et son équipe un nouveau type de patch à base de propylène glycol, de dibutyl-lauroylglutamide et de limonène pour délivrer progressivement de l'halopéridol, un médicament utilisé dans le traitement de certaines psychoses et de la schizophrénie [29]. L'utilisation de patch pour délivrer progressivement des médicaments se démocratise peu à peu, en raison des avantages apportés pour le patient :

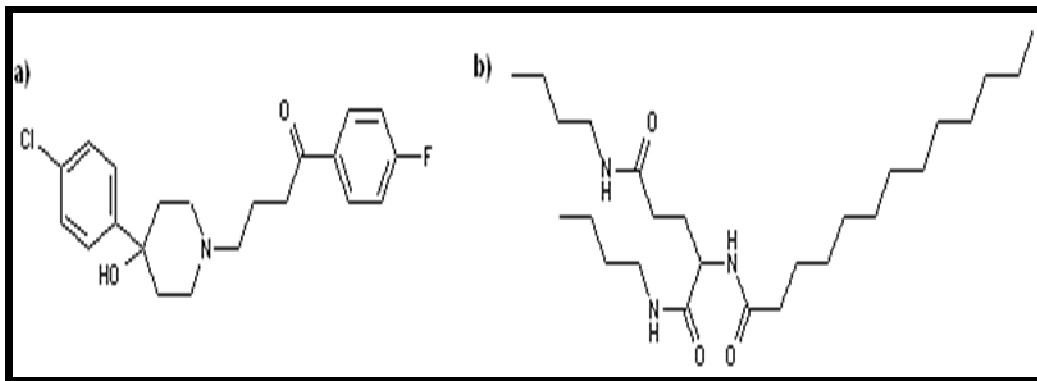
- ❖ les médicaments fragiles ne sont pas dégradés lors de l'adsorption intestinale et passent directement dans le sang, ce qui permet d'envisager l'utilisation de doses réduites de principe actif.
- ❖ la concentration en principe actif dans le sang reste constante durant toute la durée de vie du patch



## Chapitre I

- ❖ la simplicité d'utilisation : il est aisé de commencer et d'arrêter le traitement. Cependant, les principes actifs doivent traverser la peau et le passage de cette barrière peut poser problème.

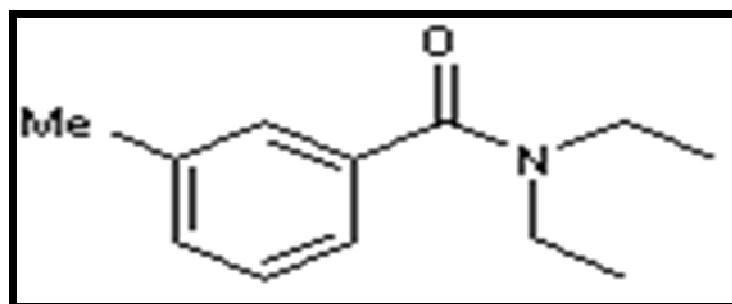
Le limonène permet justement une meilleure pénétration percutanée (à travers la peau) et la concentration en l'halopéridol reste ainsi constante dans le sang.



**Figure.8:** a) Halopéridol. b) Dibutylauroylglutamide (GP1)

### 1.21.3. Les insecticides

Il a été montré que certaines huiles essentielles extraites de plantes poussant au Chili possèdent une activité anti-moustique, très probablement due à la présence de limonène et/ou de camphre dans ces huiles [35]. Ces travaux permettent d'envisager le remplacement des répulsifs classiquement utilisés (tel le N, N-diéthyl-*m*-méthylbenzamide) parfois nocif pour l'homme et pouvant endommager certains plastiques et peintures.



**Figure.9.** N, N-diéthyl-*m*-méthylbenzamide.

Des compositions à base de limonène présentant une activité insecticide contre les fourmis, les araignées, les mouches, les chenilles... ont été mises au point [36].

Ces insecticides d'un nouveau type sont non toxiques pour les animaux et l'homme, pouvant même être utilisés à proximité de nourriture. Ils sont de plus biodégradables. Il est

supposé que dans ces compositions, le limonène possède une action sur la carapace (en chitine) des insectes, entraînant son ramollissement et ainsi la mort de l'insecte. Une composition type pouvant être utilisée dans les habitations comprend du limonène (6 % en poids), un émulsifiant (10 %), un conservateur (benzoate de sodium – 0,1 %) et de l'eau (83,9 %).

### **I.21.4. Le limonène est tant que solvant de nettoyage**

Le limonène a trouvé un important débouché en tant que solvant industriel. En effet, les solvants industriels classiquement utilisés sont souvent des dérivés des pétroles (essences, éther de pétrole, white spirit) ou des solvants halogénés (trichloroéthylène) présentant une nocivité certaine pour l'utilisateur ainsi que des risques d'inflammation. De plus, le retraitement de ces solvants par des organismes spécialisés représente un coût important. Le limonène, le plus souvent en mélange avec de l'eau et un surfactant ne présente pas ces problèmes de nocivité et de retraitement et constitue ainsi un solvant vert. Un solvant industriel peut ainsi être préparé par le mélange de : limonène (35,1 %), eau (44,8 %), sel de potassium de l'acide dodécylbenzène sulfonique (11,4 %), pyrophosphate de potassium (2,2 %), carbitol butyle (6 %), métasilicate de sodium (0,5 %) [37].

### **I.21.5. Préparation de plastiques du pétrole aux oranges**

Actuellement, la plus grande partie des plastiques que nous rencontrons sont produits à partir de dérivés du pétrole. Cependant les ressources mondiales en pétrole tendent peu à peu à s'épuiser et des solutions de remplacement sont envisagées. En 2004, l'équipe de Coates a mis au point la polymérisation d'oxyde de limonène et de CO<sub>2</sub> en un plastique polycarbonate.

Les deux composés de départ sont abondamment disponibles (un peu trop pour le CO<sub>2</sub> d'ailleurs) et le plastique obtenu est biodégradable. Il s'agit ici d'un pas en avant dans la diminution de notre dépendance au pétrole [35].

## **I.22. Les avantages et les inconvénients du limonène**

### **I.22.1. Avantages de limonène**

- ❖ Limonène est utilisé dans divers secteurs (parfumerie, aliment, cosmétique, etc....).
- ❖ Est un antioxydant.
- ❖ A un principe actif.
- ❖ Une huile naturelle, n'a pas un effet négatif sur la santé humaine.

### **I.22.2. Inconvénients de limonène**

- ❖ Difficile à l'extraire.

- ❖ Huile trop chère.
- ❖ Une tonne de déchet pour avoir un litre.

### I.23. Activité antibactérienne

#### I.23.1. Historique

L'une des premières mises en évidence *in vitro* de l'activité antibactérienne des HEs date de la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, lorsque Buchholtz a étudié la croissance des propriétés inhibitrices de l'huile des graines de carvi et de l'huile de thym en 1875. Toutefois, il aura fallu attendre le début du XX<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Dès lors, plusieurs recherches ont démontré le pouvoir antimicrobien de certaines essences sur une large palette de micro-organismes, y compris sur des bactéries résistantes aux antibiotiques.

Néanmoins, le mécanisme d'action des HEs sur les cellules bactériennes et fongiques reste difficile à cerner, compte tenu de la composition complexe des huiles volatiles.

La variabilité des constituants des huiles suggère qu'elles agissent sur plusieurs sites d'action dans les micro-organismes, étant donné que chaque composé possède son propre mode d'action.

Les caractéristiques des huiles essentielles sont attribuées aux dérivés terpénoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. L'activité de ces molécules bioactives dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées.

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction. Egalement, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intra-cytoplasmique peuvent survenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de L'ATP, et du phosphate inorganique.

D'après Masson et Wasserman (1987), les composés phénoliques et les aldéhydes possèdent un mécanisme similaire, avec une efficacité inhibitrice proportionnelle à leur degré d'hydrophobicité [26].

### I.23.2 .Introduction

L'organisme humain, constamment exposé à une multitude de microbes, bactéries, virus, parasites, champignons), possède un système complexe de défense qui lui permet de rencontrer ou d'héberger ces microbes sans leur permettre d'envahir ses tissus [38].

Cependant, dans certaines conditions, l'infection peut entraîner une maladie infectieuse grave.

Les maladies infectieuses causées par les bactéries et les champignons affectent des millions de personnes dans le monde entier, et causent de lourdes pertes au niveau économique. Aux Etats Unis seuls, ces pertes sont d'environ 20 billions de dollars par an. De nombreux programmes ont été conduits pour découvrir et développer de nombreux agents antimicrobiens d'origine biologique [39].

### I.23.3.Définition des bactéries

Les bactéries (Bacteria), sont des organismes vivants unicellulaires et procaryotes présents dans tous les milieux.

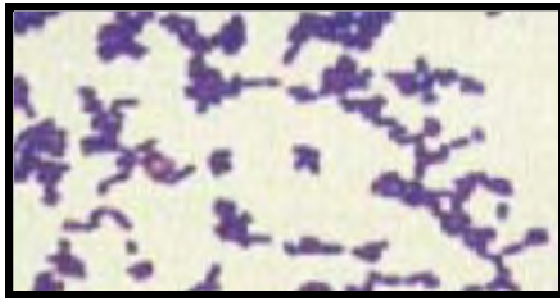
La plupart des bactéries possèdent une paroi cellulaire glucidique. Les bactéries les plus grosses mesurent plus de 2  $\mu\text{m}$  et, jusqu'au début du XXI<sup>e</sup> siècle, les spécialistes considéraient que les plus petites mesuraient 0,2  $\mu\text{m}$ , mais il existe des « ultramicrobactéries », y compris en eau douce [40].

Les bactéries présentent de nombreuses formes : sphériques (coques), allongées ou en bâtonnets (bacilles), des formes plus ou moins spiralées.

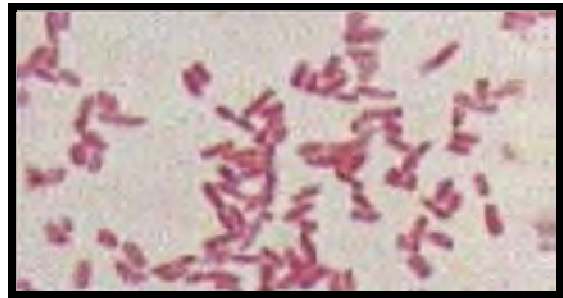
Pour distinguer entre les bactéries au microscope optique, une méthode importante et largement utilisée en bactériologie, c'est "la coloration de Gram". Elle consiste à traiter des bactéries fixées à la chaleur, par un colorant basique (violet de gentiane) puis une solution iodo-iodurée (mordantage), toutes les cellules se colorent en violet. Soumises ensuite à l'action de l'alcool éthylique elles se répartissent en : cellules qui conservent la coloration violette dites à **gram positif** et qui sont décolorées, appelées à **gram négatif**. Pour mieux distinguer ces deux catégories, le frottis bactérien est finalement traité par de la fuchsine basique, les bactéries à gram négatif sont roses et celles à gram positif restent violettes.

Après leur réaction avec les différents colorants utilisés par cette méthode, les bactéries se divisent en deux groupes majeurs : bactéries à gram positif (colorées en violet), bactéries à gram négatif (colorées en rose). Cette distinction de réponse à la coloration de gram est due à la différence qui existe dans la composition des parois bactériennes, celles des bactéries à gram négatif laissent passer la solution alcoolique, tandis que celles des bactéries à

gram positif représentent une véritable barrière que la solution alcoolique ne peut franchir (Figure 10, 11) [40].



**Figure. 10:** Gram positif.



**Figure. 11:** Gram négatif.

### **I.22.4. Bactéries à gram négatif**

#### **I.22.4.1. Escherichia coli**

##### **I.22.4.1.1. Historique**

L'espèce bactérienne *Escherichia coli* a été isolée pour la première fois par Theodore Escherichia (1857-1911), connu comme le premier médecin spécialiste des maladies infectieuses de l'enfant.

Le décès de Theodore Escherichia en 1911, en son honneur, *bacterium coli* à été renommée *Escherichia coli* en 1919.

*Escherichia coli* est responsable de la mort de deux millions de personnes par an, que ce soit par infections intestinales ou extra-intestinales. Ces caractéristiques soulignent l'intérêt de chercher la transition entre pathogénicité et commensalisme, de trouver comment le lien entre les deux peut fluctuer d'une relation de symbiose à celle d'une pathologie [41].

##### **I.23.4.1.2. Définition**

Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des entérobactéries et comprend cinq espèces dont une seule, l'*Escherichia coli*, est utilisée à titre d'indicateur de la qualité des eaux. La presque totalité des souches d' *Escherichia coli* ne sont pas pathogènes puisque cette bactérie est un hôte normal de l'intestin des mammifères. L'*Escherichia coli* est le seul qui soit sans équivoque toujours d'origine fécale et, à ce titre, il est de plus en plus considéré comme l'organisme indicateur spécifique d'une pollution fécale [42].

### **I.23.4.1.3.Risque d'*Escherichia coli* sur la santé humaine**

*Escherichia coli* est l'une des espèces bactérienne les plus souvent rencontrées en pathologie humaine. Elle est responsable de 60 à 80 pour 100 des infections des voies urinaires. Certains sérotypes sont capable d'induire des septicémies néonatales compliquées ou non de méningites. De nombreuses autres infections peuvent se rencontrer, certaines localisées aux voies digestives (cholécystites, appendicites) d'autres aux voies génitales et respiratoires. Enfin , certains *Escherichia coli* sont entéropathogènes entraînant des entérites par destruction de la bordure en brosse digestive.

*Escherichia coli* est une entérobactérie, comme toutes les entérobactéries elle présente une résistance naturelle aux glycopeptides et à la pénicilline G [40].

### **I.23.4.2.Définition de *Pseudomonas***

Le genre *Pseudomonas* de la famille des Pseudomonaceae comprend une soixantaine d'espèces pouvant rependre a la définition suivante :

- ❖ bacilles à gram négatif.
- ❖ Aérobie strictes.
- ❖ Capables de se multiplier à milieux usuels.
- ❖ Mobiles par ciliature polaire (sauf *Pseudomonas mallei*).
- ❖ Possédant une oxydase.
- ❖ Incapable de fermenter le glucose.
- ❖ Pouvant produire des pigments.

Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquitaires que l'on rencontre dans les sols, sur les végétaux et surtout dans les eaux douces et marines. De nombreuses souches pouvant se développer à basse température (souche psychrophiles) contaminent les denrées alimentaires ou produits pharmaceutiques conservés au réfrigérateur.

On peut occasionnellement les isoler de flore intestinale de l'homme ou de l'animal mais leur capacité à résister à de nombreux antibiotiques explique leur présence de plus en plus fréquente en milieu hospitalière. Ils se comportent comme des pathogènes opportunistes souvent à l'origine d'infection nosocomiales [43].

### **I.23.4.2.1.Le risque de *Pseudomonas* sur la santé humaine**

*Pseudomonas* sont des agents pathogènes opportunistes qui envahissent souvent le tissu de leurs hôtes et causent une infection et une bactériémie chez les hôtes

immunodéprimés (par exemple. VIH /sida, fibrose kystique du pancréas, bronchiectasie et maladie pulmonaire obstructive chronique sévère, brûlures, affection maligne ou diabète sucré).

L'infection siège souvent dans les voies respiratoires inférieures et sa gravité varie, allant de la colonisation sans réponse immunologique à la bronchopneumonie nécrosante sévère ; une telle infection grave chez des patients atteints de fibrose kystique est presque impossible à éradiquer une fois qu'elle est établie dans les voies respiratoires [43].

### **I.23.5.Les bactéries de gram positif**

#### **I.23.5.1.Définition de Staphylococcus**

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à *gram positif*, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. Parmi les 27 espèces du genre actuellement répertoriées, les principales sont *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*. L'espèce *S. aureus* sera prise comme type de description [43].

#### **I.23.5.2.Le risque de Staphylococcus sur la santé humaine**

Les *Staphylococcus* sont des bactéries de type cocci à *gram positif*, qui se retrouvent fréquemment chez les personnes en bonne santé, habituellement dans la muqueuse du nez. La bactérie peut ensuite coloniser d'autres régions, via les mains, et en particulier les parties humides du corps comme les aisselles ou la zone génitale.).

Il peut néanmoins également être pathogène (responsable d'une pathologie) et à l'origine d'infection diverses notamment cutanées, dont le nom varie selon leur localisation, à savoir : furoncle, impétigo, orgelet, panaris, folliculite, érysipèle. Il peut également se localiser dans des organes et infecter le tissu-osseux comme dans les ostéites ou les ostéomyélites par exemple, les articulations comme dans la spondylodiscite au des disques intervertébraux... [42].

## Chapitre II

### II.1. Matériel

#### II.1.1. Matériel végétal

Pour la caractérisation et l'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite des écorces d'oranges (*Citrus aurantium sinensis*, de la famille des Rutacées), la récolte des oranges a été réalisée dans la région de Boufarique (Blida) durant le mois de décembre.

#### II.1.2. Produits chimiques

- ❖ Dimethyl sulfoxide DMSO
- ❖ Hydroxyde de potassium KOH
- ❖ Dichlorométhane  $\text{Cl}_2\text{CH}_4$ .
- ❖ Phénolphtaléine.

### II.2. Dispositifs expérimentaux

#### II.2.1. Dispositif d'extraction par méthode d'hydrodistillation.

50g de masse végétale (écorces d'oranges) est introduite dans un ballon d'un litre, imprégné de 250 ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3h, les vapeurs chargées d'huile essentielle traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter; le mélange (huile essentielle + eau) se sépare par différence de densité.



*Figure. 1. Hydrodistillation*

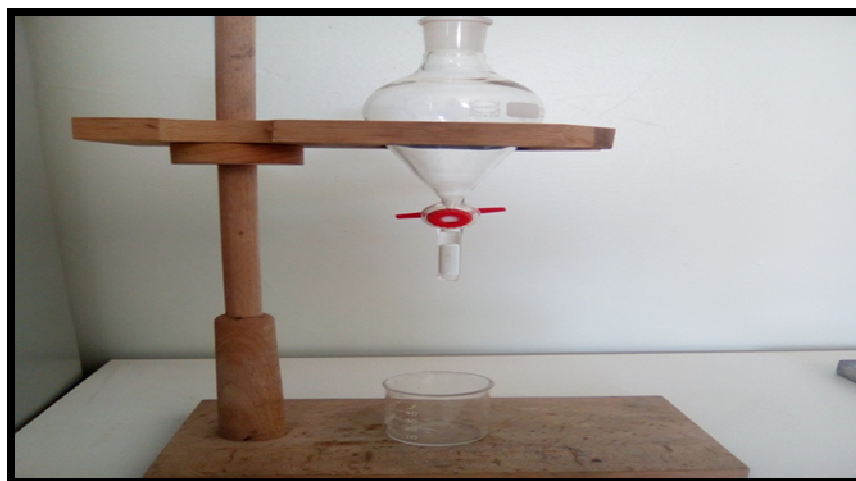


## Chapitre II

### II.2.2. Extraction liquide-liquide

C'est la séparation entre l'huile essentielle et l'eau distillé, pour cela nous avons ajouté pour chaque 10 ml d'un mélange constitué (d'eau distillé et l'huile) 5 ml de dichlorométhane.

L'huile récupérée, est placée dans de petits flacons opaques et conservés au réfrigérateur.



*Figure .2 La décantation*

### II.3. Caractérisation d'écorces d'oranges

#### II.3.1. Le taux d'humidité d'écorces d'oranges

Le taux d'humidité de la plante a été déterminé par le séchage à l'étuve :

2g de la matière végétale est introduite dans un creuset, puis séchée dans une étuve à 105°C jusqu'au poids constant, après refroidissement dans un dessiccateur, le creuset est pesé.

Le taux d'humidité est donné par la relation suivante :

**H%** : taux d'humidité exprimé en pourcentage.

**M<sub>1</sub>** : poids de l'échantillon en gramme après la récolte (plante fraîche).

**M<sub>2</sub>** : poids de l'échantillon en gramme après le séchage (plante sèche).

Le taux en matière sèche est donné par la relation suivante :

$$\text{MS en \%} = 100\% - \text{H\%}$$

## Chapitre II

### II.3.2. Les cendre

- Introduire 1g de matière dans un creuset,
- Mettre l'échantillon dans un four avec une température de 500°C pendant 2 heures.
- laisser refroidir l'échantillon dans un dessiccateur,

Le taux de cendres en pourcentage est donné par :

$$TC = (P_2 - P_3 / P_2 - P_1) * 100$$

P<sub>1</sub> : poids du creuset vide.

P<sub>2</sub> : poids du creuset + poids de l'échantillon avant calcination.

P<sub>3</sub> : poids du creuset + poids de l'échantillon après.

### II.4. Indices physico-chimiques de l' huiles essentielle

#### II.4.1 Indices de réfraction

Le réfractomètre est un instrument optique servant à déterminer l'indice de réfraction d'une substance c'est-à-dire la mesure dans laquelle la lumière est déviée en traversant la substance. Il existe plusieurs types de réfractomètre et le plus répandu c'est le réfractomètre d'Abbe.



*Figure .3. Réfractomètre pour mesurer les indices de réfraction*

### II.4.2.pH

pH ( potentiel d'hydrogène), mesure l'activité chimique des ions hydrogènes ( $H^+$ ) (appelés aussi couramment protons) en solution.

Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre : elle est acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7, basique s'il est supérieur à 7.



*Figure.4. pH mètre*

### II.4.3. La densité relative

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20°C à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C. A l'aide d'un pycnomètre de capacité de 5 ml, on pèse successivement des volumes égaux d'huile essentielle et d'eau distillée à la température ambiante (20°C)

La densité relative est donnée par la formule :

$$d = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

**Avec :**

$m_0$  : est la masse en gramme du pycnomètre vide.

## Chapitre II

---

$m_1$  : est la masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau distillée.

$m_2$  : est la masse en gramme du pycnomètre rempli d'huile essentielle.

### II.4.4. L'indice d'acide

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huiles essentielles. Les acides libres sont neutralisés par une solution d'éthanol titrée de KOH, c'est-à-dire la mesure d'indice acide est réalisée par titrage.

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.

#### ❖ *Mode opératoire*

-Préparer une solution de KOH de 0.05N.

-dissolve dans un bicher 1g de l'HE avec 5ml de l'éthanol (96%),

-après la dissolution ajouter quelque goutte de Phénolphtaléine et titrer avec le KOH jusqu'au virage de la couleur au rose.

-noter le volume de KOH consommé.

-préparer un essai à blanc sans le corps gras (HE) [50].

L'indice d'acide est déterminé par la relation suivante :

$$IA = (56.11 (N \cdot V)) / m$$

Avec:

N: la normalité de KOH.

V : volume de KOH utilisé pour le titrage.

m : la masse de l'huile essentielle.

### II.4.5. L'indice d'ester

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'HE.

#### ❖ *Mode opératoire*

Le mélange obtenu lors de l'indice est chauffé avec 25 ml de potasse pendant une heure. Après la couleur de la solution au jaune.

En parallèle on a effectué un essai à blanc dans des même conditions mais sans le corps gras.

## Chapitre II

---

L'indice d'ester est déterminé par la relation suivante :

$$IE=28.05 (V_0-V_1/m)-IA$$

**Avec :**

$V_0$  : volume en ml de la solution d'acide chloridrique utilisée pour l'essai à blanc.

$V_1$  : volume en ml de la solution d'acide chloridrique utilisée pour la détermination de l'indice d'ester.

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

$IA$  : la valeur d'indice d'acide déterminée.

### II.5.Calcul du rendement

$$R= M_f /M_i*100$$

$R$  : le rendement de notre huile

$M_f$  : la masse finale de notre extrait après 3 heures

$M_i$  : la masse initial de la matière fraîche

### II.6. Activité antibactérienne

#### II.6.1. Souches bactériennes

Les souches bactériennes ayant fait l'objet de cette étude ont été isolées des patients de l'hôpital Mohamed Boudiaf de Bouira ce sont : *Pseudomonas*, *Escherichia coli* et *Staphylocoques*.

#### II.6.2 Milieux de Culture des Micro-organismes

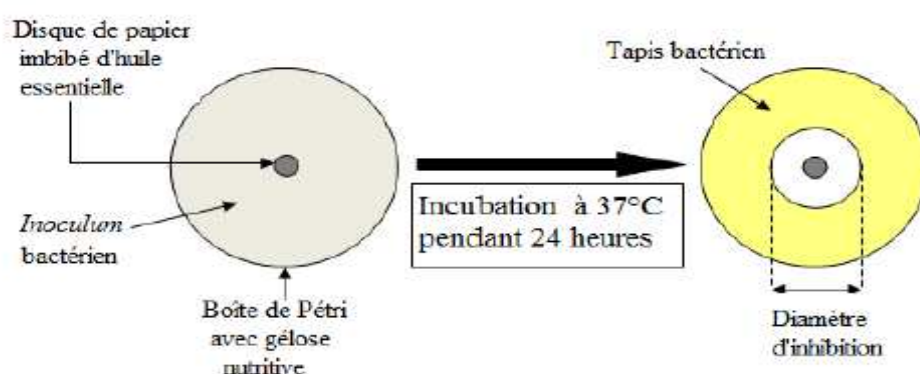
La gélose et le bouillon Mueller Hinton ont constitué les principaux milieux de culture utilisés. A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement (ayant au maximum 24h), racler à l'aide d'une pipette pasteur scellée, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, décharger la pipette pasteur dans d'eau physiologique stérile, bien

## Chapitre II

homogénéiser la suspension bactérienne. L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

Les disques sont fabriqués à partir de papier filtre stérile, avec un diamètre de 6 mm. Les géloses Muller – Hinton sont ensemencées, les disques imbibés d'huile de *limonène* sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.

Pendant 18 à 24 heures à 37°C, pour toutes les boîtes, Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en mesurant le diamètre de zones d'inhibition qui traduit l'activité antibactérienne de l'huile essentielle est ainsi déterminé



**Figure 5 : Principe de la méthode de diffusion par disque**

### II.7. Technique de caractérisation

#### II.7.1.Spectroscopie UV-visible

C'est la plus ancienne des spectroscopies d'absorption utilisées par le chimiste. Le domaine des UV s'étend en principe de  $\lambda = 10$  nm à  $\lambda = 400$  nm et le domaine de la lumière visible de  $\lambda = 400$  nm à  $\lambda = 800$  nm. Cependant, on se limite en général à  $\lambda > 200$  nm en raison de l'opacité de l'air pour les longueurs d'onde inférieures à 190 nm.

Pour enregistrer le spectre UV visible d'une substance, on prépare une solution diluée de concentration définie que l'on introduit dans une cuve en verre ou en quartz. Le solvant doit être transparent dans la zone de longueurs d'onde choisie. Sa nature doit être relevée, car elle peut avoir une influence sur les caractéristiques du spectre.

Dans le spectrophotomètre, l'échantillon est traversé par un faisceau lumineux et un détecteur mesure, pour chaque longueur d'onde, l'intensité avant et après absorption ( $I_0$  et  $I$ ).

Le spectre UV visible est constitué par le courbe  $\log ( I / I_0 ) = f(\lambda)$ ,  $\lambda$  étant exprimé en nm. Il se présente sous la forme de larges bandes que l'on caractérise par leurs longueurs d'onde au maximum d'absorption ( $\lambda_{\max}$ ) et leurs coefficients d'absorbance ( $\epsilon$ ).

## Chapitre II

C'est une spectroscopie quantitative, qui est régie par la loi de Beer-Lambert si la solution est suffisamment diluée :

$$\text{Log } I/I_0 = A = \epsilon l c$$

A: absorbance

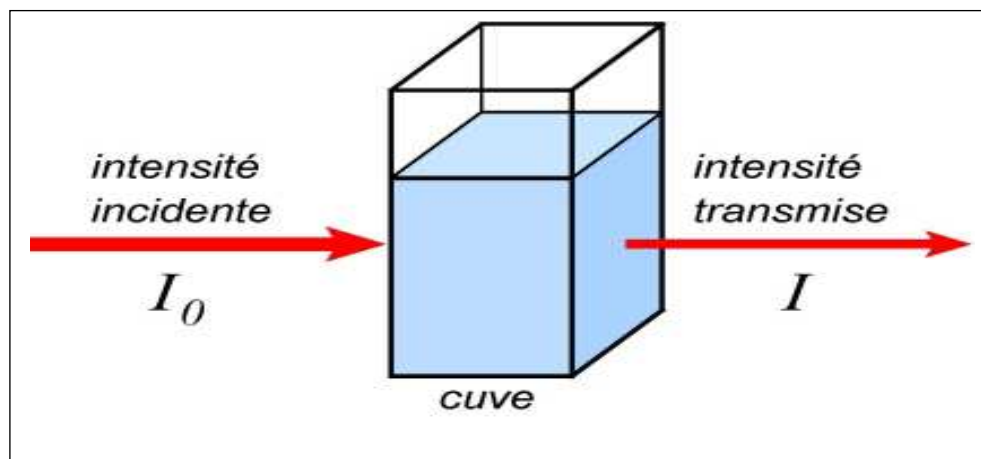
$\epsilon$  : coefficient d'absorbance ( $\text{mol}^{-1} \text{l.cm}^{-1}$ )

l : longueurs de la cuve en cm

C: concentration de la solution en  $\text{mol.l}^{-1}$

Pour les composés organiques, l'absorption des radiations UV visible correspond à une transition électronique entre une orbitale de basse énergie et une de plus haute énergie pour des électrons ( $\pi - \pi^*$ ) ou les paires non liantes des hétéro atomes (transitions  $n - \sigma^*$  ou  $n - \pi^*$ ).

Les bandes d'absorption observées sont en général très larges en raison de la présence de nombreux niveaux vibrationnels et rotationnels tant aux niveaux fondamental qu'à l'état excité .



**Figure 6 : Principe de la loi d'absorptiomètre**

Le spectre UV-visible a été enregistré dans le DMSO à température ambiante à l'aide d'un appareil spectrophotomètre UV-Visible, à double faisceau «**Unicam**

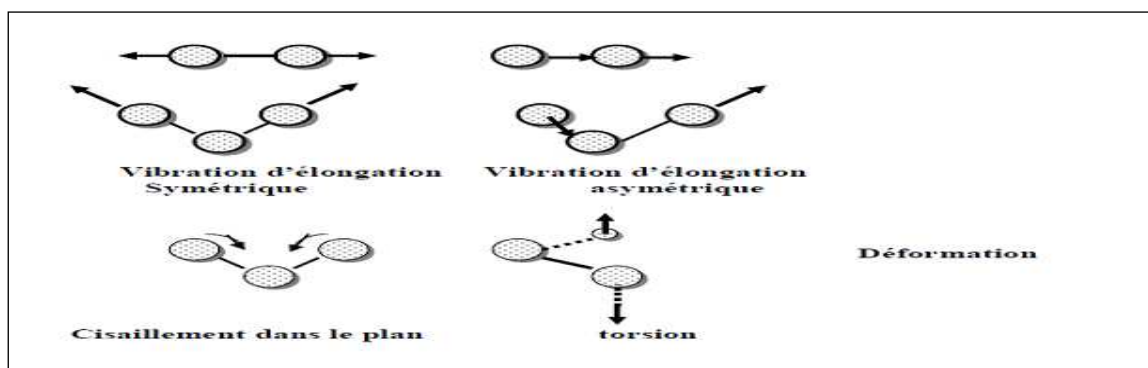
**UV 300** » relié à un micro ordinateur version vision 32 qui donne directement les densités optiques (DO)



*Figure 7 : Spectromètre UV- visible Unicam UV 300*

### II.7.2. La spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Cette spectroscopie est utilisée de manière routinière en laboratoire de chimie depuis 1950. C'est une technique d'analyse utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels de produit synthétisé. Le domaine de fréquence le plus couramment utilisé s'étend de  $4000$  à  $400\text{ cm}^{-1}$  et correspond à des transitions entre niveaux vibrationnels. Ces vibrations peuvent être des vibrations d'élongation ou de déformation (figure 8) et seules celles entraînant une variation du moment dipolaire de la molécule sont actives pour cette spectroscopie .

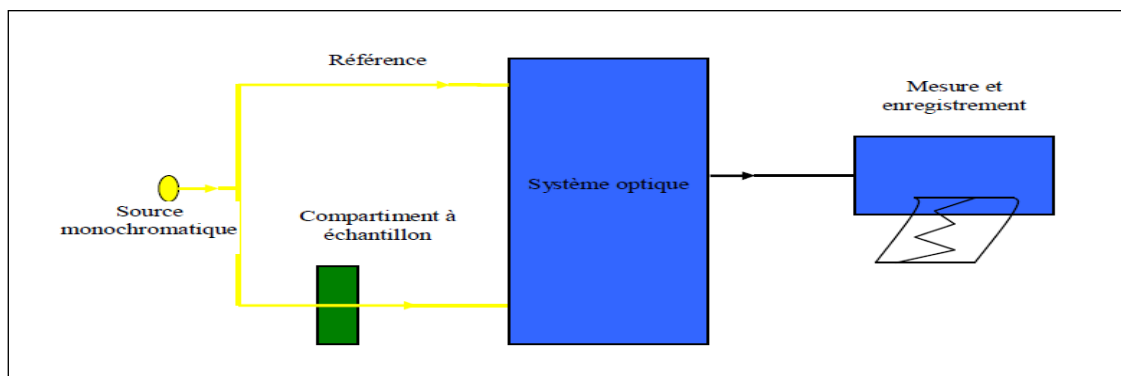


*Figure 8 : Les types de vibration*



## Chapitre II

Le spectrophotomètre IR dispose d'une source de rayonnements infrarouge, d'un réseau et d'un système permettant de diviser le faisceau en deux : l'un servant de référence, l'autre utilisé pour la substance étudiée, et enfin d'un photomètre transformant l'énergie reçue en énergie électrique. Le photomètre est couplé à un enregistreur.



*Figure 9 : Principe d'un spectrophotomètre IR à double faisceau*

Le spectres FTIR de l'huile essentielle a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre **PERKIN-ELMER de type spectrum 1000**) dont un domaine allant de 400 à 4000  $\text{cm}^{-1}$



*Figure 10 : Spectromètre Infrarouge à transformée de Fourier FTIR- Perkin-Elmer 1000*

### II.7.3. Caractérisation par chromatographie en phase gazeuse couplée par la spectroscopie de masse (CG/MS)

## Chapitre II

---

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse (CG-MS) est une technique d'analyse qui possède plusieurs atouts : le chromatogramme en phase gazeuse permet de séparer les constituants d'un mélange. Le spectromètre de masse associé permet d'obtenir le spectre de masse de chacun des constituants et bien souvent de les identifier.

La chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse possèdent des limites de sensibilité voisines. Leur association permet de disposer d'un outil analytique très performant. L'identification de produits est réalisable pour des quantités de l'ordre du nano gramme, la détection par fragmentométrie est possible jusqu'aux pictogrammes.

Il réclame peu d'échantillon, la quantité injectée est de l'ordre du microlitre. Il est rapide, le temps d'acquisition du spectre est identique à celui de l'analyse chromatographique.

Deux modes sont disponibles :

\* Le mode SCAN : on réalise un balayage sur une gamme de masse prédéterminée. Il est à noter que plus on réalise un balayage de masse sur une gamme large, moins on sera sensible.

\* Le mode SIM (Single Ion Monitoring) : on choisit d'analyser de 2 à 3 masse jusqu'à 20 masses. Dans ces conditions, on aura plus de chances de détecter le sommet d'un pic.

Pour réaliser notre spectre, nous avons utilisé le mode SCAN.

### ***Conditions analytiques :***

#### **❖ Equipement:**

Chromatographe : HP Agilent 2890

#### **❖ Injecteur :**

Température : 250°C

Mode d'injection : Split 80:1

Volume injecté : 0.2 µl

#### **❖ Colonne:**

Type : HP-5MS

Dimensions : long 30 m \* D int 0.25 mm \* épaisseur fi. lm 0.25 µm

Phase stationnaire : 5% Phenyl 95% diméthylpolysiloxane. (Autre Spécifier)

#### **❖ Température du four :**

60°C pendant 3 min, 2°C/min jusqu'à 240°C.

, isotherme pendant 5 min.

Durée d'analyse : 98 min

Gaz vecteur : Hélium pureté : N 6

Débit GV: 0.5 mL/min

❖ **Détecteur de masse :**

Mode d'analyse : Scan TIC (de 30 à 550)

Délai du solvant : 4 min

Température de l'interface : 300 °C

Type d'ionisation : Impact électronique

Intensité du filament : 70 év

Type de l'analyseur de masse : Quadripôles

Température de la source : 230 °C



**Figure 11 :** Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse de type **GC 6890/ 5973 MSD Agilent**

## Chapitre III

### III.1. Extraction de L'huile essentielle par hydrodistillation

L'huile essentielle des écorces d'oranges récoltées dans la région de Boufarique (Blida) a été extraite par hydrodistillation et caractérisée par différentes méthodes d'analyses physico-chimiques (spectroscopie UV-visible, spectrométrie infrarouge et chromatographie en phase gazeuse couplée par la spectroscopie de masse (CG/MS). Le rendement de l'huile essentielle est équivalent à 3,4 %

### III.2. Caractérisation d'écorces d'oranges

Les analyses de la plante fraîche d'écorce d'orange réalisées dans le cadre de ce travail sont basées sur la détermination du taux d'humidité, du taux de la matière sèche et la teneur en minéraux,

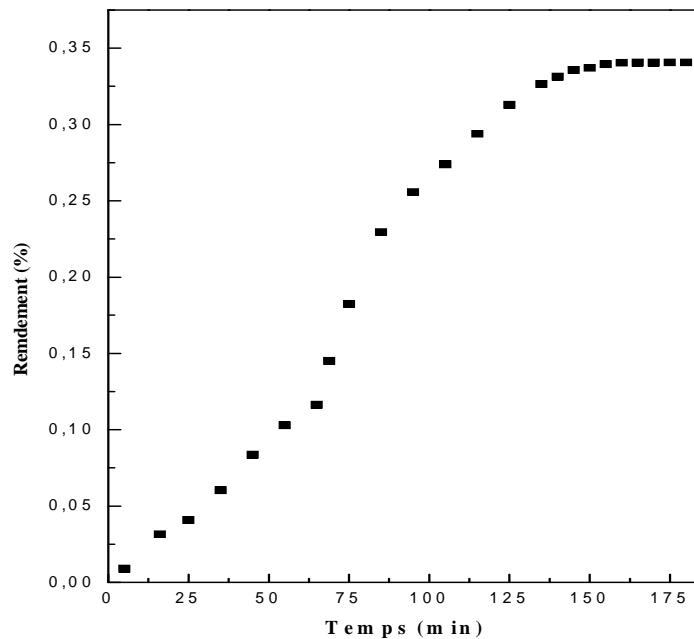
**Tableau.1.** Propriétés physicochimique de la plante fraîche d'écorce d'orange.

Le taux d'humidité	81.58 %
Le taux des minimaux(les cendres)	0.013 %
La matière sèche	18.52 %

Le tableau.1 montre que les écorces d'orange ont un taux d'humidité de 81.58%, une valeur de matière sèche de 18.52% et la teneur en minéraux est de 0.013%.

### III.3. Evolution du rendement de l'huile essentielle en fonction du temps (étude de la cinétique)

La cinétique d'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation a été effectuée à différents temps pendant 3 heures. La détermination de l'évolution du rendement de l'huile essentielle en fonction du temps est illustrée dans la figure 1.



**Figure 1 : Evolution du rendement en huile essentielle en fonction du temps  
(plante fraîche)**

En se basant sur la figure 1, il est constaté que l'allure de la courbe est croissante et qu'elle tend vers un palier au bout de 145 minutes avec un rendement égal à 3,4 %

### **III.4. Caractérisation de l'huile essentielle**

#### **III.4.1. Caractéristiques organoleptiques**

L'étude de caractère organoleptique de l'huile essentielle est fondée sur son odeur, son aspect et sa couleur.

L'huile essentielle d'écorces d'oranges à un aspect liquide transparent, avec une odeur agréablement parfumée de limonène.

#### **III.4.2. Indices physico-chimiques**

Les indices physico-chimiques sont des caractères essentiels pour contrôler la qualité des huiles essentielles. Ces indices sont : indice de réfraction, indice d'ester, pH, densité relative et indice d'acide. Le tableau ci-dessous représente les résultats obtenus.

## Chapitre III

Indice de réfraction	1.4706
Densité relative	0.8038
Indice d'acide	5
Indice d'ester	9.058
pH	5.57

**Tableau.2.** Indices physico-chimiques de l'huile essentielle

D'après le tableau 2. On remarque que l'huile essentielle a une densité inférieure à « 1 », elle n'est pas soluble dans l'eau mais en revanche elle l'est dans les solvants organiques et huiles végétales. Elle a un indice de réfraction à l'ordre de 1.4706, l'indice d'acide déterminé montre peu d'acides libres dans les écorces d'oranges dont l'huile essentielle ne renferme pas assez de composés saturés. Quand au pH, sa valeur est légèrement acide qui permet de neutraliser les microorganismes.

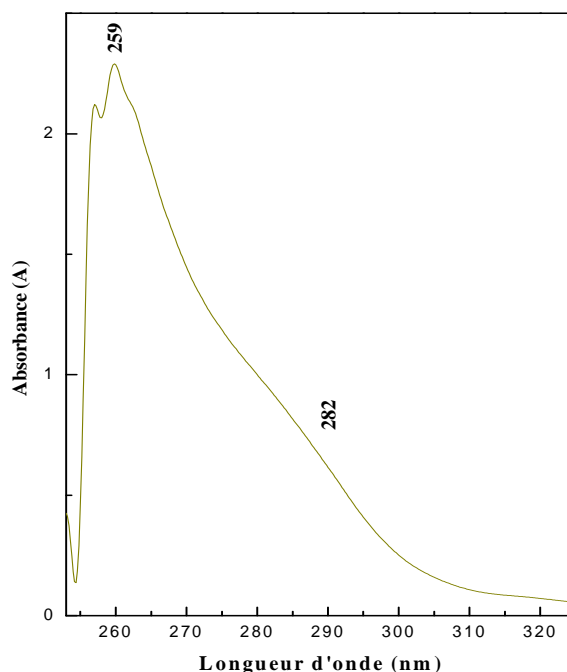
L'huile extraite est caractérisée par un indice d'ester faible ce qui permet une longue durée de conservation.

La détermination des propriétés physicochimique est une étape nécessaire mais non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Il est donc nécessaire de la compléter par des analyses chromatographiques CG/SM, spectroscopie infrarouge et UV-visible.

### **III.4.3. Caractérisation par spectroscopie UV- visible**

La figure.2, montre le spectre UV – visible de l'huile essentielle. L'analyse a été réalisée dans un solvant organique le diméthyl sulfoxyde (DMSO) dans un domaine entre 254-325nm.

On remarque que le spectre d'absorption est caractérisé par une bande d'absorption intense à 259 nm et un épaulement aux alentours de 282 nm attribués à la transition électronique  $\pi-\pi^*$  met en jeu l'excitation d'un électron d'une orbitale  $\pi$  (HOMO) à une autre orbitale d'énergie plus élevée  $\pi^*$  (LUMO) [44,45].



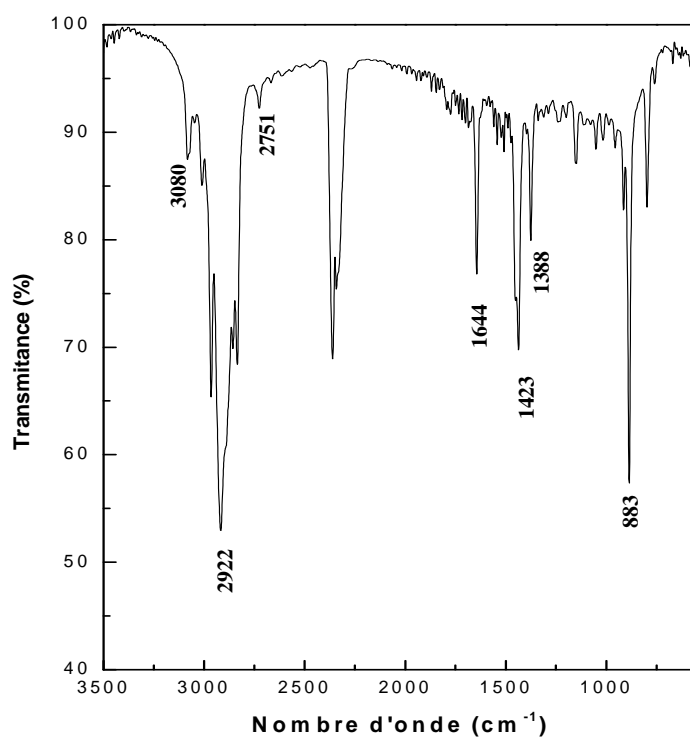
*Figure.2. Spectres UV- visible d'huile essentielle dans une solution de DMSO*

### III.4.4. Caractérisation par spectroscopie infrarouge(FTIR )

D'après la figure.3. Les principales bandes d'absorption IR caractéristiques de l'huile essentielle sont :

La bande d'absorption à  $3080\text{ cm}^{-1}$  est attribuée aux vibrations d'élongation des liaisons C-H des alcènes

- ❖ Les bandes d'absorption à  $2922\text{ cm}^{-1}$  et à  $2751\text{ cm}^{-1}$  sont attribuées aux vibrations d'élongation des liaisons C-H des aldéhydes .
- ❖ La bande d'absorption à  $1644\text{ cm}^{-1}$  est attribuée aux vibrations d'élongation de la liaison C=C.
- ❖ La bande d'absorption à  $1423\text{ cm}^{-1}$  est attribuée aux vibrations de déformation de la liaison  $\text{CH}_2$ .
- ❖ La bande d'absorption à  $1388\text{ cm}^{-1}$  est attribuée aux vibrations de déformation de la liaison  $\text{CH}_3$
- ❖ La bande d'absorption à  $883\text{ cm}^{-1}$  est attribuées aux vibrations de la liaison C-H .



*Figure .3.* Spectre IR d'huile essentielle

### III.4.5. Caractérisation par CG/MS

Les résultats des analyses par CG/SM de l'huile essentielle extraite des écorces des oranges de Boufarique sont présentés dans le Tableau 1. Sept composés sont identifiés avec comme constituant majoritaire le limonène (97.1391%) en plus, le beta myrcène (1.5279 %), le alfa pinène (0.3782 %) , le linalool (0.3309 %), le sabinène (0.3184%) ,le decanal (0.1637%) et l' octanal (0.1438%).



## Chapitre III

**Tableau.3** Composition chimique de l'huile essentielle

Composants	Le temps de rétention	Quantité en %
Alfa pinène	9.2811	0.3762
Sabinène	11.6532	0.3184
Beta myrcène	12.8599	1.5279
Octanal	13.6780	0.1438
Limonène	15.9207	97.1391
Linalool	20.6708	0.3309
Décanal	28.0578	0.1637

### III.5.L'activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode des disques par diffusion sur milieu solide (méthode des disques ou aromatoگرامme) basée sur le principe de l'antibiogramme. La suspension bactérienne estensemencée en surface par écouvillonnage sur milieu gélosé (Mueller-Hinton) dans une boîte de Pétri. Le contact avec les solutions à tester se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier (6 mm de diamètre) sur lequel 10 mL de solution (huile essentielle à différentes dilutions, 1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32. Un disque contenant du DMSO est utilisé comme blanc. Chaque test est réalisé en triplé. L'activité est considérée nulle pour un diamètre d'inhibition (d.i.) inférieur ou égale à 8 mm ; faible pour d.i. compris entre 8 et 14 mm, moyenne pour d.i. compris entre 14 et 20 mm ; forte pour d.i. supérieur ou égal à 20 mm.

Les souches de bactéries Gram + (*Staphylococcus*) et Gram- (*Escherichia coli* et *Pseudomonas*) ont été testées en présence de l'huile essentielle et le DMSO.

Comme les images le montrent sur les Figures 4 les bactéries se sont parfaitement développées sur la gélose nutritive. Il est possible de constater que le DMSO n'a aucun caractère antibactérien.

Pour ce qui est de l'huile essentielle solubilisé dans le DMSO (Figure 5), il y a eu un développement de bactérie Gram + (*Staphylococcus*) et Gram- (*Escherichia coli*) sur la zone en contact avec huile extraite. D'après la figure 3, les résultats qualitatifs démontrent

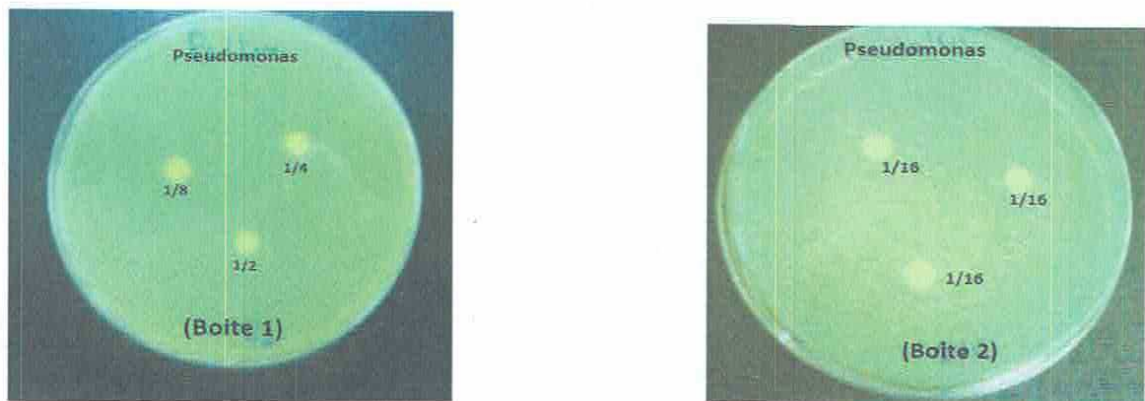
## Chapitre III

zone en contact avec huile extraite. D'après la figure 3, les résultats qualitatifs démontrent bien l'effet antimicrobien que confèrent l'huile essentielle envers les bactéries notamment Pseudomonas Gram-



**Figure 4 :** Tests antibactériens en présence de DMSO

A) avec *Staphylococcus* B) avec *Pseudomonas* C) avec *Escherichia coli*



**Figure .5:** Tests antibactériens en présence de différentes dilutions de l'huile essentielle avec *Pseudomonas*

## Chapitre III

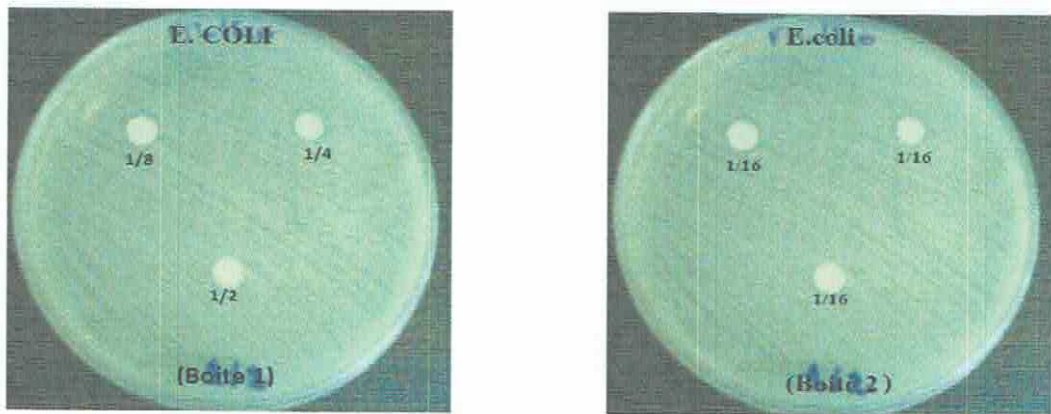


Figure .6 : Tests antibactériens en présence de différentes dilutions de l'huile essentielle avec *Escherichia coli*.

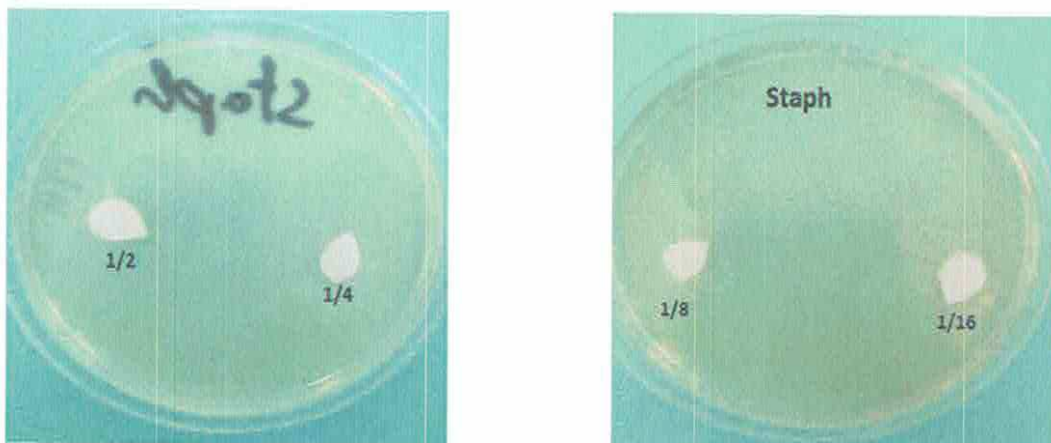


Figure .7 : Tests antibactériens en présence de différentes dilutions de l'huile essentielle avec *Staphylococcus*

Tableau.4: Diamètre de zone d'inhibition en mm en présence de l'huile essentielle.

Les bactéries testées	l'huile essentielle	diamètre d'inhibition
<i>Escherichia coli</i>	+	0 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	2 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	Toute la surface

(-) : inhibition, (+) : croissance bactérienne

L'huile essentielle montre une activité antibactérienne intéressante sur la souche de *Staphylococcus aureus*.

## ***Conclusion***

---

### **Conclusion**

Le présent travail est consacré à la détermination du rendement, de la composition Chimique, les propriétés physicochimiques et les propriétés antibactérienne de l'huile essentielle extraite des écorces d'oranges récoltées dans la région de Boufarique (Blida) Le rendement moyen en huile essentielle est 3,4% par rapport à la matière fraîche.

Sept composés ont été identifiés par chromatographie en phase gazeuse couplée par la spectroscopie de masse (CG/MS), comme constituant majoritaire le limonène (97.1391%) en plus, le beta myrcène (1.5279 %) , le alfa pinène (0.3782 %) , le linalool (0.3309 %), le sabinène (0.3184%) ,le decanal (0.1637%) et l' octanal (0.1438%).

Les résultats obtenus, dans cette étude, montrent que l'huile essentielle présente une activité inhibitrice très importante vis-à-vis de *Staphylococcus*. Cette activité est liée à la présence de limonène dans la composition chimique.

Pour ce qui est des perspectives, on suggère une étude sur les propriétés antifongiques de l'huile essentielle et son application comme agent de phytomédecation et de conservation des aliments.

## Référence bibliographique

---

- [1] **Merouane Abdelaziz** ; 2013 ; caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydant des huiles essentielles de trois espèces de sauges (*Salvia algeriensis*, *Salvia nargentea* et *Salvia barrelieri*) ; mémoire de magister ; Université Hassiba Ben Bouali-Chlef.
- [2] **Chouitah Ourida** ; 2013-2014 ; Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra* ; Thèse de doctorat ; Université d'Oran.
- [3] **Chemloul feyza** ; 2013-2014 ; Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielles de *Lavandula officinalis* de la région de Tlemcen ; mémoire de master ; université Abu Bakr Belkaid Tlemcen-Alger.
- [4] **Laghouiter Oum keltoum** ; 2011 ; Etude des activités biologiques des huiles essentielles des feuilles menthe de la région de Ghardaïa ; mémoire de Magister ; université d'Oran.
- [5] **Khireddine Hamadi** ; 2012 ; Comprimés de poudre de dattes comme support universel des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie ; Mémoire de Magister ; Université M'hamed Bougara-Boumerdes.
- [6] **Aribi Ibtissem** ; 2012 ; Etude ethnobotanique de plantes médicinales de la région de Jijel : Etude anatomique, phytochimique, et recherche d'activités biologiques de deux espèces ; mémoire de magister ; université des sciences et de la technologie-Houari Boumediene.
- [7] **Abdelli Meriem née Brahim** ; 2010 ; extraction des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L.
- [8] **Megteli Sarah** ; 2009 ; extraction et analyse des huiles essentielles par le procédé de chauffage par induction électromagnétique (cas de : *Ruta chalepensis* L et *Cuminum cyminum* L) ; Mémoire de Magister ; Université d'Oran Es\_Sénia.
- [9] **Bebouali zossoungbo** ; 2013 ; Etude de l'effet synergique des huiles essentielles sur l'activité antibiotique d'un aminoglycoside : la streptomycine ; mémoire de master ; Université Sidi Mohammed Ben Abdellah- fés.
- [10] **Saihi Razika** ; 2011 ; Etude phytochimique, extraction des produits actifs de la plante *Artemisia campestris* de la région de Djelfa. Mise en évidence de l'activité biologique ; mémoire de Magister ; Université d'Oran.
- [11] **Gilles Figuerdo** ; 2007 ; Etude chimique et statique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivées issues de graines d'origine méditerranéenne ; thèse de doctorat ; Université Blaise Pascal.
- [12] **Hamidi Abdelrazag** ; 2001 ; Toxicité des huiles essentielles ; thèse de doctorat ; Ecole nationale vétérinaire- Toulouse.
- [13] **Abderrahim Benkaddouri** ; 2011 ; Etude des huiles essentielles de *Opuntia ficus-indica* région de Mascara ; mémoire de Magister ; Université d'Oran.

## *Référence bibliographique*

---

- [14] **Bezzaz Nouredine** ; 2014 ; Détermination structurale des métabolites secondaires ; et extraction des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* ; mémoire de magister ; Université de M'sila.
- [15] **Marienne piochon**; 2008; Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse ; Université du Québec à Chicoutimi- canada.
- [16] **Khadija Rhayour**; 2002; Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*, thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah-fès.
- [17] **Bouchikhi tani Zohir** ; 2011 ; lutte contre la buche du haricot *acaanthoscelides obtectus* (coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera , Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles ; Thèse de doctorat ; Université Abou bakr belkaid-Tlemcen.
- [18] **Nabil Bousbia** ; 2011 ; Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires ; thèse de Doctorat en Sciences de L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique.
- [19] **Jean-Yves Chabrier** ; 2010 ; Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie ; Thèse de doctorat ; Université Henri Poincaré – Nancy 1- France.
- [20] **Hellal Zohra** ; 2010 ; Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et anti-oxydantes de certaines huiles essentielles extraites de citrus. Application sur la sardine (*sardina pilchardus*) ; mémoire de Magister ; Université Mouloud Mammeri-Tizi-Ouzou.
- [21] **Gayda Arnaud** ; 2013 ; Etude des principales huiles essentielles utilisées en rhumatologie ; mémoire de doctorat ; Université Toulouse III Paule Sabatier.
- [22] **Khadîdja Lahrech** ; 2010 ; Extraction en analyse des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. et de *Saccocalyx satureioide*. Tests d'activités antibactérienne et antifongique ; mémoire de Magister ; Université d'Oran Es-Sénia.
- [23] **AYAIDIA Boutheina** ; 2011 ; Etude comparative de trois variétés d'huiles essentielles de menthe dans la région de Ouargla ; du diplôme de Master en Génie des Procédés ; Université Kasdi Marbah Ouargla.
- [24] **Chaker El Kalamouni** ;2010 ; Caractérisations chimiques et biologiques d'extrait de plante aromatique oublier de Midi-Pyrénées ; thèse de doctorat ; l'Institut National Polytechnique –Toulouse .

## Référence bibliographique

---

- [25] **Denis Bégin Michel Gérin**; juin 1999 ; Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, Paris.
- [26] **Lamamra Mebarka** ; 2010 ; Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. Et de *Filipendula hexapetala* Gibb ; Diplôme de Magister de la Spécialité Biologie et Physiologie Végétale ; Université Ferhat Abbas- Sétif.
- [27] **Bouwmeester H.J., Gershenzon J., Konings M.C.J.M., Croteau R.** ; *Plant Physiol.*, 1998, 117, 901 –
- [28] **Bartels P.V., Chemat S., Lagha A., AitAmar H., Chemat F.** ; *Flavour and Fragrance Journal*, 2004, 19, 188.
- [29] **Palleros D.R.**; *Experimental Organic Chemistry*, 2000, **John Wiley & Sons**.
- [30] **Burdock G.A.**, *Fumaroles' Handbook of Flavour Ingredients*, journal, 1995, CRC Press.
- [31] **Crowell P.L., Gould M.N.**; *Crit. Rev. Oncog.*, 1994, 5,
- [32] **Gelb M.H., Tamanoi F., Yokoyama K., Ghomashchi F., Esson K., Gould M.N.** ; *Cancer Letters*, 1995, 91, 169
- [33] **Cestac P., Doisneau-Sixou S., Favre G.** ; *Ann. Pharm. Fr.*, 2005, 63, 76
- [34] **Vigushin D.M., Poon G.K., Boddy A., English J., Halbert G.W., Pagonis C., Jarman M., Coombes R.C.** ; *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1998.
- [35] **Gillij Y.G., Gleiser R.M., Zygadlo J.A.**; Mosquito repellent activity of essentials oils of aromatic plan., *Bioresour. Technol.*, 2007,
- [36] **Brevet Penetone Corporation.** 1983, 4,511,488,
- [37] **Byrne C.M., Allen S.D., Lobkovsky E.B., Coates G.W.** ; *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, 11404
- [38] **Lu Q, Yang L, Zhao HY**, et al ; ;Protective effect of compounds from the flowers of *Citrus aurantium* L. Against carbon tetrachloride-induced hepatocyte injury. *Food Chem Toxicol* 2013 ; 62:432–5.
- [39] **Khodabakhsh P, Shafaroodi H, Asgarpanah J**; Analgesic and anti-inflammatory activities of *Citrus aurantium* L. blossoms essential oil (Neroli): involvement of the nitric oxide/cyclicguanosine monophosphate pathway. *J Nat Med* 2015; 69:324–31.
- [40] **Azanchi T, Shafaroodi H, Asgarpanah J**; Anticonvulsant activity of *Citrus aurantium* blossom essential oil (Neroli): involvement of the system. 2014 , ;9(11):1615–8.
- [41] **Dugo GA, Verzera A, Cotroneo IS** ; Automated HPLCHRGC: A powerful method for essential oil analysis. Part II. Determination of the enantiomeric distribution of linalol in sweet orange, bitter orange and mandarin essential oils. *Flavour Fragr* 1994: 99–104

## *Référence bibliographique*

---

- [42] **Bonaccorsi I, Sciarrone D, Schipilliti L, ;** Composition of Egyptian neroli oil. *Nat Prod Commun* 6(7): 2011 , 1009–14.
- [43] **Hsouna, AB, Hamdi, N, Halima, NB, ;** Characterization of essential oil from *Citrus aurantium* L. flowers: Antimicrobial and antioxidant activities. *J Oleo Sci* **1**; 2013; 62 (10):763–72.
- [44] **X. Zhang, J. Zhang, W. Song, Z. Liu.** *J. Phys. Chem. B*; 2006; 110 : 1158.
- [45] **J.M. Ribo, M.C. Anglada, J.M. Tura, N.F. Anglada.** *Synth. Met.* 1995; 72 : 173.



## Abstract

The yield, chemical composition and antimicrobial properties of the essential oil extracted by steam distillation werestudied.

The essential oils yield average is 3.4 %. Seven components were identified by GC/MS ; ; limonène (97.1391%) , beta myrcène (1.5279 %) , alfa pinène (0.3782 %) , linalool (0.3309 %) , sabinène (0.3184%) ,le decanal (0.1637%) and octanal (0.1438%). A strong inhibited activity against *Staphylococcus* is obtained.

**Key words:** essential oil, limonene, GC/MS, antimicrobial activity.

## Résumé

Le rendement, la composition chimique et les propriétés antibactériennes de l'huile essentielle extraite extraite par hydrodistillation ont été étudiés.

La teneur moyenne en huile essentielle est 3.4 % par rapport à la matière fraîche. Sept composés ont été identifiés par GC/MS ; le limonène (97.1391%) , le beta myrcène (1.5279 %) , le alfa pinène (0.3782 %) , le linalool (0.3309 %) , le sabinène (0.3184%) ,le decanal (0.1637%) et l' octanal (0.1438%). Une forte activité inhibitrice vis-à-vis de *Staphylococcus* utilisée a été enregistrée.

**Mots clés :** Huile essentielle, CG/MS, Activité antimicrobienne. limonène

## المخلص

المردود التركيب الكمياني و الخصائص ضد بكتيرية للزيت الأساسي المستخلص بطريقة التكريب على البخار المتروس، المردود المتوسط للزيت الأساسي 3.4% بالنسبة للمادة الطازجة سبع تراكيب متواجدة عند تحليلها ب CG-SM حيث Limonène يسجل 97.1391% . Beta myrcène 1.5279% . Alfa pinène 0.3782% . Linalool 0.3309% . Sabinène 0.3184% . decanal 0.1637% نشاط ضد بكتيري قوي staphylococcus المستعمل والمسجل .

كلمات المفتاح = الزيت الأساسي , limonène , CG-SM , النشاط ضد بكتيري.