



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشاذلي بن جديد - الطارف

Université Chadli Bendjedid – El Tarf

كلية العلوم و التكنولوجيا

Faculté des Sciences et de la Technologie

قسم الكيمياء

Département de Chimie

PROJET DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de master

Domaine : science de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Analytique

Thème

**Etude des propriétés physico-chimiques et
évaluation
de l'activité antioxydant (FRAP) des feuilles de
plant médicinal citron**

Soutenu le : 26/06/2023

Présenté par:

M^{lle} : Kherici Amel Anfel

Devant le jury composé de :

Présidente : SELAIMIA Ouassila	MCB	Université El-Tarf
Encadrante : ZERNIZ Nawal	MCB	Université El-Tarf
Examinatrice : TOUDERT Nadia	MCB	Université El-Tarf

Année Universitaire: 2022-2023



Remerciement

Avant tout je remercie Allah qui m'a donné la force et la volonté pour réaliser ce travail de recherche scientifique.

*Je remercie infiniment mon encadreur **Dr Zerniz Nawal** pour son aide et assistance précieuse, ses conseils et ses encouragements pendant la réalisation de ce mémoire.*

*Je tiens à témoigner ma reconnaissance à **SELAIMIA OUASSILA** pour avoir accepté de présider mon jury du projet de fin d'étude.*

*Je remercie **TOUDERT NADIA** d'avoir accepté d'examiner mon travail du projet de fin d'étude.
Je tiens à remercier également les enseignants du département.*

*Je tiens à remercier très sincèrement tous le personnel de laboratoire pédagogique (chimie) Université Chadli Bendjedid EL TARF et laboratoire de chimie de l'université Chadli Benjedid El-tarf (SNV). Particulièrement **Kherici soufiane** qui m'a apporté ses expériences pour me guider et me conseiller tout au Long de cette étude.*

Finalement, je remercie également tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce modeste travail



Dédicace

Je dédie ce travail

A ceux que dieux ma donnée de plus chère

*A mes parents, qui m'ont beaucoup aidé avec leurs précieux
Conseils et leurs soutien moral toute au long de mes études*

*A mes chères frères : Moncef, Abed EL Rahman à qui je souhaite une
vie pleine de bonheur, de santé et de réussite*

*A ma précieuse sœur Maroua, les mots ne peuvent résumer ma
reconnaissance et mon amour à ton égard.*

*A tous mes amis avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie
et de bonheur ; Que toute personne m'ayant aidé de
Près ou de loin*



Résumé

Résumé

Cette étude visait à évaluer les propriétés physico-chimiques ainsi que l'activité antioxydant des feuilles la plante médicinale qu'est le citron (*Citrus limon*).

Une analyse préliminaire de la composition chimique des feuilles de citron a révélé la présence de divers composés tels que les saponosides, les flavonoïdes, les tannins, les cardénolides, les huiles volatiles, les stérols et les quinones. Cela met en évidence la richesse en composés bioactifs présents dans cette plante.

En ce qui concerne l'huile essentielle des feuilles du citron, les résultats ont révélé des paramètres satisfaisants, tels qu'un faible indice d'acidité de 0,84 mg KOH/g d'huile, un indice de peroxyde de 9 meq O/kg, un indice d'iode de 79,947 g I/100g d'huile, un indice de saponification de 78,554 mg KOH/g d'huile, un indice de réfraction de 1,473, un indice d'estérification de 77,71 mg KOH/g d'huile et un pH de 6. Ces paramètres témoignent de la qualité exceptionnelle de l'huile de citron.

De plus, l'évaluation de l'activité antioxydant des feuilles du citron par la méthode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) a révélé des résultats encourageants, démontrant ainsi la capacité de l'huile de citron à neutraliser les radicaux libres et à agir comme un agent antioxydant

Mots clés: citron, citrus limon , screening physico-chimiques, indice d'acidité (Ia), d'iode (Io), de saponification (Is) et de peroxyde (Ip),FRAP

ملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم الخواص الفيزيوكيميائية بالإضافة إلى النشاط المضاد للأكسدة لأوراق الليمون الطبي (citrus limon).

أظهر تحليل أولي للتركيب الكيميائي لأوراق الليمون وجود مركبات مختلفة مثل السابونوزيدات والفلافونويد والعفص والزيوت الطيارة والستيرولات والكينون. هذا يسلط الضوء على ثراء المركبات النشطة بيولوجيا الموجودة في هذا النبات. فيما يتعلق بزيت الليمون العطري، كشفت النتائج عن معاملات مرضية، مثل مؤشر حموضة منخفض قدره 0.84 ملجم / KOH جم من الزيت، ومؤشر بيروكسيد 9 ميقولتر / كجم، ومؤشر يود 79.947 جم / 100 جم من الزيت، مؤشر التصين 78.554 ملجم / KOH جم من الزيت، معامل الانكسار 1.473، مؤشر الأسترة 77.71 ملجم / KOH جم من الزيت ودرجة الحموضة 6. هذه المعاملات تشهد على الجودة الاستثنائية لزيت الليمون

بالإضافة إلى ذلك، أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة لأوراق الليمون بطريقة FRAP (قوة مضادات الأكسدة الحديدية) نتائج مشجعة، مما يدل على قدرة زيت الليمون على تحييد الجذور الحرة والعمل كعامل.

الكلمات المفتاحية:

الخصائص الفيزيوكيميائية لليمون، citrus limon، للحموضة (Ia)، اليود (Io)، الصابونة (Is)، والبيروكسيد (Ip). FRAP.

Abstract

Abstract

The aim of this study was to evaluate the physico-chemical properties and antioxidant activity of lemon leaves (Citrus limon).

A preliminary analysis of the chemical composition of lemon leaves revealed the presence of various compounds such as saponosides, flavonoids, tannins, cardenolides, volatile oils, sterols and quinones. This highlights the wealth of bioactive compounds present in this plant.

With regard to lemon essential oil, the results revealed satisfactory parameters, such as a low acidity index of 0.84 mg KOH/g oil, a peroxide value of 9 meq O/kg, an iodine value of 79.947 g I/100g oil, a saponification value of 78.554 mg KOH/g oil, a refractive index of 1.473, an esterification value of 77.71 mg KOH/g oil and a pH of 6. These parameters testify to the exceptional quality of lemon oil.

In addition, assessment of lemon's antioxidant activity using the FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) method revealed encouraging results, demonstrating lemon oil's ability to neutralize free radicals and act as an antioxidant agent.

Keywords: *lemon, citrus limon , physico-chemical screening, acidity index (Ia), iodine index (Io), saponification index (Is) and peroxide index (Ip),FRAP*

Liste d'abréviation

Abbréviation	Signification
AFNOR	Association française de normalisation
FRAP	“ <i>Ferric reducing antioxidant power</i> ” Pouvoir antioxydant réducteur ferrique
HE	Huile essentielle
I_s	indice de saponification
I_p	indice de peroxyde
I_I	indice d'iode
pH	Potentielle d'hydrogène
n_d²⁰	Indice de réfraction
I_E	indice d'ester
Rd	Rendement de l'huile essentielle
N	Normalité
V	volume
°C	Degré Celsius
P	prise d'essai
mol/L	mole/Litre
s	seconde
L	litre
ml	Millilitre
h	heure
g	gramme
mg	milligramme
m	mètre
cm	centimètre
%	pourcentage
EC₅₀	concentration efficace median

Liste de figure

Figure 1 : Origine géographiques et diffusion des agrumes dans le monde « origine et aire de	3
Figure 2 : Coupe transversale de fruit d'un Citrus	4
Figure 3 : Orange Navel	5
Figure 4 : Valencia late	5
Figure 5 : sanguines maltaises	5
Figure 6 : Mandarine Clementine	6
Figure 7 : Mandarine Satsuma	6
Figure 8 : Kumquat	6
Figure 9 Citrus x limon	7
Figure 10 : Le citron Eureka.	8
Figure 11 : Le citron Lisbon	8
Figure 12 : Le citron Meyer	8
Figure 13 : Le citron Femminello	9
Figure 14 : citron Verna.	9
Figure 15 : L'arbre	10
Figure 16 : Les feuilles	10
Figure 17 : Les fleurs.	11
Figure 18 : Fruits	11
Figure 19 : pulpes	12
Figure 20 : Production de citron dans le monde	13
Figure 21 : production de citrus en Algérie	14
Figure 22 exemple de les poils glandulaires «cellules superficielles »	18
Figure 23 : les canaux résinifères du pin	19
Figure 24 :feuille et zeste de agrumes« cellules incrustées dans les tissus végétaux »	19
Figure 25 : Feuilles sèches de citrus limon.	21
Figure 26 : broyage et tamisage des feuilles	21
Figure 27 : test des alcaloïdes	22
Figure 28 : test de mousse.	22
Figure 29 : test flavonoïdes	23
Figure 30 : Test des tanins	23
Figure 31 : test de cardenolides	24
Figure 32 : Test de stérols	24
Figure 33 : Test des huiles volatiles	25

Liste de figure

Figure 34: Test de quinones.....	25
Figure 35: Méthode d'extraction d'huile essentielle	26
Figure 36: L'indice d'acide.....	26
Figure 37: L'indice de saponification.....	27
Figure 38: L'indice de peroxyde	28
Figure 39: indice d'iode.....	29
Figure 40: la miscibilité à l'éthanol.....	29
Figure 41: papier pH.....	30
Figure 42: indice de réfraction	30
Figure 43: Extrait méthanolique.....	31
Figure 44 : Pouvoir réducteur d'extraits méthanolique des feuilles.....	37
Figure 45: Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.....	37

Liste de tableau

Tableau 1 :résultat des tests phytochimiques	32
Tableau : 2 : Caractérisation organoleptique en huile essentielle et eau floral	33
Tableau 3 : Rendement en huiles essentielle du citron.	33
Tableau 4 : résultats de caractérisation en huile essentielle	34
Tableau 5 : Caractéristiques Physiques d'huile essentielle	36
Tableau 6 : IC50 des extraits méthanoïque et l'acide ascorbique.....	37

Remerciement	I
Dédicace.....	II
Resume	III
ملخص.....	IV
Abstract.....	V
Liste d'abréviation	VI
Liste de figure	VII
Liste de tableau	IX
Sommaire	X

Chapitre I : Étude botanique sur l'espèce végétal

I.1 Généralité sur les agrumes	3
I.2 Structure général des agrumes	4
I.3 Les principales variétés d'agrumes	5
I.3.1 Oranges :	5
I.3.1.1 Orange Navel :	5
I.3.1.2 Orange Valencia late :	5
I.3.1.3 Orange sanguines maltaises :	5
I.3.2 Les petits agrumes :	6
I.3.2.1 Mandarine Clementine :	6
I.3.2.2 Mandarine Satsuma :	6
I.3.2.3 Kumquat :	6
I.3.3 Espèce d'étude citron	7
I.3.3.1 Citron Eureka :	8
I.3.3.2 Citron Lisbon :	8
I.3.3.3 Citron Meyer :	8
I.3.3.4 Citron Femminello :	9
I.3.3.5 Citron verna	9
I.4 Description botanique:	9
I.4.1 Présentation de la famille des Rutacées :	9
I.4.2 Citron (nier) (Citrus limon).....	10
I.4.2.1 Apparence :	10

I.4.2.1.1	L'arbre	10
I.4.2.1.2	Feuille :.....	10
I.4.2.1.3	Fleurs :.....	11
I.4.2.1.4	Fruits :.....	11
I.4.2.1.5	La pulpe.....	12
I.4.2.2	Propriétés :.....	12
I.5	Classification botanique	12
I.6	Production du citron	13
I.6.1	Production mondiale de citrons :	13
I.6.2	Production de citrons en Algérie :.....	13
I.7	Usages citrus limon	14
I.7.1	Utilisation culinaire :.....	14
I.7.2	Utilisation en cosmétologie :	14
I.7.3	Utilisation pendant la grossesse :.....	14
I.7.4	Utilisation en Aromathérapie :.....	14
I.8	Les propriétés biologiques de citrus limon :.....	15
I.8.1	Activité antioxydant :.....	15
Chapitre II : Les huiles essentielles		
II.	Historique	16
II.1	Définition des huiles essentielles	16
II.2	Caractéristique physico-chimiques et organoleptiques	16
II.2.1	Aspect :.....	17
II.2.2	Couleur :.....	17
II.2.3	Odeur :.....	17
II.2.4	Densité :.....	17
II.2.5	Indice de réfraction :.....	17
II.2.6	Solubilité :.....	17
II.2.7	Composition chimique :.....	17
II.2.8	Activités biologique	17
II.2.8.1	Activités antioxydants	17
II.3	Localisation des huiles essentielles	18
II.4	Toxicité des huiles essentielles	19
II.4.1	Concentration :.....	19
II.4.2	Sensibilité de la peau :.....	19
II.4.3	Qualité et pureté :.....	20

II.4.4	Enfants et animaux domestiques :.....	20
II.4.5	Voie d'administration :	20
II.4.6	Interaction avec les médicaments :.....	20
II.4.7	Utilisation excessive et exposition prolongée :.....	20
chapitre III: Materiel et methode		
III.	Materiel et methode	21
III.1	Préparation de plant	21
III.1.1	Récolte :.....	21
III.1.2	Séchage de la matière végétale :	21
III.1.3	Broyage et tamisage	21
III.2	Screening photochimiques :	21
III.2.1	Les alcaloïdes.....	22
III.2.2	Les saponosides (test de mousse):.....	22
III.2.3	Les flavonoïdes :	22
III.2.4	Les tannins :	23
III.2.5	Les cardénolides :.....	23
III.2.6	Les stérols	24
III.2.7	Les huiles volatiles :	24
III.2.8	Quinones.....	25
III.3	Analyse physico chimique d'huile essentiel de citron.....	25
III.3.1	Extraction des huiles	25
III.3.2	Caractères chimique	26
III.3.2.1	Indice d'acide :.....	26
III.3.2.2	Indice de saponification.....	27
III.3.2.3	Indice de peroxyde:	27
III.3.2.4	Indice d'ester.....	28
III.3.2.5	Taux d'impuretés	28
III.3.2.6	Indice d'iode :	28
III.3.2.7	Evaluation de la miscibilité à l'éthanol :	29
III.3.2.8	Indice de Potentiel d'hydrogène (pH)	30
III.3.3	Caractères physiques	30
III.3.3.1	Indice de réfraction :	30
III.4	L'activité antioxydant :	30
III.4.1	Extrait méthanoïque	31

III.4.2	Test de la réduction du fer FRAP	31
chapitre IV : Résultat et discussion		
IV.	Résultat et discussion :	32
IV.1	Interprétation du screening photochimique :	32
IV.2	Extraction d'huile essentiel	33
IV.3	Caractérisation organoleptique en huile essentielle et eau florale :	33
IV.4	Calcul du rendement :	33
IV.5	Caractérisation en huile essentielle	34
IV.5.1	Caractéristiques Chimiques	34
IV.5.1.1	pH	34
IV.5.1.2	Indice d'acide	34
IV.5.1.3	Indice de saponification	35
IV.5.1.4	Indice d'ester	35
IV.5.1.5	Taux d'impuretés	35
IV.5.1.6	Indice de peroxyde	35
IV.5.1.7	Indice d'iode	35
IV.5.1.8	Miscibilité à l'éthanol	36
IV.5.2	Caractéristiques Physiques:	36
IV.5.2.1	Indice de réfraction	36
IV.6	Activité antioxydant	37
IV.6.1	Test de la réduction du fer FRAP :	37
Conclusion	379
 Reference		

Introduction générale

Les plantes ont été utilisées depuis l'antiquité comme remèdes naturels, sans comprendre pleinement leur mode d'action. Aujourd'hui, la pharmacologie redécouvre les vertus des plantes médicinales en tant que sources potentielles de nouvelles molécules pour le développement de médicaments. Les usages traditionnels des plantes n'ont jamais disparu et continuent d'être valorisés [1].

Le citron (*Citrus limon*) est un agrume célèbre pour son goût acidulé et son utilisation culinaire. Cependant, ce fruit ne se limite pas à sa saveur rafraîchissante. Il est également connu pour son huile essentielle, qui offre de nombreux bienfaits pour la santé et est utilisée dans divers domaines, notamment l'aromathérapie, la beauté et le nettoyage.[2] Cette huile essentielle est riche en composés bénéfiques et présente des propriétés antiseptiques, antibactériennes, antioxydantes et anti-inflammatoires[3]

Le citron est connu pour sa teneur élevée en composés antioxydants. Les antioxydants sont des substances qui aident à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres, qui sont des molécules instables produites lors du métabolisme normal du corps ou en réponse à des facteurs environnementaux.[4]

Ce projet se concentre sur l'extraction d'huile essentielle de citron par hydrodistillation, ainsi que sur la détermination de ses caractéristiques physico-chimiques et de son activité antioxydante. Notre travail sera donc réparti en deux parties divisées en quatre (04) chapitres :

La première partie : Etude bibliographique contient deux chapitres

Chapitre I : Nous rapporterons des généralités sur la plante **citrus limon** l'origine, utilisation, taxonomie, description, Les propriétés biologiques « Activité antioxydante » de la plante et sur les vertus médicinales, étude photochimique

Chapitre II : Montre un aperçu réduit sur l'huile essentielle

La deuxième partie : Etude expérimentale ; qui comprend

Chapitres III : Décrivant le matériel et les méthodes ainsi que les protocoles expérimentaux utilisés pour :

- ✚ Le screening photochimiques.
- ✚ Caractérisation Physico-chimiques d'huile essentielle de citrus limon
- ✚ Évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait méthanoïque des feuilles de citron

Chapitre IV : Nous présentons les différents résultats obtenus avec la discussion.

Chapitre I : Étude botanique sur l'espèce végétal

I.1 Généralité sur les agrumes

L'agrumes est quant à lui un arbuste (et son fruit) de la famille de retacées. C'est-à-dire la famille de plantes à laquelle la rue, ruta, a donné son nom (orange, citronnier, etc.) , le terme agrume vient de l'italien agrume issu de latin populaire *acrumen*, de acer=aigre [5]. les agrumes correspondent à trois genres botaniques : *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus* (les Anglo-saxons se'appellent citrus l'ensemble des agrumes) [6]

La culture des agrumes en Asie a une longue histoire remontant à plusieurs millénaires. La plus ancienne référence manuscrite à leur culture est citée dans un texte faisant partie des "cinq classiques" attribués à Confucius, datant du IIIème millénaire avant notre ère.

Au cours des XIXème et XXème siècles, la culture des agrumes s'est intensifiée à l'échelle mondiale, couvrant aujourd'hui plusieurs millions d'hectares. Les pays du Bassin méditerranéen sont particulièrement connus pour leur agrumiculture diversifiée, qui comprend une grande variété de fruits tels que les clémentines, les hybrides de mandarines, les oranges, les pomelos, les citrons, les bergamotes, les cédrats, et bien d'autres. Ces agrumes sont utilisés à la fois pour la consommation de fruits frais, la production de jus, de cosmétiques et comme plants d'ornement. [7]

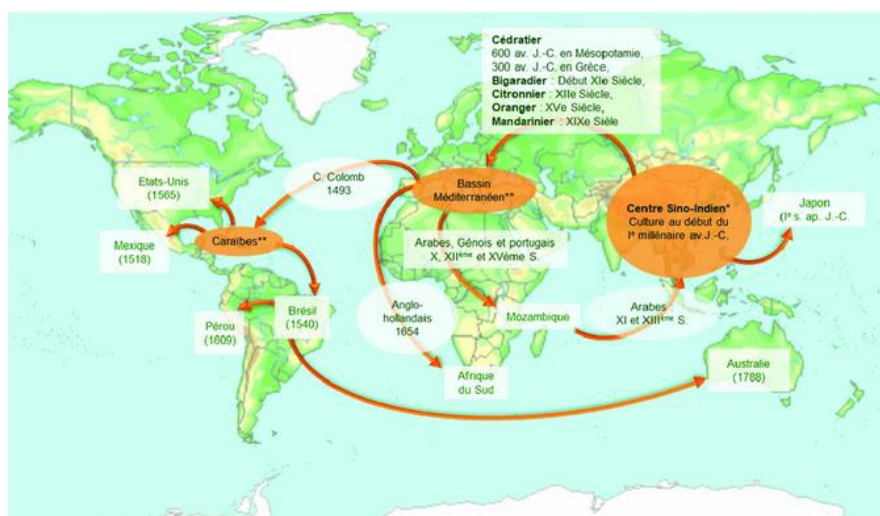


Figure 1 : Origine géographique et diffusion des agrumes dans le monde « origine et aire de répartition primaires » « Aires de répartition secondaires »[8]

Les agrumes, également connus sous le nom de fruits aigres, sont cultures fruitières au monde avec une disponibilité et une popularité mondiale contribuant à l'alimentation humaine.[9]. Ils sont cultivés dans plus de 100 pays à travers le monde, principalement dans les zones tropicales et subtropicales, et leur production annuelle atteint environ 115,5 millions de tonnes(2012). Les agrumes possèdent de nombreux composés dont l'utilité a été largement démontrée, tant pour la

Chapitre I : Étude botanique sur l'espèce végétale

santé humaine que pour les applications industrielles, notamment dans les domaines de l'alimentation, de la cosmétique et de la pharmacie.[10]

I.2 Structure générale des agrumes

La structure des fruits d'agrumes cultivés est presque identique. Ils se composent principalement de deux parties morphologiques : le péricarpe et l'endocarpe (ou pulpe) (Figure N°2). Le péricarpe, également appelé écorce, est constitué du zeste (épicarpe ou flavedo), la partie externe de l'enveloppe, qui est généralement orange ou jaune et contient de nombreuses poches sécrétrices de type schizolysigène, riches en huile essentielle.

Le mésocarpe (ou albedo), de couleur blanche, présente souvent une texture cotonneuse ou spongieuse et est principalement composé de cellulose. Il constitue la partie la plus interne du péricarpe.

La partie interne, l'endocarpe ou pulpe, est composée de segments (carpelles) dans lesquels se trouve le jus, avec ou sans pépins selon les variétés, et qui sont entourés d'une enveloppe radiale épaisse (ou endocarpe). Cette partie, riche en sucres solubles, renferme des quantités significatives de vitamine C, de pectine, de fibres, d'acides organiques divers et de sels de potassium, ce qui confère au fruit son acidité caractéristique [11]

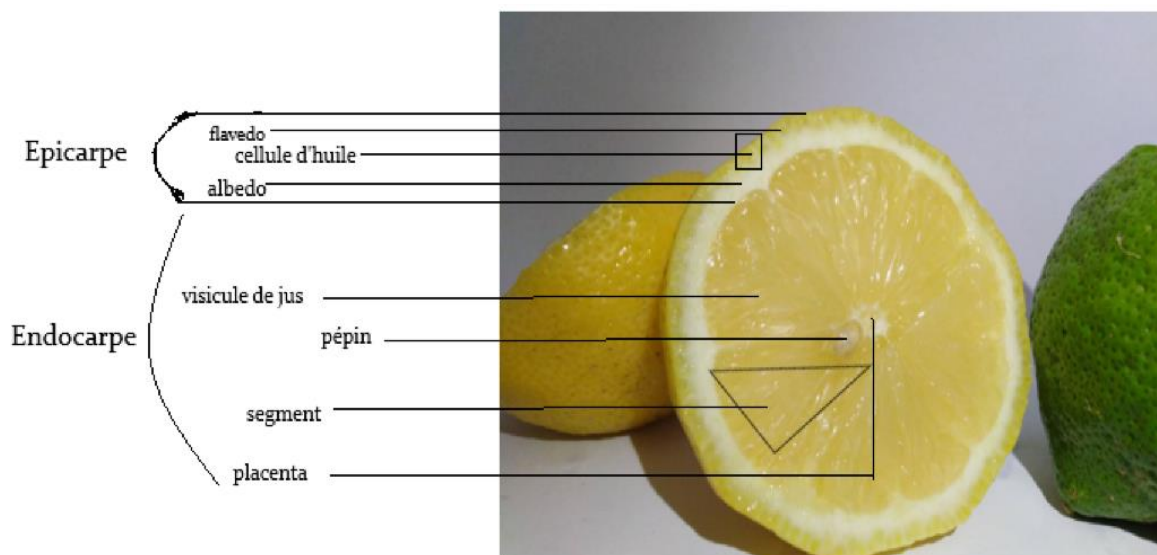


Figure 2 : Coupe transversale de fruit d'un Citrus [Kherici 2023]

I.3 Les principales variétés d'agrumes

I.3.1 Oranges :

Quelque variété d'oranges

I.3.1.1 Orange Navel :

C'est l'une des variétés d'orange les plus populaires, avec une peau épaisse et une pulpe juteuse. Elle est facile à peler et a un goût sucré.[12]



Figure 3 :Orange Navel [12]

I.3.1.2 Orange Valencia late :

Cette variété est célèbre pour son abondance de jus sucré et sa peau fine. Elle est souvent utilisée pour faire du jus d'orange frais.[12]

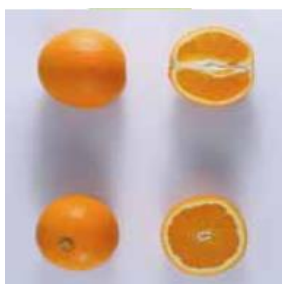


Figure 4 :Valencia late [12]

I.3.1.3 Orange sanguines maltaises :

Reconnaisable par sa chair rouge foncé, cette variété a une saveur distinctive légèrement acidulée. Elle est appréciée pour ses propriétés esthétiques et son goût unique.[12]



Figure 5 :sanguines maltaises [12]

I.3.2 Les petits agrumes : Quelques variétés des petites agrumes

I.3.2.1 Mandarine Clémentine :

La mandarine Clémentine est appréciée pour sa douceur, sa facilité de pelage et son goût rafraîchissant. Elle est largement cultivée dans de nombreuses régions du monde et est appréciée pour sa polyvalence culinaire et sa popularité en tant que collation saine et savoureuse. [12]



Figure 6 :Mandarine Clémentine [12]

I.3.2.2 Mandarine Satsuma :

Ces mandarines sont originaires du Japon et sont appréciées pour leur goût sucré, leur facilité de pelage et leur chair juteuse. [12]



Figure 7 : Mandarine Satsuma [13]

I.3.2.3 Kumquat :

Les kumquats sont de petits agrumes ovales qui se mangent entiers, y compris la peau. Ils ont une saveur sucrée et acidulée et sont souvent utilisés pour les collations et la préparation de confitures [12]



Figure 8 :Kumquat [14]

I.3.3 Espèce d'étude : le citron

Nom botanique principal: Citrus ×limon

Autres noms botaniques: Certains autres noms botaniques du citron sont :

- Citrus limon (L.) Burm. f.;
- Citrus medica var. limon L.;
- Citrus rissoi Risso;
- Citrus ×limonia Osbeck;
- Citrus ×mellarosa Risso;
- Citrus ×volkameriana (Risso) V. Ten. & Pasq.

Noms communs anglais: Les noms communs anglais du citron sont :

- Lemon;
- Lime (Dans certains contextes, le terme "lime" peut également faire référence à une variété spécifique de citron vert)

Noms communs français: Citronnier; citronnier; limonier [15]

Le Citrus limon, communément appelé citron, est une espèce d'agrumes cultivée en Algérie. C'est un petit arbre à feuilles persistantes de la famille des Rutacées. Le citron est connu pour son fruit juteux et acide, largement utilisé en cuisine et en médecine traditionnelle. En Algérie, il est cultivé dans les régions côtières méditerranéennes. Les variétés cultivées incluent le citron Eureka, le citron Lisbonne et le citron Villafranca. Le citron est utilisé dans la cuisine algérienne pour ajouter de la saveur aux plats et dans les boissons. Il a également des propriétés médicinales, notamment en tant qu'antioxydant et stimulant digestif. En résumé, le citron est un agrume polyvalent cultivé en Algérie, apprécié pour son goût acide et ses utilisations culinaires et médicinales. [16]



Figure 9 Citrus x limon [Kherici 2023]

I.3.3.1 Citron Eureka :

Le citron Eureka est similaire au citron Lisbon, avec une peau lisse et un jus acidulé. Il est également populaire pour faire du jus de citron frais et est couramment utilisé en cuisine et en pâtisserie..[17]

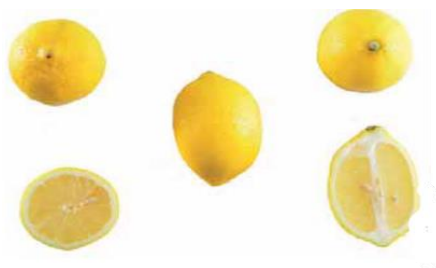


Figure 10 :Le citron Eureka.[17]

I.3.3.2 Citron Lisbon :

Le citron Lisbon est l'une des variétés de citron les plus répandues. Il a une peau épaisse et rugueuse, et son jus est acide et riche en saveur. Il est souvent utilisé pour faire du jus de citron, des marinades et des sauces.[17]

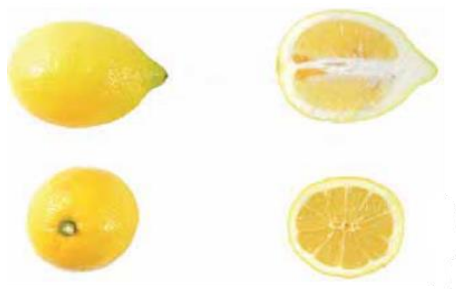


Figure 11 : Le citron Lisbon .[17]

I.3.3.3 Citron Meyer :

Le citron Meyer est une variété de citron plus douce et moins acide. Il a une peau fine et lisse, de couleur orange vif. Son jus est légèrement sucré et très parfumé. Le citron Meyer est souvent utilisé dans les desserts, les cocktails et les plats asiatiques..[17]



Figure 12 :.Le citron Meyer .[17]

I.3.3.4 Citron Femminello :

Le citron Femminello est une variété de citron italienne largement cultivée. Il a une peau jaune vif et une pulpe juteuse et acidulée. Les citrons Femminello sont polyvalents et peuvent être utilisés dans diverses préparations culinaires..[17]



Figure 13 :Le citron Femminello .[17]

I.3.3.5 Citron verna

Le citron Verna est une variété de citron espagnole. Il a une peau fine et lisse, et son jus est acide et aromatique. Les citrons Verna sont souvent utilisés dans la préparation de boissons rafraîchissantes, de desserts et de plats méditerranéens.[17]



Figure 14 :citron Verna.[17]

I.4 Description botanique:

I.4.1 Présentation de la famille des Rutacées :

Cette famille doit son nom à la rue (*Ruta graveolens* L.), un petit arbuste aromatique rustique qui a été cultivé durant des siècles dans les jardins comme plante médicinale.

Les représentants de cette famille, répartis en 150 genres et 1500 espèces, sont principalement rencontrés dans les régions tropicales et tempérées chaudes du globe ce sont essentiellement des arbres, des arbustes parfois épineux ou plus rarement des plantes herbacées caractérisées par des poches sécrétrices d'un type particulier: dites schizolysigènes.

C'est une famille d'une grande importance tant pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Les fruits les plus cultivés appartiennent aux genres *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus* .[18]

I.4.2 Citron (nier) (Citrus limon)

Le Citrus x limon, communément appelé citron, est un arbuste à feuilles persistantes de la famille des Rutacées. Il est largement cultivé pour son fruit juteux et acide, qui est utilisé dans diverses applications culinaires, médicinales et cosmétiques.

Le citron présente les caractéristiques suivantes :

I.4.2.1 Apparence :

I.4.2.1.1 L'arbre

Le citronnier est un arbre à feuilles persistantes qui peut atteindre une hauteur moyenne de 3 à 6 mètres, mais il peut parfois atteindre jusqu'à 10 mètres. Il a une forme arrondie et dense avec des branches épineuses. L'écorce de l'arbre est de couleur gris-vert et présente des lenticelles, de petites protubérances permettant les échanges gazeux



Figure 15 : L'arbre [Kherici 2023]

I.4.2.1.2 Feuille :

Les feuilles du citronnier sont vert foncé, ovales ou oblongues, et disposées de manière alternée le long des branches. Elles sont luisantes, coriaces et ont des bords légèrement dentelés. Les feuilles dégagent un parfum caractéristique lorsqu'elles sont froissées.



Figure 16 : Les feuilles [Kherici 2023]

I.4.2.1.3 Fleurs :

Les fleurs du citronnier sont blanches ou légèrement teintées de rose et sont généralement solitaires ou groupées par paires. Elles sont très parfumées et mesurent environ 2,5 à 5 cm de diamètre. Les fleurs sont composées de nombreuses étamines et d'un pistil central.



Figure 17 : Les fleurs [Kherici 2023]

I.4.2.1.4 Fruits :

Les fruits du citron sont de forme ovale ou oblongue, avec une peau lisse et jaune. Ils peuvent mesurer de 5 à 8 centimètres de diamètre. La peau appelée écorce ou zeste, qui renferme de nombreuses poches sécrétrices d'huile essentielle, ce qui lui donne son arôme caractéristique.



Figure 18: Fruits [Kherici 2023]

I.4.2.1.5 La pulpe

Du fruit est divisée en segments juteux et acidulés, riches en vitamine C, en pectine, en fibres et en acides organiques.



Figure 19 : pulpes [Kherici 2023]

I.4.2.2 Propriétés :

Le citron est apprécié pour son goût acide et rafraîchissant. Il est largement utilisé pour aromatiser les plats, les boissons, les sauces et les desserts. Il est également connu pour ses propriétés médicinales, notamment en tant qu'antioxydant, stimulant digestif et source de vitamine C.

Le Citrus x limon est cultivé dans de nombreuses régions du monde, y compris en Algérie, où il prospère dans les climats méditerranéens. Les différentes variétés de citron peuvent varier légèrement en taille, en forme et en saveur, mais toutes partagent les caractéristiques générales décrites ci-dessus[19].

I.5 Classification botanique

Citrus limon est une espèce de la famille des Rutacées, La classification botanique est comme suit :

Règne : Plantae

Sous-Règne : Viridaeplantae

Infra-Règne : Streptophyta

Classe : Equisetopsida C.Agardh,

Clade : Tracheophyta Sinnott

Clade : Spermatophyta

Sous-Classe : Magnoliidae Novák

Super-Ordre : Rosanae Takht.

Ordre : Sapindales Juss.

Famille : Rutaceae Juss

Sous-Famille : Aurantioideae Eaton,

Genre : Citrus L.,

Espèce : Citrus x limon (L.) Osbeck, [20]

I.6 Production du citron

La production mondiale de citrons est assez importante, avec plusieurs pays contribuant à cette culture. Voici un aperçu de la production mondiale de citrons, suivie d'une description de la production en Algérie :

I.6.1 Production mondiale de citrons :

Dans le monde, 20 049 630 tonnes de citron sont produites par an. L'Inde est le plus grand producteur de citron au monde avec une production de 3 482 000 tonnes par an. La Chine arrive en deuxième position avec 2 712 187 tonnes de production annuelle. Avec 2 701 828 tonnes de production par an, le Mexique est le troisième plus grand producteur de citron. Les États-Unis d'Amérique, avec 876 340 tonnes de production par an, sont classés au 8e rang [21].

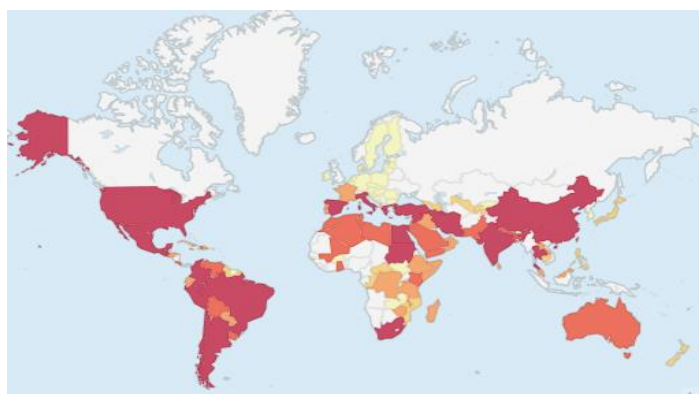


Figure 20 : Production de citron dans le monde [22]

I.6.2 Production de citrons en Algérie :

- L'Algérie est également un producteur de citrons, avec une production annuelle significative.
- Les régions côtières de l'Algérie, telles que la région de Béjaïa, Tizi Ouzou, Oran, Skikda, Annaba et Jijel, sont propices à la culture des agrumes en raison de leur climat méditerranéen.
- Le citron est cultivé principalement pour la consommation locale et pour l'exportation vers d'autres pays de la région.

Chapitre I : Étude botanique sur l'espèce végétale

Il convient de noter que les chiffres spécifiques de la production de citrons en Algérie peuvent varier d'une année à l'autre en fonction de divers facteurs tels que les conditions climatiques, les pratiques agricoles et les demandes du marché. Les données précises sur la production de citrons en Algérie peuvent être obtenues auprès des organismes agricoles nationaux ou des sources gouvernementales compétentes.[23].



Figure 21 : production de citrus en Algérie [7]

I.7 Usages citrus limon

Le citron est un fruit aux multiples utilisations en raison de sa composition variée :

I.7.1 Utilisation culinaire :

Le citron, qu'il soit pelé ou finement râpé, apporte une saveur distinctive très appréciée en cuisine et en pâtisserie. Son jus est utilisé pour la préparation de boissons rafraîchissantes.

I.7.2 Utilisation en cosmétologie :

Le citron est utilisé en cosmétologie pour resserrer les pores, éclaircir la peau, réduire les comédons et comme masque antirides. Il est également employé pour apporter de l'éclat aux cheveux. De plus, il est un ingrédient couramment utilisé dans la composition de nombreux parfums.

I.7.3 Utilisation pendant la grossesse :

Les femmes utilisent le citron pour soulager les nausées et les vomissements pendant la grossesse.

I.7.4 Utilisation en Aromathérapie :

Le parfum frais et revigorant des citrons est couramment utilisé en aromathérapie pour améliorer l'humeur, améliorer la concentration et réduire le stress.

Propriétés des huiles essentielles : Les huiles essentielles extraites du citron possèdent de nombreuses propriétés, notamment antibactériennes, antioxydantes, antifongiques, antivirales, anti-scorbut, antiallergiques, neuroprotectrices, anticonvulsives, sédatives, anti-nociceptives et anti-inflammatoires. Elles sont couramment utilisées comme agents aromatisants dans les aliments, les boissons et les confiseries, ainsi que comme parfum [11].

I.8 Les propriétés biologiques de citrus limon :

I.8.1 Activité antioxydant :

Les extraits de Citrus limon contiennent des niveaux suffisamment élevés de composés phénoliques et flavonoïdes. Ceci est corrélé avec une activité antioxydant remarquable vis-à-vis de la réduction du fer, et un pouvoir relativement élevé contre les radicaux libres piégeant. Ainsi, les extraits de Citrus limon pourraient être une source antioxydant prometteuse pour la prévention et/ou le traitement des maladies liées au stress oxydatif ou comme additifs alimentaires.[24]

Le citron est riche en vitamine C, un puissant antioxydant connu pour ses propriétés de renforcement du système immunitaire. La vitamine C aide à neutraliser les radicaux libres et peut protéger les cellules contre les dommages causés par l'oxydation..

En plus de la vitamine C, le citron contient d'autres composés antioxydants tels que les flavonoïdes, les limonoïdes et les acides phénoliques. Ces composés ont démontré des effets bénéfiques pour la santé, notamment la réduction du risque de maladies cardiovasculaires, le soutien du système immunitaire et la lutte contre l'inflammation.[25]

L'activité antioxydante du citron peut être évaluée à l'aide de différentes méthodes, telles que le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) ou le test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). Ces tests mesurent la capacité d'un échantillon à neutraliser les radicaux libres et fournissent une indication de son potentiel antioxydant.

Il convient de noter que l'activité antioxydante du citron peut varier en fonction de plusieurs facteurs, tels que la variété du citron, son stade de maturité et les conditions de culture. De plus, l'activité antioxydante peut être influencée par les méthodes de préparation et de stockage des extraits de citron utilisés dans les études.

les citrons possèdent le potentiel antioxydant le plus élevé parmi les agrumes étudiés (pamplemousses (Citrus paradisi), oranges (Citrus sinensis)) et sont préférables pour la prévention alimentaire des maladies cardiovasculaires et autres. Les pelures de tous les agrumes sont riches en fibres alimentaires et en composés phénoliques et conviennent à la transformation industrielle.[26].

Chapitre II : Les huiles essentielles

II. Historique

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs huiles essentielles. Ces dernières sont des produits à forte valeur ajoutée, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires [27].

Au fil des siècles, l'extraction et l'usage des principes odorants des plantes se sont développés, notamment par les civilisations arabe et égyptienne, qui leurs attribuaient avant tout un usage religieux. Puis progressivement, ces huiles essentielles se font connaître pour leurs vertus thérapeutiques et deviennent alors des remèdes courants de médecine traditionnelle [28].

II.1 Définition des huiles essentielles

Le terme "huile essentielle" remonte au XVI^e siècle e. Les huiles essentielles, également appelées "essences", doivent leur nom à leur inflammabilité. Plusieurs auteurs ont tenté de donner une définition précise des huiles essentielles. L'Agence Française de Normalisation (AFNOR) propose la définition suivante (NF T 75-006) : "L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par distillation à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe d'agrumes, ou par 'distillation sèche'. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des moyens physiques." [29]

Les huiles essentielles sont des substances volatiles et aromatiques extraites de plantes, souvent à partir de leurs parties odorantes telles que les fleurs, les feuilles, les tiges, les écorces ou les racines. Les huiles essentielles sont caractérisées par leur concentration élevée en composés chimiques naturels, qui leur confèrent des propriétés aromatiques, thérapeutiques et diverses applications dans les domaines de la santé, de la beauté, de la relaxation et de l'aromathérapie. Elles sont largement utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires et de parfumerie [30]

II.2 Caractéristique physico-chimiques et organoleptiques

Les huiles essentielles présentent différentes caractéristiques physico-chimiques qui contribuent à leur composition et à leurs propriétés. Voici quelques-unes des caractéristiques les plus couramment observées :

II.2.1 Aspect :

Les huiles essentielles peuvent avoir une apparence liquide, visqueuse ou parfois solide à température ambiante. Certaines peuvent être transparentes, tandis que d'autres peuvent être opaques.

II.2.2 Couleur :

Les huiles essentielles peuvent présenter une large gamme de couleurs, allant du incolore au jaune pâle, au vert, au bleu, au brun ou même au rouge.

II.2.3 Odeur :

Les huiles essentielles sont connues pour leurs arômes caractéristiques et leur parfum intense. Chaque huile essentielle a une odeur spécifique qui lui est propre, allant des notes florales, fruitées, boisées, épicées, herbacées, aux agrumes, entre autres.

II.2.4 Densité :

Les huiles essentielles ont une densité variable, généralement inférieure à celle de l'eau. Cette caractéristique peut influencer leur comportement lors de l'utilisation ou de la fabrication de produits.

II.2.5 Indice de réfraction :

L'indice de réfraction mesure la façon dont la lumière se propage à travers l'huile essentielle. Il peut être utilisé pour identifier et caractériser une huile essentielle spécifique.

II.2.6 Solubilité :

Les huiles essentielles sont généralement insolubles dans l'eau, mais elles peuvent se dissoudre dans des solvants organiques tels que l'alcool, les huiles végétales ou les lipides.

II.2.7 Composition chimique :

Les huiles essentielles sont composées de divers composés chimiques naturels tels que les terpènes, les esters, les alcools, les cétones, les phénols, etc. Ces composés confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés thérapeutiques et aromatiques uniques.

Il est important de noter que les caractéristiques physico-chimiques peuvent varier d'une huile essentielle à l'autre, en fonction de la plante d'origine et des méthodes d'extraction utilisées. [31]

II.2.8 Activités biologique

II.2.8.1 Activités antioxydants

Les huiles essentielles sont des extraits liquides volatils obtenus à partir de plantes aromatiques. Elles possèdent diverses propriétés biologiques, dont des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anticancéreuses, anti-inflammatoires et anti-âge. En raison des préoccupations

Chapitre II : Les huiles essentielles

liées à certains antioxydants synthétiques, l'utilisation des huiles essentielles comme antioxydants naturels gagne en popularité [32]

La recherche se concentre notamment sur l'activité antioxydant des huiles essentielles, mesurée à l'aide de paramètres tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes et les acides phénoliques. Différentes méthodes sont utilisées pour évaluer cette activité, mais des efforts sont en cours pour harmoniser ces méthodes afin de garantir des résultats comparables et fiables.

Les huiles essentielles offrent ainsi des perspectives intéressantes en tant qu'agents antioxydants naturels, qui peuvent être utilisés dans divers domaines, tels que l'industrie pharmaceutique, cosmétique et alimentaire. [33]

II.3 Localisation des huiles essentielles

Huiles essentielles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou se rassemblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles [34]

les cellules ou les glandes qui contiennent des huiles essentielles peuvent être Deux types différents de cellules d'huiles essentielles sont connus, les cellules superficielles, par exemple, **les poils glandulaires** situés à la surface de la plante, communs à de nombreuses herbes telles que l'origan, la menthe, la lavande, etc. , et **des cellules incrustées** dans les tissus végétaux, se présentant sous forme de cellules isolées contenant les sécrétions (comme dans les agrumes et les feuilles d'eucalyptus), ou sous forme de couches de cellules entourant l'espace intercellulaire (canaux ou cavités sécrétoires), par exemple, les canaux résinifères du pin [35]



Figure 22 exemple de les poils glandulaires «cellules superficielles » [36]

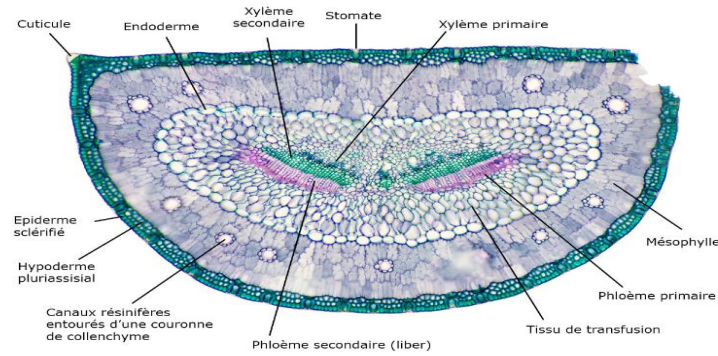


Figure 23: les canaux résinifères du pin [37]

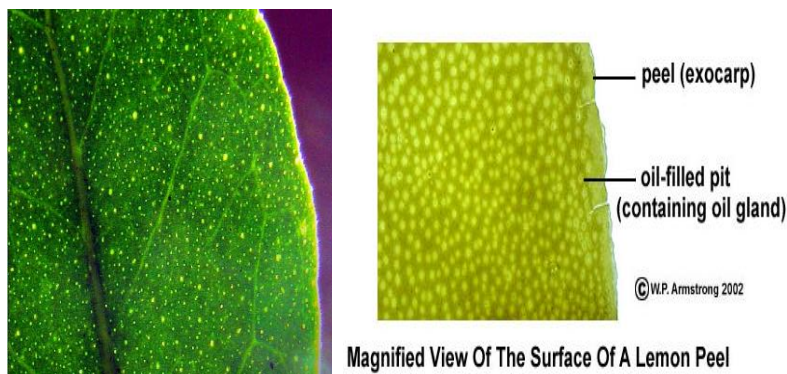


Figure 24: feuille et zeste de agrumes « cellules incrustées dans les tissus végétaux » [38][39]

II.4 Toxicité des huiles essentielles

La toxicité des huiles essentielles peut varier en fonction de l'huile spécifique, de sa concentration et de la méthode d'utilisation. Bien que les huiles essentielles soient généralement sans danger lorsqu'elles sont utilisées correctement, il est important d'être conscient des risques potentiels et des directives pour leur utilisation en toute sécurité. Voici quelques considérations concernant la toxicité des huiles essentielles :

II.4.1 Concentration :

Les huiles essentielles sont des substances hautement concentrées et doivent être diluées avant utilisation. L'application d'huiles essentielles non diluées directement sur la peau peut provoquer une irritation, une sensibilisation ou même des brûlures.

II.4.2 Sensibilité de la peau :

Différentes personnes peuvent avoir différents niveaux de sensibilité aux huiles essentielles. Il est important d'effectuer un test cutané sur une petite surface de peau avant d'utiliser une nouvelle huile essentielle pour vérifier tout effet indésirable.

II.4.3 Qualité et pureté :

La qualité et la pureté des huiles essentielles peuvent varier. Il est important de s'approvisionner en huiles auprès de fournisseurs réputés qui fournissent des informations détaillées sur la source botanique, les méthodes d'extraction et tout contaminant potentiel.

II.4.4 Enfants et animaux domestiques :

Les enfants et les animaux domestiques sont généralement plus sensibles aux effets des huiles essentielles. Certaines huiles peuvent ne pas être sûres pour une utilisation autour d'elles ou peuvent nécessiter une dilution supplémentaire. Des précautions supplémentaires doivent être prises lors de l'utilisation d'huiles essentielles en leur présence, et il est conseillé de demander conseil à des professionnels familiarisés avec l'aromathérapie pour les enfants et les animaux domestiques.[40]

II.4.5 Voie d'administration :

Toutes les huiles essentielles ne conviennent pas à toutes les voies d'administration. Certaines huiles sont destinées à l'inhalation ou à un usage topique uniquement et ne doivent jamais être ingérées. L'ingestion de certaines huiles essentielles peut être toxique et nuire au système digestif, au foie ou à d'autres organes.

II.4.6 Interaction avec les médicaments :

Les huiles essentielles peuvent interagir avec certains médicaments, augmentant ou diminuant leur efficacité ou provoquant des effets secondaires indésirables. Il est crucial de consulter un professionnel de la santé si vous prenez des médicaments avant d'utiliser des huiles essentielles.

II.4.7 Utilisation excessive et exposition prolongée :

L'utilisation excessive ou prolongée d'huiles essentielles peut entraîner des effets indésirables. Il est important de suivre les directives recommandées pour chaque huile spécifique et d'éviter de dépasser la dose ou la fréquence d'utilisation recommandée. [41]

Chapitre III : matériel et méthodes

III. Matériel et méthode

Ces expériences et études ont été menées au laboratoire de chimie de la Faculté des Sciences et de la Technologie de l'Université de CHADLI BEN DJEDID ELTAREF.

III.1 Préparation de plant

III.1.1 Récolte :

La récolte de la plante de citrus limon a été effectuée au mois Janvier de la région lac des oiseaux, d'EL-TARF

III.1.2 Séchage de la matière végétale :

La plante récoltée a été séchée, pendant environ 15 jours à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité



Figure 25 : Feuilles sèches de citrus limon [Kherici 2023]

III.1.3 Broyage et tamisage

L'obtention d'une poudre fine et homogène



Figure 26 : broyage et tamisage des feuilles [Kherici 2023]

III.2 Screening phytochimiques :

Le screening chimique est une méthode d'analyse qui a pour but de mettre en évidence les groupes photochimiques contenus dans une plante.

III.2.1 Les alcaloïdes

Macérer 1g de la poudre de la feuille dans 10ml d'HCl à 5 % dans un récipient. On filtre le mélange on additionner ou filtrat quelque gouttes de réactif de Mayer.

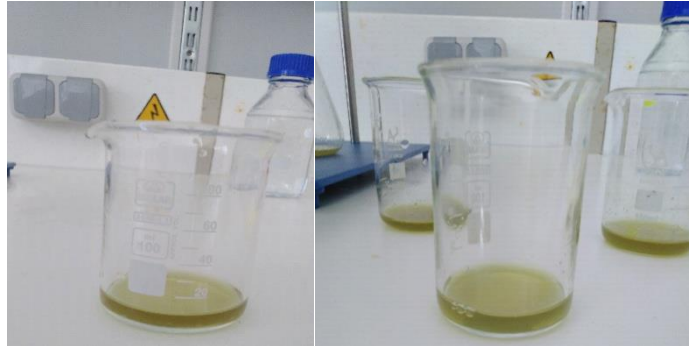


Figure 27 : test des alcaloïdes [Kherici 2023]

III.2.2 Les saponosides (test de mousse):

1g de la poudre sèche est pesé dans une fiole dans laquelle 10ml d'eau distillée sont ajoutés et bouillis pendant 5min, le mélange est filtré. 2,5ml du filtrat sont ajoutés à 10ml d'eau distillée dans un tube à essai. Le tube est secoué vigoureusement pendant 30s puis on laisse reposer une demi-heure.

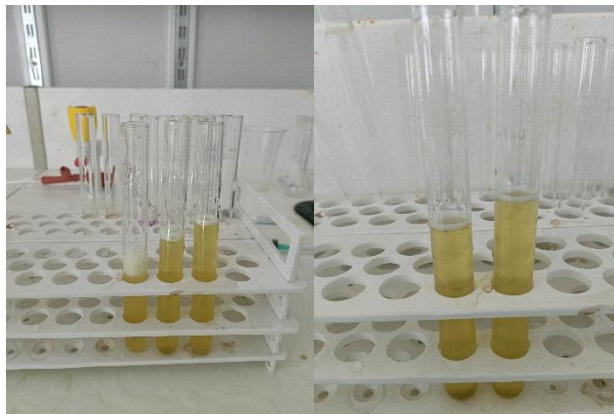


Figure 28: test de mousse [Kherici 2023]

III.2.3 Les flavonoïdes :

Macérer 10g de la poudre de feuille dans 150ml HCl à 1 % pendant 24h. Filtrer, prendre 10ml du filtrat, le rendre basique avec NH_4OH .

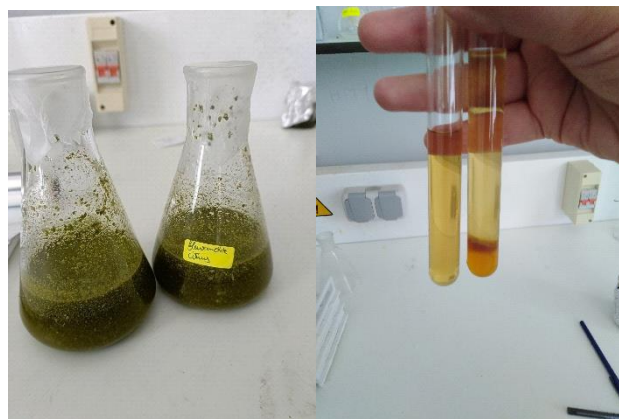


Figure 29: test flavonoïdes[Kherici 2023]

III.2.4 Les tannins :

10g de la feuille avec 100ml de MeOH à 80 %.filtré, additionner au filtrat quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 1 %

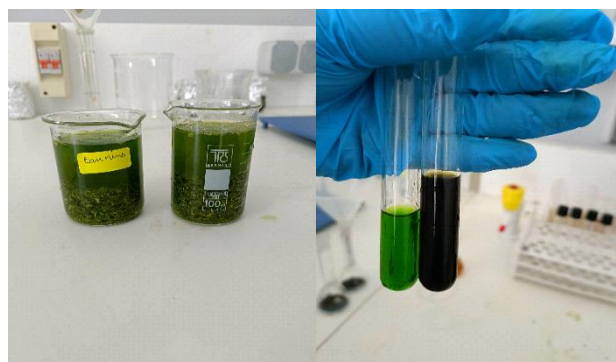


Figure 30 :Test des tanins[Kherici 2023]

III.2.5 Les cardénolides :

Dans cette méthode, vous devez commencer par macérer 1g de poudre sèche dans 20 ml d'eau distillée pendant une durée de 3 heures. Après cela, vous devez filtrer le mélange pour séparer les particules solides. Une fois filtré, prélevez 10 ml du filtrat obtenu et effectuez une extraction liquide-liquide en utilisant un mélange de 10 ml de chloroforme (CHCl₃) et d'éthanol (C₂H₅OH). Cette extraction permettra de transférer les composés d'intérêt de la phase aqueuse vers la phase organique. Ensuite, évaporez la phase organique, c'est-à-dire le mélange de chloroforme et d'éthanol, afin d'éliminer le solvant et d'obtenir un résidu. Le précipité obtenu doit être dissous dans 3 ml d'acide acétique glacial (CH₃COOH). Pendant la dissolution, ajoutez quelques gouttes de FeCl₃ et 1 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) sur les parois du tube à essai. Cette étape est importante pour développer une réaction spécifique en présence de ces réactifs.

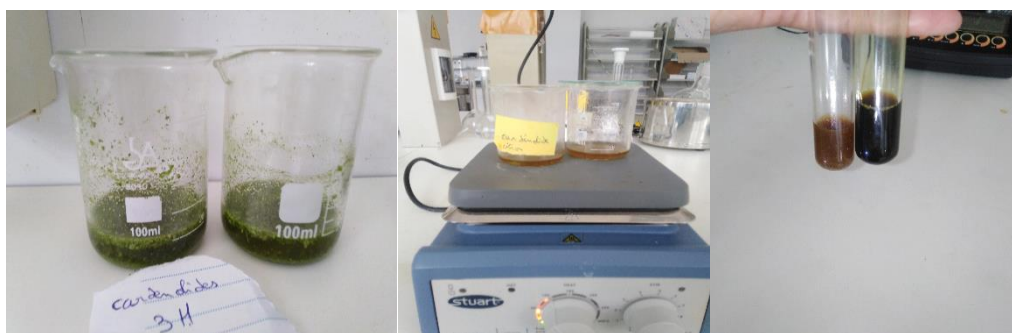


Figure 31: test de cardenolides[Kherici 2023]

III.2.6 Les stérols

Pour réaliser cette procédure, vous devez tout d'abord macérer 1g de poudre sèche dans 20 ml d'éther pendant une durée de 24 heures. Ensuite, vous devez filtrer le mélange pour séparer les particules solides. Une fois filtré, il est nécessaire d'évaporer le solvant, ce qui laisse un résidu. Ce résidu obtenu doit être dissous dans de l'anhydride acétique. Une fois dissous, vous pouvez ajouter de l'acide sulfurique pur à la solution. En présence de ce dernier, des produits stéroluques se forment.

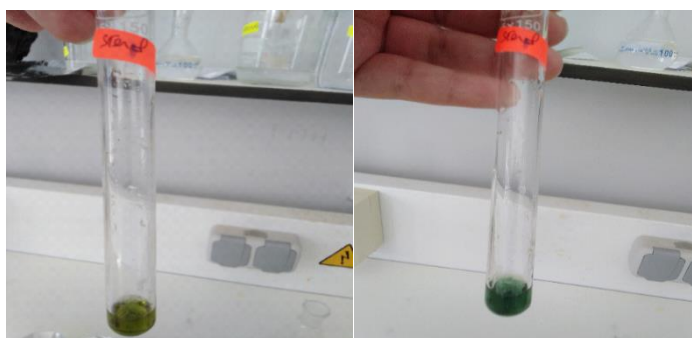


Figure 32: Test de stérols[Kherici 2023]

III.2.7 Les huiles volatiles :

Macérer 10g de la poudre dans 40ml d'eau distillée avec agitation constante 30mn. L'extrait est filtré. 2 ml du filtrat sont secoués avec 0,1ml de NaOH dilué et une petite quantité de HCl dilué un précipité blanc est formé avec les huiles volatiles.

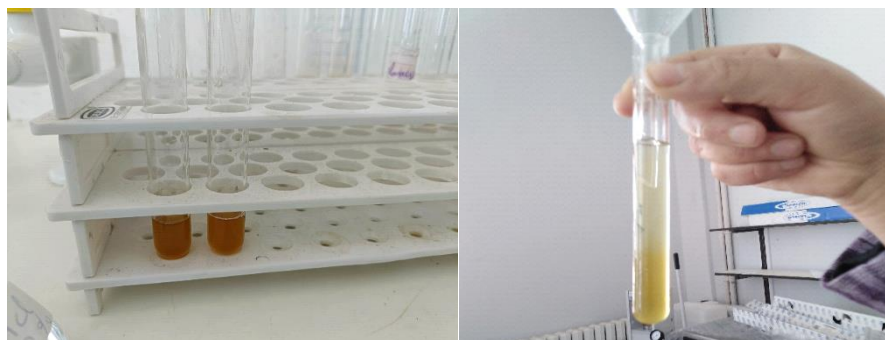


Figure 33: Test des huiles volatiles [Kherici 2023]

III.2.8 Quinones

1g de poudre broyé est placé dans un tube avec 15 à 30ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24h. L'extrait est filtré puis concentré au Rotavapeur. La présence des quinones est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH.

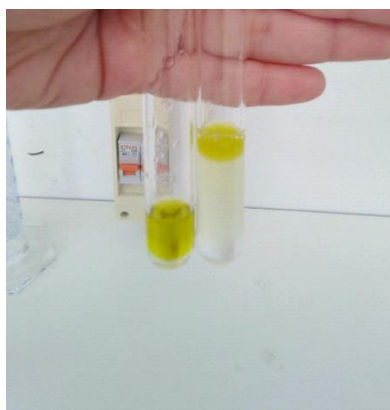


Figure 34: Test de quinones [Kherici 2023]

III.3 Analyse physico chimique d'huile essentielle des feuilles du citron

III.3.1 Extraction des huiles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée précédemment, avant l'année dernière, à l'aide d'un hydro-distillateur. Nous avons choisi de nous concentrer sur les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles. Cela signifie que nous avons effectué des analyses pour évaluer des aspects tels que, l'indice de réfraction, l'indice d'acidité, etc.



Figure 35: Méthode d'extraction d'huile essentielle [Kherici 2023]

III.3.2 Caractères chimique

III.3.2.1 Indice d'acide :

Pesez 2 g d'huile, ajoutez 5 ml d'éthanol à 95% et 5 gouttes de phénolphaléine. Ensuite, neutralisez progressivement avec une solution éthanolique de KOH jusqu'à obtenir une couleur rose persistante

Méthode de calcul : L'indice d'acide est calculé selon la formule.

$$I_A = \frac{56,11 \cdot V \cdot N}{P} \quad (\text{mg de KOH / g d'huile}) \quad (1)$$

V: volume en millilitres d'hydroxyde de potassium utilisé. **P:** masse de l'échantillon exprimé en gramme. **56,11:** masse molaire, exprimée en g/mole, d'hydroxyde de potassium. **N :** normalité de la solution de potasse (0,1N)



Figure 36: L'indice d'acide [Kherici 2023]

III.3.2.2 Indice de saponification

Peser 2 grammes d'huile et les placer dans un ballon. Ajoutez ensuite 25 ml de potasse alcoolique (KOH) de concentration **0,5 mol/l** et faites bouillir le mélange pendant une heure. Après refroidissement, ajoutez quelques gouttes de phénophtaléine comme indicateur coloré. Effectuez ensuite une titration en ajoutant une solution **d'HCl 0,5 N** jusqu'à ce que la couleur rose de la solution disparaisse. Cela indiquera la fin de la réaction de neutralisation.

Méthode de calcul : L'indice de saponification est donné par la formule établie ci-dessous :

$$I_s = \frac{V_0 - V}{P} \times N \times 56,11 \quad (2)$$

V₀ : volume en ml de HCl utilisé pour l'essai à blanc. **V** : volume en ml de HCl utilisé pour l'échantillon à analyser : prise d'essai en grammes. **N** : normalité de KOH(0,5). 56,11 : poids moléculaire de KOH.



Figure 37: L'indice de saponification [Kherici 2023]

III.3.2.3 Indice de peroxyde:

Peser 2 grammes d'huile dans un flacon. Ajoutez ensuite 10 ml de chloroforme et agitez vigoureusement jusqu'à dissolution complète. Ensuite, ajoutez 15 ml d'acide acétique et 1 ml de solution d'iodure de potassium. Bouchez le flacon et agitez pendant 1 minute. Après 5 minutes d'incubation à l'abri de la lumière, ajoutez 75 ml d'eau distillée et agitez à nouveau. Ensuite, titrez l'iode libéré en ajoutant une solution de thiosulfate tout en agitant vigoureusement, en utilisant l'empois d'amidon comme indicateur. Effectuez également un essai à blanc pour déterminer la quantité de réactifs nécessaire sans l'huile.

Méthode de calcul : L'indice de peroxyde est donné par la relation suivante :

$$I_p = \frac{(V_2 - V_1)}{m} \times N \times 1000 \quad (3)$$

V_1 : est le volume de thiosulfate de sodium nécessaire pour l'essai à blanc en (ml). V_2 : est le volume de thiosulfate de sodium nécessaire pour la détermination en (ml). N : la normalité de solution de thiosulfate de sodium utilisée 0,01N. m : la masse de la prise d'essai en gramme.

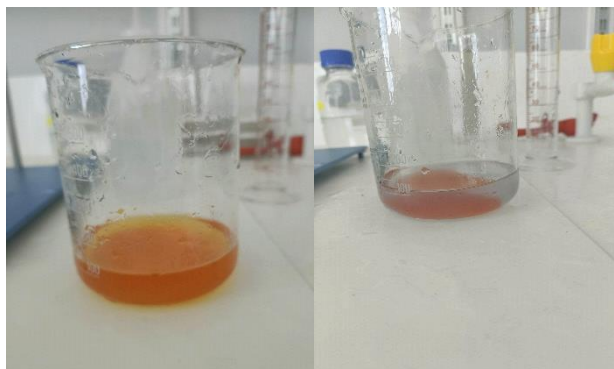


Figure 38: L'indice de peroxyde [Kherici 2023]

III.3.2.4 Indice d'ester

L'indice d'ester d'un corps gras est la quantité de potasse exprimée en milligrammes nécessaire pour saponifier les acides gras combinés présentant 1 gramme de corps gras. Il est donné par la relation :

$$I_E = I_S - I_A \quad (4)$$

III.3.2.5 Taux d'impuretés

L'altération des corps gras peut être estimée par le calcul du pourcentage d'impuretés obtenu par la relation suivante :

$$\% \text{ d'impuretés} = I_A / I_S \times 100 \quad (5)$$

III.3.2.6 Indice d'iode :

Peser 2 grammes d'huile dans un flacon 250 ml. Ensuite, nous avons ajouté du tétrachlorure de carbone et le réactif de Wijs dans le flacon, puis nous l'avons bien agité et protégé de la lumière en l'enveloppant de papier noir. Après une heure, nous avons ajouté de l'iodure de potassium et de l'eau distillée dans le flacon, puis nous avons réalisé le titrage en utilisant une solution de thiosulfate de sodium. Nous avons ajouté la solution de thiosulfate de sodium goutte à goutte jusqu'à ce que la couleur jaune de l'iodure disparaisse presque, puis nous avons ajouté l'amidon comme indicateur. Nous avons continué le titrage avec la solution de thiosulfate de sodium jusqu'à ce que la couleur bleu violette de l'amidon disparaisse complètement et que la solution devienne transparente, indiquant la fin de la réaction de titrage.

Méthode de calcul : L'indice d'iode est donné par la formule établie ci-dessous.

$$I_I = \frac{V_0 - V}{p} \times 126,9 \times 0,1 \quad (6)$$

V₀ : Volume en (ml) thiosulfate de sodium à (0,1N) nécessaire pour titrer l'essai à blanc. **V :** Volume en (ml) thiosulfate de sodium à (0,1N) nécessaire pour titrer l'échantillon. **P :** Prise d'essai (g) de l'échantillon. **N :** Normalité de la solution de thiosulfate sodium à (0,1N).

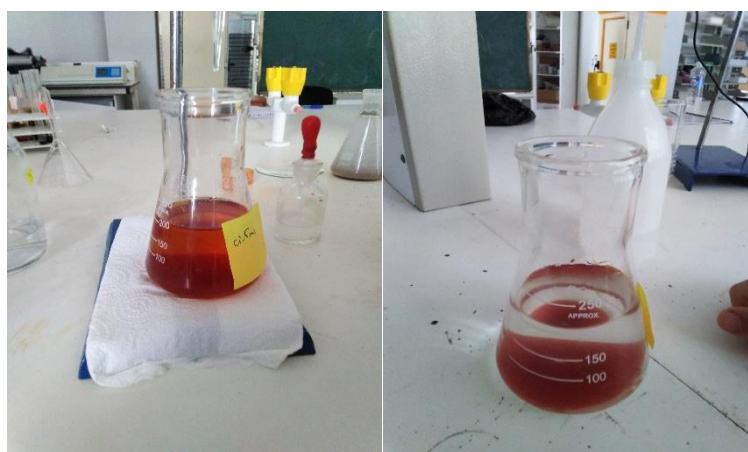


Figure 39: indice d'iode [Kherici 2023]

III.3.2.7 Evaluation de la miscibilité à l'éthanol :

Dans une éprouvette graduée, 1ml d'HE est introduit, l'ensemble est agité magnétiquement, et à l'aide d'une burette graduée de l'éthanol 90% est versé goutte à goutte jusqu'à l'obtention d'un mélange limpide et le volume d'éthanol versé est noté. L'addition graduelle d'éthanol est poursuivie jusqu'à un total de 20ml et si un trouble apparaît avant que le 20ml soient ajoutés. Le volume ayant induit ce trouble est noté.



Figure 40: la miscibilité à l'éthanol [Kherici 2023]

III.3.2.8 Indice de Potentiel d'hydrogène (pH)

On mesure pH par Papiers indicateurs LMR en rouleaux

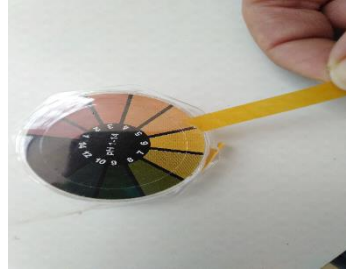


Figure 41: papier Ph [Kherici 2023]

III.3.3 Caractères physiques

III.3.3.1 Indice de réfraction :

- Nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant du papier Joseph. Etalonner l'appareil avec l'eau distillée dont l'indice de réfraction est égal à 1,333. Déposer quelques gouttes d'huile dans la lame de réfractomètre (**Réfractomètre d'Abbe 1T/ 4T**) et régler le cercle de chambre sombre et clair dans la moitié et effectuer la lecture en tenant compte de la température.

Méthode de calcul $n_d^{20} = n_d^t + 0,00035(t - 20)$



Figure 42: indice de réfraction[Kherici 2023]

III.4 L'activité antioxydant :

Les analyses de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) ont été réalisées au laboratoire privé Horizon. Cette méthode est utilisée pour évaluer l'activité antioxydant d'un échantillon.

III.4.1 Extrait méthanolique

L'extrait a été réalisée selon la méthode décrite par 5 g de poudre citrus limon été macères dans méthanol 100 % pendant 24 heures avec un volume de méthanol équivalant a 10 fois le poids de la poudre utilisée (50 ml de MeOH) .après 24 heure ,la macération citrus limon été filtrée pour obtenir des extraits méthanoïque . Ces extraits ont évapore

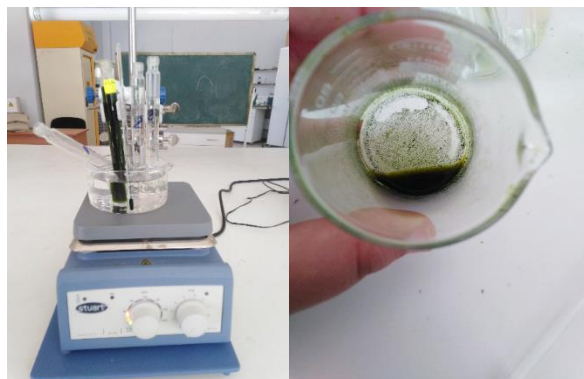


Figure 43: Extrait méthanoïque

III.4.2 Test de la réduction du fer FRAP

La puissance antioxydante réductrice ferrique, dans les extraits méthanoïques, est déterminée selon la méthode décrite par **Nabila bougandoura et al. [42]** Elle est basée sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) par les antioxydants qui donnent une couleur bleue selon la réaction suivante :



RH : Substance active antioxydant.

R^{\bullet} : Substance active oxydée.

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 0,007 à 2,5mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction et les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote

(2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés [43]

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV. Résultat et discussion :

IV.1 Interprétation du screening photochimique :

Les tests photochimiques ont été réalisés sur Les feuillies de citron en utilisant des réactifs spécifiques de révélation basés sur des réactions de précipitation et ou un changement de couleur spécifique. Les résultats expérimentaux du criblage photochimique sont mentionnés dans

le tableau 1

Tableau 1 :résultat des tests phytochimiques

Principe active	Réactive	Couleur	Résultat
Les alcaloïdes	HCl+réactif de Mayer	(changement de couleur) vert clair	+
Les saponosides (test de mousse)	Décoction eau distillé	Une mousse alvéolaire	+
Les flavonoïdes	HCl+NH ₄ OH	jaune claire dans la partie supérieure du tube	+
Les tannins	MeOH, FeCl ₃	(changement de couleur)Vert très fonce	+
Les cardénolides	CHCl ₃ , C ₂ H ₅ OH, CH ₃ COOH, H ₂ SO ₄	(changement de couleur) Marron très fonce	+
Les stérols	C ₄ H ₆ O ₃ , H ₂ SO ₄	(changement de couleur) couleur vert-bleu	+
Huiles volatiles	NaOH+HCl	un précipité est formé avec les huiles volatiles	+
Quinones	Ether de pétrole, NaOH	la phase aqueuse vire au jaune rouge ou violet	+

+ : Présence / - : Absence

Chapitre IV : Résultats et discussions

Le test photochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de principes actifs au niveau des tissus végétaux de notre plante : les tanins, les saponosides, les flavonoïdes et les cardénolides. La présence de ces principes actifs au niveau de notre plante étudiée expliquent leur pouvoir thérapeutique. Effectivement, les tanins, les flavonoïdes, les saponosides et stérols possèdent plusieurs propriétés bénéfiques notamment antimicrobiennes, anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et bien d'autres [44].

IV.2 Extraction d'huile essentiel

IV.3 Caractérisation organoleptique en huile essentielle et eau florale :

L'huile essentielle de **Citron** est extraite par la technique d'hydrodistillation a l'aspect d'un liquide d'une coloration **Verte** claire est **une odeur fort** les résultats obtenu on **huile essentielle et eau florale** sont représenté dans le tableau suivant :

Tableau : 2 : Caractérisation organoleptique en huile essentielle et eau floral

Matière sèche	Couleur	Odeur	aspect
Huile essentielle	Jaune citronné	Fraiche zestée	Liquide mobile
Eau florale	Verte	Forte odeur	Liquide

Les paramètres **organoleptique en huile essentielle** sont conformes avec ceux représenté dans les normes (AFNOR) [44].

IV.4 Calcul du rendement :

La première quantification à faire est celle de rendement en huile essentielle obtenu par la technique l'hydrodistillation. Ce rendement (**tableau 03**) est calculer a partir du poids de huile essentielle par rapport au poids sec de la masse végétale utilise dans l'hydro-distillateur soit :

Tableau 3: Rendement en huiles essentielle du citron.

Echantillon	Poids de matière	Durée	Rendement
Feuille	25g	2h	0.54%

IV.5 Caractérisation en huile essentielle

IV.5.1 Caractéristiques Chimiques

Les résultats des analyses des indices d'acidité (Ia), d'iode (Io), de saponification (Is) et de peroxyde (Ip) d'huile sont consignés dans le tableau 4

Tableau 4: résultats de caractérisation en huile essentielle

Différents indices	Unité	Valeur	Norme	
			Afnor / codex	Norme de la Pharmacopée Française (11ème éd)
pH	/	6	Acide faible	4-6
Indice d'Acidité	mg KOH/g d'huile	0,84	0.5-3.00	<1
Indice de Saponification	(mg KOH/g d'huile)	78,554	186-195	Non cite
Indice d'ester	mg KOH/g d'huile)	77,71	186-187,94	Non cite
Indice d'Iode	g I/100g ² O ₂ /g d'huile	79,947	104-120	Non cite
Indice de Peroxyde	meq O/kg ²	9	< 10,0	< 20

IV.5.1.1 pH

Le pH de l'huile essentielle, tel qu'indiqué dans le tableau 3, est conforme à la norme de qualité qui recommande une plage de pH de 4 à 6. Cela suggère que l'huile essentielle présente un niveau d'acidité acceptable et est compatible avec la peau. Le maintien d'un pH équilibré est important pour assurer la stabilité et l'efficacité des produits à base d'huile essentielle.

IV.5.1.2 Indice d'acide

Les résultats obtenus pour l'indice d'acide de l'huile de citron sont de 0,84 mg KOH/g d'huile, ce qui est inférieur à la valeur maximale recommandée par la norme (1 mg KOH/g d'huile) [45]. Cela indique que l'huile de citron présente une faible acidité, ce qui est un signe de pureté et de stabilité. Une faible acidité est généralement souhaitable car elle indique que l'huile n'est pas altérée et conserve sa qualité. Une acidité élevée peut résulter de la dégradation de l'huile due à des conditions de stockage inappropriées, à l'oxydation ou à une contamination.

IV.5.1.3 Indice de saponification

L'indice de saponification de l'huile de citron est de 78,554 mg de KOH/g d'huile, une valeur inférieure à la plage recommandée par la norme (Codex STAN210-1999) [45] qui se situe entre (186-195 mg de KOH/g d'huile)

L'indice de saponification est une mesure de la quantité de base nécessaire pour transformer les acides gras d'un corps gras en savon. Une faible valeur d'indice de saponification suggère que l'huile de citron ne réagit pas de manière satisfaisante lors du processus de saponification et n'est donc pas adaptée à la fabrication de savon.

Cependant, il est important de noter que cette faible valeur d'indice de saponification n'a pas d'incidence sur l'utilisation alimentaire de l'huile de citron. Elle peut être utilisée en toute sécurité en cuisine et dans des produits alimentaires.

IV.5.1.4 Indice d'ester

L'indice d'ester de l'huile de citron, mesuré à 77,71 mg KOH/g d'huile, cette variété spécifique est inférieure à la norme recommandée de 186-187,94 mg de KOH [45]. Cela peut être interprété comme un indicateur de la pureté et de la qualité de l'huile, car un indice d'ester plus bas est généralement préférable. Cela donne une indication de la quantité d'esters présents dans l'huile, qui est le résultat de la réaction des acides gras avec les alcools.

IV.5.1.5 Taux d'impuretés

Quant au taux d'impureté, il est généralement exprimé en pourcentage et représente la quantité de substances indésirables présentes dans l'huile. Un taux d'impureté proche de 1% indique une faible quantité d'impuretés dans l'huile étudiée, ce qui est considéré comme un bon indicateur de pureté.

IV.5.1.6 Indice de peroxyde

C'est un critère très utile pour apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative d'une huile. La valeur de l'indice de peroxyde trouvée dans cette étude est 9 m_{eq} O₂/kg d'huile. Cette valeur est inférieure à 20 m_{eq} O₂/kg, maximum requis par les normes [46].

IV.5.1.7 Indice d'iode

Dans notre étude, l'huile de citrus limon présente un indice d'iode de 79,947 g I₂/100 g d'huile, ce qui la classe parmi les huiles non siccatives. Cette valeur est similaire à celle des huiles d'olive, d'arachide et de ricin [47].

Chapitre IV : Résultats et discussions

L'indice d'iode est utilisé pour évaluer le degré d'insaturation des acides gras dans une huile et sa sensibilité à l'oxydation. Plus l'huile est insaturée, plus son indice d'iode est élevé.

La faible valeur de l'indice d'iode de l'huile de citrus limon indique une concentration réduite en acides gras insaturés. Par conséquent, cette huile est moins susceptible de s'oxyder et peut être conservée sans risque majeur d'auto-oxydation.

IV.5.1.8 Miscibilité à l'éthanol

L'huile de citrus limon présente une miscibilité avec l'éthanol dans une plage de valeurs de 6,5 à 7 ml. Avant d'atteindre cette quantité d'éthanol, le mélange peut rester trouble, mais une fois la valeur de miscibilité atteinte, le mélange devient limpide et homogène.

Cela peut avoir des implications pratiques, par exemple dans le domaine de la formulation de produits cosmétiques ou pharmaceutiques, où la miscibilité des ingrédients est un facteur important à prendre en compte pour obtenir des mélanges homogènes.

IV.5.2 Caractéristiques Physiques:

IV.5.2.1 Indice de réfraction

La valeur de l'indice de réfraction de l'huile de citron (1,473) est comprise dans la fourchette établie par [45]. Cette valeur se rapproche plus ou moins des indices de réfraction de l'huile végétale de *Griffonia simplicifolia* (1,470 – 1,473) **Kosi Mawuéna novidzro et al. [48]**. Considéré comme un critère de pureté d'une huile. Il varie en fonction de la longueur d'onde de la lumière incidente ainsi qu'en fonction de la température à laquelle l'analyse se fait. Cet indice est proportionnel au poids moléculaire des acides gras ainsi qu'à leur degré d'insaturation.

Tableau 5 : Caractéristiques Physiques d'huile essentiel

Différents indices	Unité	Valeur	Norme	
			Afnor 2000/ codex	Norme
Indice de réfraction	$n_d^{20} \text{ } ^\circ\text{C}$	1.4773	1,461 – [1,468] ou [1,475]	1.464 à 1.473

IV.6 Activité antioxydant

IV.6.1 Test de la réduction du fer FRAP :

Le test de réduction du fer a été effectué pour mesurer l'activité antioxydant des extraits méthanoïques de *citron*. La présence des réducteurs dans les extraits a donc provoqué la réduction de l'ion Fe^{3+} (complexé) en ion Fe^{2+} . Les résultats obtenus sont présentés sur la Figure 44.

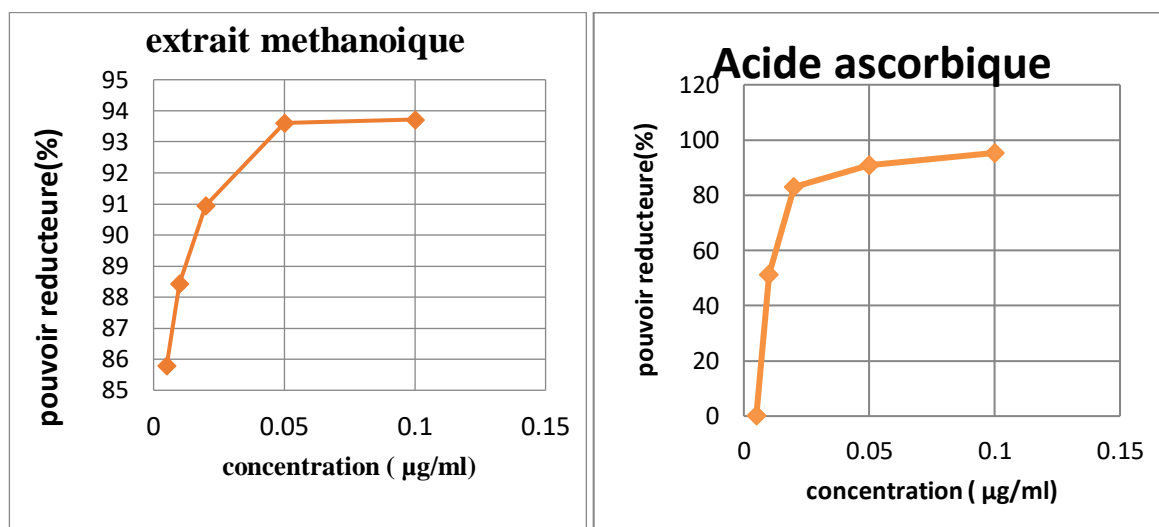


Figure 44 : Pouvoir réducteur d'extraits méthanoïques des feuilles **Figure 45:** Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

La figure 44 et 45 présente les résultats du pouvoir réducteur de l'extrait méthanoïque des feuilles et de l'acide ascorbique à différentes concentrations. Cela suggère que la capacité de l'extrait à réduire les substances oxydantes diminue progressivement avec la dilution. Cette information est importante pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait méthanoïque des feuilles et peut avoir des implications dans divers domaines, tels que la recherche sur les composés antioxydants et le développement de produits à base de plantes dotés de propriétés antioxydantes.

3.1.1. Détermination des EC_{50} :

Le tableau ci-dessous montre les résultats de mesure de EC_{50} de l'extrait méthanoïque et de l'acide ascorbique.

Tableau 6: EC_{50} des extraits méthanoïques et de l'acide ascorbique.

	Extrait	l'acide ascorbique
EC_{50}	21.032	96.11

Chapitre IV : Résultats et discussions

Les résultats du tableau n°6 indiquent que l'acide ascorbique présente une activité réductrice du fer supérieure aux extraits de méthanoïque. Cette différence peut être attribuée à la structure chimique de l'acide ascorbique et à ses propriétés réactives. L'activité réductrice du fer est importante pour divers processus biologiques, tels que l'absorption du fer et la protection contre les radicaux libres. Les extraits de méthanoïque montrent une activité réductrice du fer moins prononcée. Toutefois, il est essentiel de considérer ces résultats dans le contexte spécifique de l'étude, en tenant compte de facteurs tels que la concentration des extraits et les méthodes d'analyse utilisées. En résumé, l'acide ascorbique se distingue par sa capacité élevée à réduire le fer, ce qui souligne son potentiel dans diverses applications pharmacologiques et nutritionnelles liées au métabolisme du fer [49].

Conclusion

Conclusion

En conclusion, cette étude sur le citron a permis de caractériser l'huile essentielle de la plante, d'identifier ses composants chimiques et de déterminer ses propriétés physico-chimiques. Les résultats ont révélé des caractéristiques satisfaisantes de l'huile de citron, telles qu'un faible indice d'acidité, un indice de peroxyde et un indice d'iode dans des plages acceptables. De plus, l'activité antioxydant du citron a été démontrée par la méthode FRAP, ce qui souligne son potentiel à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène et à prévenir les dommages oxydatifs. Ces découvertes contribuent à la compréhension des propriétés bénéfiques du citron en tant que plante médicinale et source d'antioxydants naturels. Des recherches futures pourraient explorer davantage les applications potentielles du citron dans le domaine de la santé et de la nutrition.

Références

Références

- [1] Doukani.k & tabak.S (2017) , profil phytochimique de quelques espèces de *citrus* (*c. Aurantium*, *c. Sinensis* et *c. Limonum*). Revue écologie-environnement (13) : 2017issn: 1112-5888
- [2] Morton . J (1987), Lemon. In: Fruits of warm climates. Julia F. Morton, Miami, FL. Retrieved from <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/lemon.html>, ISBN: 0-9610184-1-0, Distributed by Creative Resource Systems, Inc. Box 890, Winterville, N.C. 28590
- [3] Garg.S, Mehta.S. (2011). Lemons: A rich source of essential oils and their applications. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences, 2(4), 633-641.
- [4] Moosavy. M.H ,Hassanzadeh. P , Mohammadzadeh.E , Mahmoudi. R , Khatibi. S.A , Mardani. K. (2017), Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oil of Lemon (*Citrus limon*) Peel in Vitro and in a Food Model, Journal of Food Quality and Hazards Control 4 (2017) 42-48
- [5] Duval. C (2016) , le secret des mots ,tomeII la cuisine , Éditeur : TheBookEdition.com, ISBN : 9782954696829 , p 80 .
- [6] Rocca Sarra .D.De , Ollitrault. P(1992), L'amélioration des agrumes : I- Les ressources génétiques , Vol. 47 n.spec. Agrumes ,p 115 .
<https://revues.cirad.fr/index.php/fruits/article/view/35347/35765>
- [7]Kara. M (2018), les agrumes ,mes cours (Cour en ligne) , <https://docplayer.fr/144922826-Les-agrumes-kara-mohamed.html>
- [8] Curk. F, Luro. F , Ollitrault. P. (2019), Les plantes en voyage « L'expédition des Hespérides, ou comment les agrumes ont conquis le monde », Société Nationale d'Horticulture de France ,https://www.researchgate.net/publication/340166308_L'expedition_des_Hesperides_ou_comment_les_agrumes_ont_conquis_le_monde
- [9] Liu.Y , Heying.E , & Tanumihardjo. S. A. (2012). History, Global Distribution, and Nutritional Importance of Citrus Fruits. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 11(6), 530–545. doi:10.1111/j.1541-4337.2012.00201
- [10] Ledesma-Escobar.C.A , Priego-Capote.F , & Luque de Castro.M. D (2015). Characterization of lemon (*Citrus limon*) polar extract by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in high resolution mode. Journal of Mass Spectrometry, 50(11), 1196–1205. doi:10.1002/jms.3637
- [11]Thilili.O &Yamina.S(2017), Evaluation in vitro des activités antioxydante et anti inflammatoire des huiles essentielles de l'écorce de *Citrus limon*. Mémoire de Fin de Cycle En vue de l'obtention du diplôme MASTER, Université A. MIRA - Bejaia Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Références

Département de Biologie Physico-Chimique. Filière: Sciences Biologiques. Option: Pharmacologie Moléculaire.

[12] les dossiers de fruittrop (2014), les agrumes « **principales variétés d'agrumes** », publié par l'Observatoire des Marchés du CIRAD,n°227 , <https://agritrop.cirad.fr/575343/1/ID575343.pdf>

[13] bien manger ,Mandarines Satsuma bio(2018), bien manger « epicerie fine et cadeaux gourmands », https://www.bienmanger.com/1F35918_Mandarines_Satsuma_Bio_Italie.html

[14] Leidus. I (2020), Kumquats (from Spain), Wikipedia “the free encyclopedia”, <https://en.wikipedia.org/wiki/Kumquat>

[15] UPOV , Citrus ×limon (L.) Osbeck (CITRU_LIM), Union pour la protection des obtentions végétales(UPOV) , <https://www.upov.int/genie/fr/details.xhtml?cropId=1337>

[16] Ehiobu.J.M , Idamokoro.M.E, & Afolayan.A.J.(2021). Phytochemical content and antioxidant potential of leaf extracts of Citrus limon (L.) Osbeck collected in the Eastern Cape Province, South Africa. South African Journal of Botany, 141, 480–486. doi:10.1016/j.sajb.2021.06.001

[17]fruitrop focus(2013) ,focus citron ,publié par l'Observatoire des Marchés du CIRAD,ISSN1778-9559

[18] Chaaib Kouri. F, Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine Zanthoxylum zanthoxyloides (Lam.) Zepernick et Timler(Syn. Fagara zanthoxyloides L.)(Rutaceae), Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de l'Université de Lausanne, 2004

[19]Tonelli. N, Gallouin. F. (2013),Des fruits et des graines comestibles du monde entier,lavoisier librairie,ISBN :2743064811, 9782743064815

[20] INPN,Citronnier, Citron (Français) ,Citrus x limon (L.) Osbeck, 1765 , Inventaire national du patrimoine naturel, https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/966788/tab/taxo

[21] atlas big , World Lemon Production by Country, <https://www.atlasbig.com/en-us/countries-lemon-production>

[22] production de citron dans le monde, FAOSTAT, <https://www.fao.org/faostat/fr/#data/QCL/visualize>

[23] Khen .O (2014), Erosion génétique des espèces agrumicoles dans la wilaya de Skikda : Contraintes de production, Université 20 Août 1955 Skikda

Références

- [24] Makni.M, Jemai.R, Kriaa.W, Chtourou. Y, & Fetoui.H. (2018). Citrus limon from Tunisia: Phytochemical and Physicochemical Properties and Biological Activities. *BioMed Research International*, 2018, 1–10. doi:10.1155/2018/6251546
- [25] Njoku.P.C , Ayuk .A.A. and Okoye.C.V. Temperature Effects on Vitamin C Content in Citrus Fruits *Pakistan Journal of Nutrition* 10 (12): 1168-1169, 2011ISSN 1680-5194
- [26] G.K. Jayaprakasha, Bhimanagouda S (2011). Patil In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange *Food Chemistry* Volume 101, Issue 1, 2007, Pages 410-418
- [27] Gorinstein.S, Martín-Belloso.O, Park.Y.S, Haruenkit.R, Lojek.A., Číž.M, Caspi.A, I.Libman and Trakhtenberg.S (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*, 74(3), 309–315. doi:10.1016/s0308-8146(01)00157-1
- [28]Bouzouita.N, Kachouri.F ,Ben Halima.M, Chaabouni M.M(2018), Composition chimique et activités antioxydant ,antimicrobienne et insecticide de huile essentielle de *Juniperus phœnicea*, *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, , 10, 119-125
- [29] Ben Seddik.Kh .Z , Ben Seddik.M.O(2021), L'effet de méthode d'extraction sur la production d'huiles essentielles à partir de *citrus aurantium* (région de Ghardaïa), Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Master , Université de Ghardaïa, Faculté des Sciences et de la Technologie, Département de Génie des Procédés.
- [30]Yaacoub.R, Tlidjane.I(2018), Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de *Cuminum cyminum* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. extraite par hydrodistillation et CO2 supercritique : Etude comparative, mémoire de diplôme master en génie chimique , Université Larbi Ben M'hidi oum EL , faculte des sciences et des sciences application , departement des génie des procédés
- [31] Tongnuanchan.P, & Benjakul.S (2014). Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 79(7), R1231–R1249. doi:10.1111/1750-3841.12492.
- [32] Amorati.R., Foti.M.C, & Valgimigli.L (2013). Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10835–10847. doi:10.1021/jf403496k .
- [33]Mutlu-Ingok.A, Devecioglu.D, DikmetasD.N, Karbancioglu-Guler.F, & Capanoglu.E. (2020). Antibacterial, Antifungal, Antimycotoxigenic, and Antioxidant Activities of Essential Oils: An Updated Review. *Molecules*, 25(20), 4711. doi:10.3390/molecules25204711.

Références

- [34] Khellaf .N. E (2017), Effet des propriétés physicochimiques et du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de Zingiber officinale « Formes Fraiche et Séchée », Mémoire de fin d'études de master agronomie, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, département d'agronomie .
- [35] Schmidt.E (2010) ,chapter 4 Production of Essential Oils , Handbook of essential oils: science, technology, and applications / ed. by K.Hüsni C.Başer, G.Buchbauer. - Boca Raton; London; New York: CRC Press/Taylor & Francis, ISBN 978-1-4200-6315-8 .
- [36] Moro .A,Camprini.D (AdV L'Arca, Ravenna), Salvia verbenaca L. https://dryades.units.it/asinara/index.php?procedure=taxon_page&id=4678&num=3388.
- [37]Aiguille de Pin (coupe transversale)(2016), https://www.nirgal.net/microscopie/aiguille_pin_vue_generale.html.
- [38] ORANGE JASMINE FRUITING (2010), Jim Conrad's Naturalist Newsletter, <https://www.backyardnature.net/yucatan/murraya.htm>.
- [39] Armstrong.W(2002) Hesperidiums Of The Rutaceae, Economic Plant Photographs #6, <https://www.waynesword.net/ecoph6.htm>.
- [40] Tisserand, R., & Young, R. (2014). Essential Oil Safety: professionals, Churchill Livingstone, ISBN: 0443062412 / 978-0443062414.
- [41] Price.L, & Price.S (2012),Aromatherapy for Health Professionals (4th ed.). Churchill Livingstone. ISBN-13. 978-0702035647.
- [42] Bougandoura.N, Bendimerad .N(2013),Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de Satureja calamintha ssp.Nepeta (L.) Briq. Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09/Juin 2013. Pages 14 à 19.
- [43] Ben Moussa.M.T , Cherif.R.A, Lekhal.S, Bounab.A, HadeF.Y(2022) , Dosage des composés phénoliques et détermination de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de Brocchia cinerea VIS de l'Algérie (Sud-Est). Algerian journal of pharmacy.Vol. 04 Num. 01 2602–975X .
- [44] Monographie relative aux huiles essentielles .Ed. AFNOR, Paris. Annales de IINRGREF (2011) , 15, numéro spécial , 201-213 ISSN 1737-0515.
- [45]Codex stan 210-1999 .adoptée en 1999. révisée en 2001, 2003, 2009, 2017. Amendée en 2005, 2011, 2013, 2015. norme pour les huiles végétales portant un nom spécifique.

Références

[46] La Pharmacopée européenne, 11ème édition (2015) NOR : AFSM1514099V.

[47] Kouame.N., Soro. K., Mangara. A., Diarrassouba.N., Koulibaly.A., & Boraud.N. (2015). Étude physico-chimique de sept (7) plantes spontanées alimentaires du centre-ouest de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*,90:8450 – 8463 ISSN 1997–5902<http://dx.doi.org/10.4314/jab.v90i1.12>.

[48] Novidzro. K. M, Wokpor. K, Fagla.B. A., Koudouvo.K., Dotse.K., Osseyi.E., & Koumaglo.K. H. (2019). Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de *Griffonia simplicifolia*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 13(4), 2360. doi:10.4314/ijbcs.v13i4.38.

[49] Benaziza. A(2017), Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydant des extraits de feuilles et de cônes de *Pinus halpensis* (Pin d'Alep). En vue de l'obtention du Diplôme de master en biologie , Université de Tlemcen ,Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers ,Département de Biologie.