



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biologie Animale.. قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Toxicologie*

Intitulé :

Etude du profil lipidique et de la masse pondérale chez le rat recevant un régime hyper lipidique supplémenté de l'huile essentielle de citron

Présenté et soutenu par :

Le :04/09/2019

Gueracheha Meriem et Boutabsou Asma

Jury d'évaluation :

Président du jury : ZAMA Djamila(Prof- UFM Constantine 1).

Rapporteur :DALICHAUCHE Souhaila (MCA- USB Constantine 3).

Examineurs :BOULDJADJ Redouane(MAA- UFM Constantine1).

LATRECHE Aicha(MCD- AM Constantine 2).

***Année universitaire
2018- 2019***

Remerciements

Au terme de notre travail, nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères au bon dieu pour la patience et la santé qui nous ont été utiles tout au long de notre parcours.

Nous exprimons d'abord les grands remerciements et notre profonde reconnaissance à Mme DalichaouchSouheila, qui a encadré et dirigé ce travail depuis les premiers instants. Nous le remercions pour son sérieux et ses efforts. Afin de nous aider, de nous conseiller et de nous orienter son ouverture d'esprit et sa vision de la recherche scientifique, ont été importants pour nous que ses connaissances scientifiques et ont largement contribué à l'évolution de cette étude. Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Mme Zama Djamila pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions également Mr BouldjadjRedouane et Mme Latreche Aicha pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'avoir acceptés d'examiner et d'évaluer notre travail.

On tient à remercier tout le personnel de laboratoire de pharmacognosie USB Faculté de Médecine, Université Constantine3.

Nos remerciements vont également à tous les enseignants et tous les responsables de la faculté de sciences de la nature et de la vie.

Enfin, on remercie profondément nos chers parents pour leur soutien moral et matériel durant nos études ainsi que toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Mériem et Asma

Dédicaces

J'ai l'honneur et le plaisir de dédier ce modeste travail à :

La mémoire de ma très chère grand-mère pour qui je serai éternellement reconnaissante de m'avoir donnée son amour et affection que Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

A vous lumière de ma vie, le plus beau don de dieu, avec vous je partage le plus sacré bien Spirituel et affectif : mes parents ; que dieu vous garde.

A mes adorables frères : Soumeya, Hamza et Rabeli qui étaient toujours à mes côtés que dieu le bénisse et lui prêt une vie pleine de bonheur et de prospérité

A mes tantes et oncles

A mes cousins et cousines

A mes amis Saida et Nour El Houda

A ma collègue Assma et sa famille

A toute la promotion de toxicology

En fin à toute personne qui n'est chère au cœur

Mérim

Dédicace

J'ai l'honneur et le plaisir de dédier ce modeste travail à :

A mon père et ma mère qui n'ont toujours soutenu et à l'intérêt qu'ils ont toujours portés pour mes études que dieu protège.

A mes sœurs et frères qui étaient toujours à mes cotés

A mon marie pour ses encouragements et surtout pour sa patience et sa compréhension

A ma belle famille

A mes ancles et tantes

A ma collègue Mériem et sa famille

A mes collègues de travail

A toute la promotion de toxicology

A toute personne qui n'est chère au coeur

Asma

SOMMAIRE

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1
Chapitre I : Partie bibliographique	
I. Les agrumes	3
I.1. Le citronnier	3
I.1.1. Les Feuilles	3
I.1.2. Les Fleurs	4
I.4. Les Fruits	4
I.2. Classification	5
I.3. Variétés du citron	5
I.4. Structure du citron	6
I.4.1. L'écorce ou le péricarpe	6
I.4.2. Le pulpe ou l'endocarpe	7
I.5. Composition chimique et valeur nutritionnelle	7
I.6. Production	7
I.7. Utilisation et effets thérapeutiques	9
II. Les huiles essentielles	11
II.1. Définition	11
II.2. Répartition des huiles essentielles dans la plante	11
III. Procédés d'extraction des huiles essentielles	12
IV. Méthodes d'analyse des huiles essentielles	16
V. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles	18
VI. Composition et facteurs de variabilité des huiles essentielles : Notion de chémotype	20
VII. Toxicité des huiles essentielles	22
VIII. Control de qualité	24

IX.Utilisation des huiles essentielles : L'aromathérapie.....	24
X.Les activités biologiques des huiles essentielles.....	26

Chapitre II : Matériels et méthode

I.Matériel végétal	28
I.1.Methode d'extraction de l'HE du citron	29
I.2.Analyses physico-chimiques.....	32
I.2.1.Rendement.....	32
I.2.2.pH.....	32
II.Matériels animal	33
II.1. Préparation des rats.....	33
II.2.Répartition des rats.....	33
III Régime alimentaire	33
III.3.1.Régime standard	33
III.3.2.Régime induction de l'obésité : régime hyper lipidique	34
IV.Aministration de l'HE du citron.....	36
V.Paramètres mesurés pendant l'expérimentation.....	36
V.1.Suivi du poids corporel des rats	36
V.2.Suivi de la circonférence abdominale	37
VI3.Thecniques d'analyse des paramètres sanguins.....	37
VII3.1.Prélèvement du sang	37
VII3.2.Dosage de la cholestérolémie	38
VII3.3.Dosage destriglycérides	39
VIII Analyses statistiques	40

Chapitre III: Résultat et discussion

I.Les caractéristiques organoleptiques de l'HE de citron	43
II.Analyse physico-chimique	43
III Etude des effets anti-obésogène de l'HE de citron	43
III.1.Etude des effets de l'HE de citron sur le poids corporel.....	43
III.2.Etude des effets de l'HE de citron sur la CA	45

IV.Etude des effets de l'HE de citron sur les paramètres biochimiques du sang	46
IV.1.Etude des effets de l'HE de citron sur le cholestérol total	46
IV.2.Etude des effets de l'HE de citron sur le HDL cholestérol	47
IV.3.Etude des effets de l'HE de citron sur les triglycérides	47
V .Discussion	49

ChapitreIV: Conclusion

IV.Conclusion	53
V.Références bibliographiques	54

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Feuilles, fleurs et fruits de citron	3
2	Les Feuilles de citron	3
3	Les Fleurs de citron	4
4	Les fruits du citron	4
7	Caractéristiques morphologiques d'un citron	6
8	Evolution de la production nationale de citron	8
9	Evolution de la production mondiale de citron	8
10	Les premier pays producteurs de citron et lime au monde	9
11	Schéma du montage de l'hydro distillation	12
12	Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau	13
13	Montage de l'hyrodiffusion	13
14	Expression à froid des agrumes	14
15	Montage d'extraction par solvant volatil	15
16	Hydro distillation assisté par micro- ondes	15
17	Montage d'extraction par CO2 supercritique	16
18	Appareillage pour une CPG	17
19	Chambre à développement à cuve verticale et plaque de CCM	17
20	Schéma de couplage CPG/SM	18
21	Citrus Limon (L) Burn.F	26
22	Préparation du matériel végétal pour l'extraction	26
23	Montage pour l'hydro distillation	27

24	Diagramme de préparation de l'huile essentielle de citron	28
25	Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger	28
26	Etapes d'obtention d'huile essentielle de citron	29
27	Rat femelle (<i>Rattus norvegicus</i>)	30
28	Administration de l'huile de palme par gavage intra gastrique chez le rat	31
29	Lots des rats témoins normaux	32
30	Lots des rats recevaient le régime hyper lipidique	32
31	Lot des rats recevaient le régime hyper lipidique traité avec l'HE de citron	32
32	Administration d'HE de citron chez le rat	33
33	Mesure du poids corporel des rats	33
34	Mesure de la circonférence abdominale des rats	34
35	Prélèvement du sang au niveau du sinus retro-orbital	34
36	Variation de poids corporel chez les groupes Rt, Rh et Rh HE	41
37	Evolution du poids corporels chez les groupes Rt, Rh et Rh HE	41
38	Les variations des valeurs de la CA chez les groupes Rt, Rh et Rh HE	42
39	Evolution de la circonférence abdominale chez les groupes Rt, Rh et Rh HE	42
40	Concentration plasmatique de cholestérol total chez les Rt, Rh et Rh HE	43
41	Concentration plasmatique de HDL-cholestérol chez les Rt, Rh et Rh HE	44
42	Concentration plasmatique des triglycérides chez les Rt, Rh et Rh HE	45

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Caractéristiques des variétés du citron	5
2	Les plus courantes variétés du citron sur les marchés	6
3	Composition chimique et valeurs nutritionnels	7
4	Exemple des huiles essentielles issues de différentes parties de la plante	11
5	Valeurs de densité de certaines huiles essentielles	19
6	Valeurs d'indice de réfraction de certaines huiles essentielles	20
7	Conditions opératoires d'hydro distillation	27
8	Composition du régime alimentaire standard chez le rat en % pondéraux	31
9	Méthode de dosage du cholestérol total	35
10	Méthode de dosage des triglycérides	37
11	Propriétés organoléptiques de l'huile essentielle du citron	40
12	Résultats d'analyses physico-chimiques de l'huile essentielle du citron	40
13	Variations des valeurs du poids corporel chez les rats Rt, Rh et Rh HE	40
14	Variations des valeurs de la CA chez Rt, Rh et Rh HE	42
15	Concentration plasmatique du cholestérol total chez Rt, Rh et Rh HE	43
16	Concentration plasmatique du HDL—cholestérol chez Rt, Rh et Rh HE	44
17	Concentration plasmatique des triglycérides chez Rt, Rh et Rh HE	44

Liste des abréviations

ACAT : Acyl-CoA cholestérol Acyl Transférase	HDL : Lipoprotéine de forte
AFNOR : Association française de normalisation	HEC : Huile essentielle du citron
AGPI : Acides gras polyinsaturés	ip : Intra péritonéale
AGS : Acides gras saturés	I_R²⁰ : Indice de réfraction
4-AP : 4 Aminophénazone	ISO : International standard
apo B : Apolipoprotéine B	Kit : Keep in touch
CA : Circonférence abdominale	LCAT : Lecithin-Cholesterol AcylTr
CCM : Chromatographie sur couche mince	LDL : Lipoprotéine de basse densité
CHE : Cholesteroesterase	LPL : Lipoprotéinlipase
CHOD : Cholesteroxydase	M1 : Masse d'huile essentielle obtenue
CO₂ –sup : Dioxyde de carbone supercritique	M0 : Masse de la matière végétale sèche
COP : Cholestérol peroxydase	MTP : Protéine microsomale de transfert des triglycérides
CPG : Chromatographie en phase gazeuse	PC : Poids corporel
CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse	Pc : pression critique
CT : Cholestérol total	PJ₀ : Poids de premier jour
D.i.i : Degré de liberté	Pj₂₁ : Poids du dernier jour
DL50 : Dose létale médiane	POD : Peroxydase
DOD : Densité optique de dosage	Q_x : Ecart-type
DOE : Densité optique de l'étalon	q : Colonne
FAO : Food and agriculture organisation	RMN : Résonance magnétique nucléaire
GK : Glycérolkinase	Rt : Rats témoin normal
	SM : Spectrométrie de masse

S_m : Erreur standard de la moyenne

S_Q² : Variance standard de la fréquence

SREBP-1C : Stérol regulatory éléments binding protein-1C

Te : Taille de student

R% : Rendement

TG : Triglycérides

tr : Tour

UV : Ultra-violet

V_x : Variance

VLDL : Very low density lipoprotein

\bar{X} : Moyenne

Introduction générale

Introduction

L'obésité problème majeur de santé publique est un trouble métabolique caractérisé par une accumulation excessive de graisse corporelle due à un état de dysrégulation des réserves énergétiques par des facteurs externes (mode de vie, environnement) et/ou internes (psychologiques ou biologiques en particulier génétiques et neuro-hormonaux) (Basdevant et Guy-Grand, 2004) et en grande partie due à l'occidentalisation de l'alimentation (Francis et *al*, 2009). Des données expérimentales et épidermologiques suggèrent une corrélation directe entre la ration lipidique et le degré d'obésité (Ailhaud, 2008).

La prévalence du surpoids et d'obésité a considérablement augmenté au cours des trois dernières décennies. En 2014, l'OMS a signalé que plus de 1.9 milliard (soit 39%) des adultes âgés de 18 ans et plus étaient en surpoids et plus de 600 millions (soit 13%) d'entre eux étaient obèses (Stéphanie et *al*, 2016).

L'Algérie n'est pas épargnée par ce fléau des temps modernes, selon les statistiques sanitaires mondiales 2012, 14.3% des femmes Algériennes âgées de 20 ans et plus sont obèses contre 10.4% d'hommes Algériens obèses (OMS, 2003). En 2012 la prévalence de l'obésité chez les adultes Constantinois est de 30.9%, elle est de 20.8% chez les hommes et 38.3% chez les femmes (Dalichaouch S et *al*, 2015).

L'obésité doit absolument être traitée car elle peut favoriser le développement d'autres pathologies comme le diabète et les cancers. Malheureusement aucun des axes thérapeutiques ne s'est révélé efficace en termes de perte de poids et tous révélant une balance bénéfice/risque défavorable. La recherche de nouveaux traitements anti-obésogènes à base de plantes médicinales ayant des effets secondaires minimes, est actuellement un nouveau défi.

Durant ces deux dernières décennies, la recherche en phytothérapie devient une des plus grandes préoccupations scientifiques (Nyah Njike et *al*, 2005). Depuis toujours, les plantes médicinales ont été utilisées pour prévenir ou traiter diverses maladies, selon des études ethno pharmacologiques plus de 1200 plantes utilisées à travers le monde, en médecine traditionnelle, pour leur activités biologiques (Bisht et *al*, 2010). Dans certaines sociétés traditionnelles non industrialisées (Chine, certains pays Africains et Latins o-Américains), la prise en charge médicamenteuse de pathologies dites chroniques est en grande partie assurée par l'utilisation des plantes médicinales et alimentaires (Zhou et *al*, 2009).

Les huiles essentielles sont l'une des plus renommées de ces substances naturelles ainsi elles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives dont les domaines d'application sont très variés et qui sont très utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs, dans les cosmétiques et les industries

Introduction générale

de détergents en volume impressionnant. Elles rentrent surtout dans la composition de plusieurs médicaments, sous forme de crèmes et gélules (Yahiaoui, 2005).

Parmi les plantes médicinales on a l'espèce « Citrus limon » de la famille des rutacées est le plus important de la famille des agrumes après l'orange et la mandarine (Kelechi et al, 2017). Le citron est parmi les huiles les plus connus, cultivés aujourd'hui dans toutes les régions méditerranéennes utilisées pour plusieurs applications (Anton et Iobstein, 2005). Il est populaire par sa richesse en vitamine C, des quantités considérables de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et de caroténoïdes sont identifiées (Del Rio et al, 2004). Le citron et la lime renferment différents types de flavonoïdes et les limonoïdes (Suleria et al, 2012), qui pourraient avoir un effet anti-obésogène et hypolipidémiant. Des études réalisées chez l'animal ont démontré que certains d'entre eux abaissent le cholestérol et les triglycérides sanguin (Boshtam et al, Miceli et al, 2007 ; 2010 ; Kurowsk et al, 2000 ; Bock et al, 1994 ; Kawaguchi et al, 1991).

C'est dans ce contexte, que notre travail de mémoire s'inscrit, visant à étudier l'effet de l'HE de citron sur la masse pondérale et le profil lipidique d'un modèle animal (rats recevant un régime hyper lipidique). Ce travail a été structuré comme suit :

- ✓ Un premier chapitre sur une synthèse bibliographique comportant une partie consacrée à la présentation générale de l'espèce étudié, et une partie concernant les huiles essentielles.
- ✓ Un deuxième chapitre comportant la partie pratique, consacré à l'extraction de l'huile essentielle de l'écorce du citron par hydro distillation et l'estimation du rendement d'extraction, ensuite on a évalué l'effet de l'huile essentielle sur le poids corporel et le profil lipidique, des rats traités pendant 21 jours.
- ✓ Un troisième chapitre présente les résultats ainsi que leur discussion.
- ✓ Une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude.

I. Les agrumes

I.1. Le citronnier

I.1.1. L'arbre

Le citronnier membre de la famille des rutacées, est un petit arbre(arbuste) vert et aromatique dont la taille peut varier de 2 à 10m de haut, sensible aux gelées, d'une durée de vie d'environ 40 ans (Bousbia, 2011 ; Faucun 2015), porte 5-6 branches charpentières très fournies en rameaux, les racines superficielles forment un réseau dans les 80 premiers centimètres de sol (Golloun et Tonelli, 2013).



Figure1: feuilles, fleurs et fruits de citron(Gerbeaud.com)

I.1.2. Les feuille

Les feuilles de citronnier sont des feuilles grandes très parfumées et coriaces, vertes, alternatives et persistantes en raison des multiples poches à essence qu'elles contiennent, qui sont visible à l'œil nu (Golloun et Tonelli, 2013) oblongues et lancéolées, à limbe nettement articulé avec le pétiole habituellement non ailé, il peut vivre entre 50 et 80 ans (Bahloul J, 1983).



Figure 2: feuilles de citron (forum-agrumes.com)

Chapitre I

Partie théorique

I. Les agrumes

I.1. Le citronnier

I.1.1. L'arbre

Le citronnier membre de la famille des rutacées, est un petit arbre(arbuste) vert et aromatique dont la taille peut varier de 2 à 10m de haut, sensible aux gelées, d'une durée de vie d'environ 40 ans (Bousbia, 2011 ; Faucun 2015), porte 5-6 branches charpentières très fournies en rameaux, les racines superficielles forment un réseau dans les 80 premiers centimètres de sol (Golloun et Tonelli, 2013).



Figure1: feuilles, fleurs et fruits de citron(Gerbeaud.com)

I.1.2. Les feuille

Les feuilles de citronnier sont des feuilles grandes très parfumées et coriaces, vertes, alternatives et persistantes en raison des multiples poches à essence qu'elles contiennent, qui sont visible à l'œil nu (Golloun et Tonelli, 2013) oblongues et lancéolées, à limbe nettement articulé avec le pétiole habituellement non ailé, il peut vivre entre 50 et 80 ans (Bahloul J, 1983).



Figure 2: feuilles de citron (forum-agrumes.com)

I.1. 3. Les fleurs

Sont groupées en inflorescence, roses en bouton, elles s'ouvrent en découvrant un intérieur blanc. La floraison est plus ou moins remontante selon les variétés (Jean-Marie Polese, 2008). Très agréablement odorantes regroupées à l'aisselle des feuilles (Bousbia, 2011 ; Faucun, 2015).



Figure3: fleurs de citron (Bousbia, 2011 ; Faucun, 2015)

I.1.4. Les fruits

Sont juteux, acide et très parfumés (Bousbia N, 2011). C'est une baie cortiqué. Cet agrume de taille moyenne (5à10cm) est dit « limoniforme », c'est-à-dire, ovoïde et avec à l'extrémité stylaire, un mamelon souvent cerné d'une dépression circulaire, sans persistance d'aucune pièce florale (Meflah S, 2015).



Figure4: les fruits du citron (Meflah S 2015)

I.2. Classification botanique

La classification scientifique du citron selon Ecormier (2001), est comme suit :

Règne : Plantae

Ordre : Sapindales

Division : Magnoliophyta

Famille : Rutaceae



Class : Magnoliopsida

Genre : Citrus

Espèce : Citrus limon (L) Burm. F

I.3. Les variétés du citron

Tableau 1: Caractéristiques des variétés du citron

Citron	Caractéristiques
 <p data-bbox="343 1064 523 1093">Citron vert(CV)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Fruit plutôt allongé de pulpe verte très juteuse, sans pépin. La peau de ces fruits est fine, jaune en zone froide, restant verte en région chaude • Les fruits à petit fruit est plus acide que les variétés à grand fruits (Jacqmond et <i>al</i>, 2009 ; Baches, 2011).
 <p data-bbox="336 1332 537 1361">Citron Jaune(CJ)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Fruits mur peuvent rester plusieurs mois sur les arbres sans perdre leurs Qualités • Sont assez régulier et peu allongés, avec une peau lisse, ils sont juteux avec quelques pépins (Jacemond et <i>al</i>, 2009 ; Courboule, 2010).

Les principales variétés du citron sont :_Bears, Sicilienne, Berna Verna, Eureka ; Eureka pannachée (citron de chair rose) ; Genova ; Interdonato ; Lisbonne ; Monachello ; Primofiori, Fino ; Mesero ; Santa Teresa ; Citron sans pépins, Villa Franca (Bousbia N, 2011).

Tableau 2 : Les plus courantes variétés de citron que nous pouvons trouver sur les marchés (Golloun et Tonelli, 2013)

Variété	Saison	Caractère de fruit
Primofiori	Octobre à décembre	Forme ovale, peau fine, pulpe très juteuse
Internado	Septembre à octobre	Fruit de grand de taille, peau très fine, pulpe juteuse et acide, pas de pépins
Verna	Toute l'année	Fruit de couleur jaune intense, peau rugueuse et épaisse, pas des pépins, peu acide
Eureka	4 saisons	Forme ovoïde, un zeste difficile à prélever, juteuse très acide

I.4. Structure du citron:

Tous les fruits des Citrus cultivés ont presque la même structure, ils sont composés essentiellement de deux parties morphologiques : le péricarpe et l'endocarpe (pulpe) (Terol *et al.*, 2010).

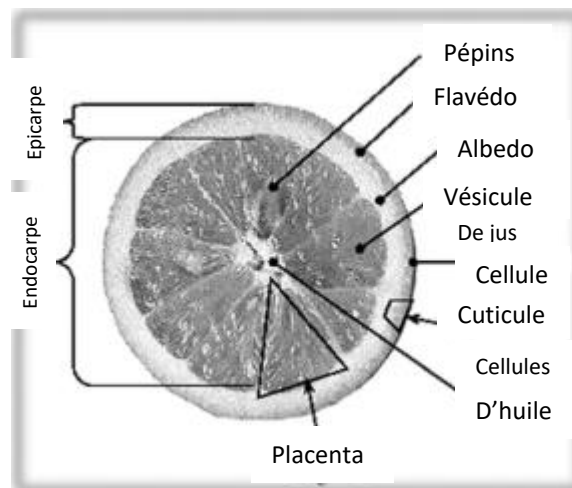


Figure5: Caractéristiques morphologiques d'un citron (Duan *et al.*, 2014)

I.4.1. Le péricarpe

Est nommé aussi l'écorce, il est composé du Zeste (épicarpe ou flavédo), partie la plus externe de ce péricarpe, de couleur orangé ou jaune, contenant de nombreuses poches sécrétrices de type s-chizolysigènes, riche en huile essentielle (Chavanne, 2011 ; Faucon, 2015).

Le mésocarpe

Ou albédo de couleur blanche, de texture souvent cotonneuse ou Spongieuse, de nature cellulosique, d'épaisseur variable, est la partie la plus intérieure du péricarpe (Janati et *al*, 2012 ; Faucon, 2015).

I.4.2. La pulpe (l'endocarpe)

Est divisé en segments (capable) ou se concentre le jus (avec ou sans pépins selon les variétés) et ont une enveloppe radiale épaisse (ou endocarpe). Cette partie, riche en sucre solubles, renferme des quantités significatives de vitamine C, de pectine, de fibres, de différents acides organiques et de sel de potassium qui donnent au fruit son acidité caractéristique (Bousbia, 2011).

I. 5.Composition chimique et valeurs nutritionnels

Tableau 3: Composition biochimique moyenne dans 100g (Ciqual, 2013 Gonzalez-Molina et *al*, 2010 ; Chavanne, 2011 ; Guimaraes et *al*, 2010 ; Janati et *al*, 2012)

Constituant	Teneur moyenne	Constituant	Teneur moyenne
Eau(g)	85.3	Cuivre (mg)	0.0402
Protéines(g)	0.31	Bêta-Carotène (µg)	37.5
Glucides(g)	11.3	Vitamine E (mg)	0.59
Lipides(g)	0.162	Vitamine KI (µg)	2.8
Sucres(g)	11.3	Vitamine C (mg)	6.45
Fibres(g)	1.95	Vitamine B1 (mg)	0.035
Sodium(g)	2.01	Vitamine(B2)	0.025
Magnésium(g)	6.08	Vitamine(B3)	0.1
Phosphore(g)	10	Vitamine B5 (mg)	0.1
Calcium(g)	5.12	Vitamine B9 (µg)	3.86
Flavonnores	90%	Lignanes (mg)	0.02
Acide citrique(g)	5-6	Poly phénols totaux	36.91

I.6. Production du citron

I.6.1. Production nationale

Une légère diminution de la production est constatée au cours de l'année 2010, puis une nette croissance par la suite

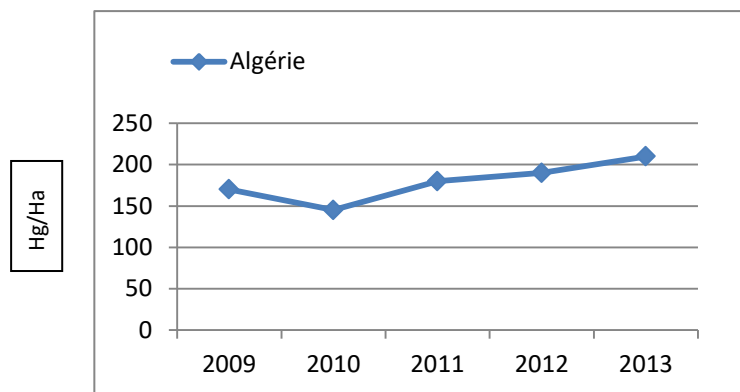


Figure 6: Evolution de la production nationale de citron (FAO, 2013)

I.6.2. Production mondiale

La production mondiale de citron a connu une grande diminution depuis l'année 2009 à 2010.

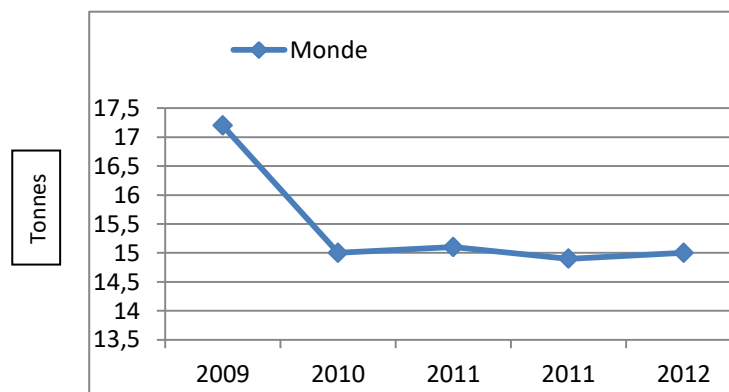


Figure7: Evolution de la production mondiale de citron (FAO, 2013)

Selon l'organisation pour l'alimentation et l'agriculture des Nations Unies (FAO) en 2015 : le Mexique, l'union Européenne et l'Argentine étaient les plus grands producteurs au monde des citrons et limes.

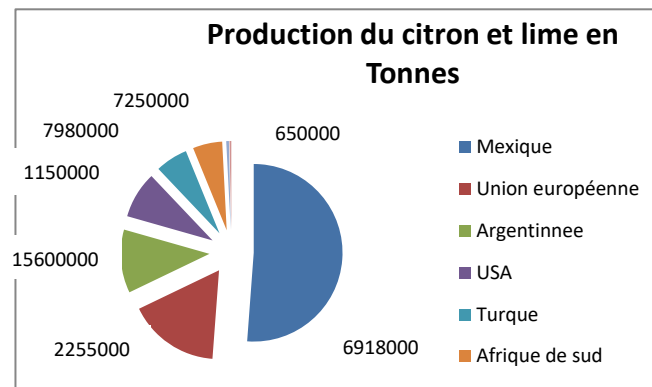


Figure8: Les premiers pays producteurs de citron et lime au monde selon le (FAO ,2015)

I.7. Utilisation et effets thérapeutiques

Le citron présente une large utilisation grâce à sa composition :

Usage culinaire

Le citron pelé ou finement gratté donne sa propre saveur qui est très prisée en cuisine et en pâtisserie, le jus du citron permet de fabriquer des boissons rafraichissantes (Golloun et Tonelli, 2013).

En cosmétologie

Le citron est utilisé pour resserrer les pores, il passe pour éclaircir la peau, résorber les comédons et s'utilise en masque antirides ou pour donner de l'éclat aux cheveux. Il entre aussi dans la composition de nombreux parfums (Bousbia, 2011).

Autres utilisations

- Le citron présente plusieurs activités biologiques telles que, l'activité antidiabétique, anti carcinogène, antiproliférative, antioxydante, antibiotique, antifongique, anti-inflammatoire et antiasthmatique, il est utilisé également comme inhibiteur de lipoxgénases, d'amylase, d'urease, et pour le traitement rhumatisimal et de la thrombose (Manish et al, 2013).
- De plus, le citron contient des flavonoïdes en particulier de la flavanorol qui montre des activités bénéfiques en tant qu'agents protecteurs contre le cancer et les maladies cardiovasculaires, diabète, hypertension (Oboh, 2012) , inflammatoires et allergique (Gil-Izquierdo et al, 2004).
- Le citron est utilisé par les femmes pendant la grossesse pour soulager les nausées et les vomissements (Yavarí kia et al, 2014).
- Le citron est utilisé contre l'insomnie, l'asthme et pour dissoudre les cristaux rénaux (Okwu and Emenik, 2006).

- Stimulation de l'appétit (zestes) (Santos et al, 2011 ; Karimi et *al*, 2012).
- Abaissement de la pression artérielle, traiter l'obésité (Ramful et *al*, 2011).
- Les feuilles de citron sont utilisées conjointement avec d'autre plantes comme le thé, la menthe et le basilic afin de préparer des infusions pour traiter les troubles d'estomac et les maladies de la peau (Whisther, 1997).

II. Les huiles essentielles

II.1 Définition des huiles essentielles

Une huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie qui peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, contusée ou pulvérisée à l'exception des fruits du genre Citrus qui sont toujours traités à l'état frais. (EDQM. Huiles essentielles –Aetherola.Pharmacopée Européenne (2017) 9^{ème} éd). Dans le cas du genre Citrus dont les fruits sont traités par expression à froid, l'AFNOR ne parle pas de l'huile essentielle mais d'essence.

L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. (EDQM. Huiles essentielles –Aetherola.Pharmacopée Européenne (2017) 9^{ème} éd). C'est un mélange de molécules variées, comprenant en particulier des terpènes et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes et cétone) (Benouli D, 2016).

II.2. Répartition des huiles essentielles dans la plante

Environ 1% des espèces végétales élaborent des essences. Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences en particulier, les labiés (Thym, Menthe, Lavande, Origan, Sauge, etc.), Les Umbellifères (Anis, Fenouil, Angélique, Cumin, Coriandre, Persil, etc.), Les Myrtacées (Myrthe, Eucalyptus), les Lauracées (Camphrier, Laurier –sauce, Cannelle) (Benayad, 2008). Les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes (Boudjemaa et Ben Guegua, 2010).

Tableau 4 : Exemple d'huile essentielle issues de différentes parties de la plante (Descheper R, 2017)

Partie de la plante	Huile essentielle
Ecorce	Cannelle
Bois	Cèdre, Santal, Pin
Racines	Valériane, Angélique
Gomme et oléorésine	Myrrhe, Baume du pérou
Graine	Carvi, Coriandre
Fruit	Orange, Genévrier, Bigaradier
Rhizome	Gingembre
Fleurs	Jasmin, Rose, Néroli, Lavandes
Feuilles	Menthes, Origan, Lemon-grass
Feuilles et tiges	Géranium, Petit grain, Tea tree, Patchouli

III. Procédés d'extraction des huiles essentielles

III.1. Hydro distillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et la plus anciennement employée pour extraire les huiles essentielles. Le procédé consiste à immerger le matériel végétal dans un récipient rempli d'une quantité adéquate d'eau, le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorants qui y sont contenus. Puis, les vapeurs sont condensées au moyen d'un réfrigérant. Dans un autre récipient de collecte, l'huile essentielle se sépare de l'eau par différence de densité. L'HE étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysât. Cependant, l'hydro distillation possède des limites, en effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Lucchesi, 2005).

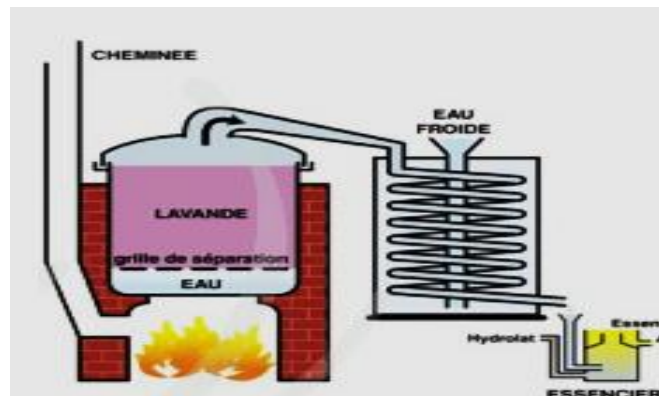
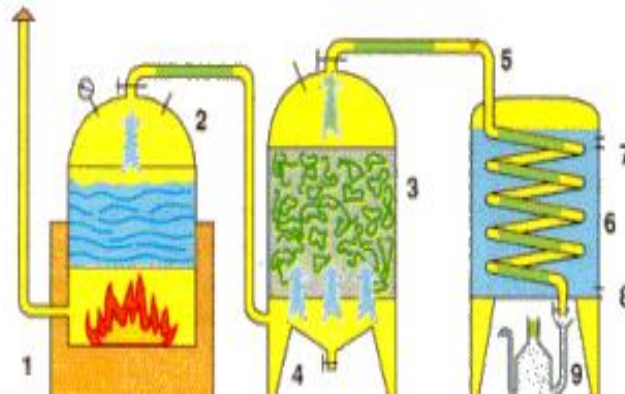


Figure 9 : Schéma du montage d'hydro distillation (J Smadja, 2009)

III.2. Entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydro distillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau+huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. (Neffati, 2010). 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.



1 : Foyer - 2 : Chaudière - 3 : Vase à fleurs - 4 : Vidange de condensation - 5 : Col de cygne - 6 : réfrigérant avec serpentín - 7 : Sortie d'eau - 8 : Arrivée d'eau froide - 9 : Encensier servant à la décantation de l'essence et de l'hydrolat

Figure10. Montage de l'entrainement à la vapeur d'eau (Meflah S, 2015)

III.3. Hydro diffusion

Dans ce procédé, le végétal est disposé dans un parallélépipède métallique. On soumet donc le végétal à une pulsion de vapeur d'eau saturée et humide, mais jamais surchauffée de haut en bas. , La vapeur d'eau emporte avec elle toutes les substances volatiles. L'huile essentielle est recueillie grâce à un collecteur qui permet un équilibre avec la pression atmosphérique. (Wijesekara et *al*, 1997).

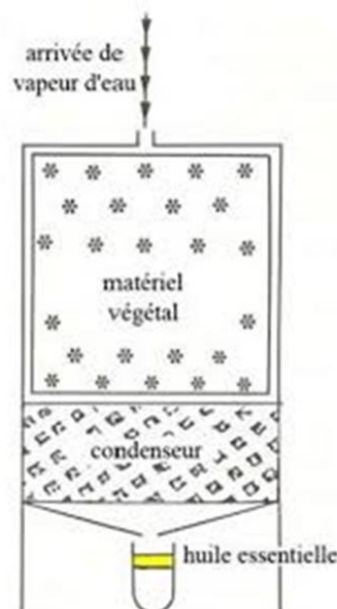


Figure 11: Montage de hydro diffusion (Kesbi A, 2011)

III.4. L'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. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau (Rhayour K, 2002).

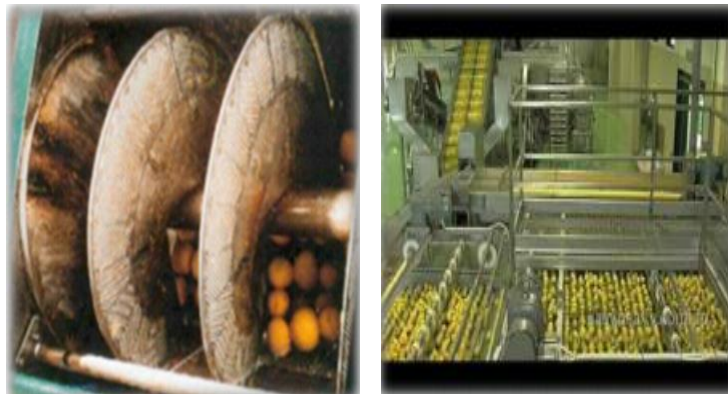
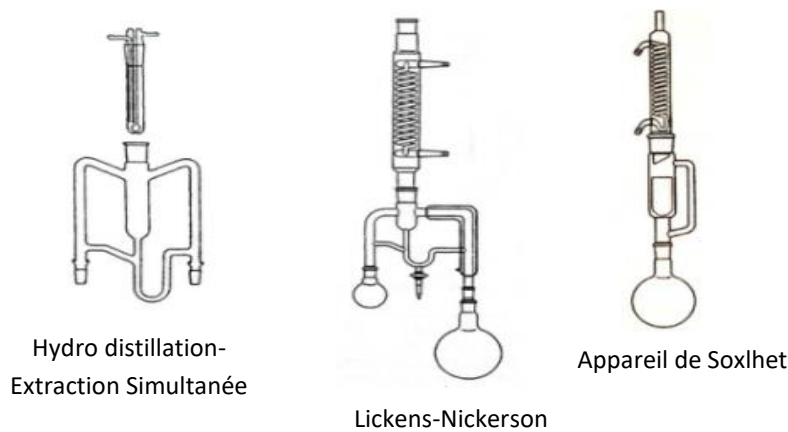


Figure 12 : Expression à froid des agrumes (J Smadja, 2009)

III.5. L'extraction par solvant volatils

Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool (Brian, 1995). L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone (Kim, N, S, D, S, Lee, J, Chroma A, 2002, 982,31). L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil Lickens-Nickerson. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que les cires des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (Boutekdjiret C, 1999).



Hydro distillation-
Extraction Simultanée

Lickens-Nickerson

Appareil de Soxhlet

Figure13: Montage d'extraction par solvant (Benouali D, 2016)

III.6. Extraction par les corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite. (Brian, 1995).

III.7. Extraction assistée par micro-ondes

Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-onde 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 récupérés à l'aide des procédés classiques condensation, refroidissement, et décantations. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, l'utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé (Hemwimon et *al*, 2007).

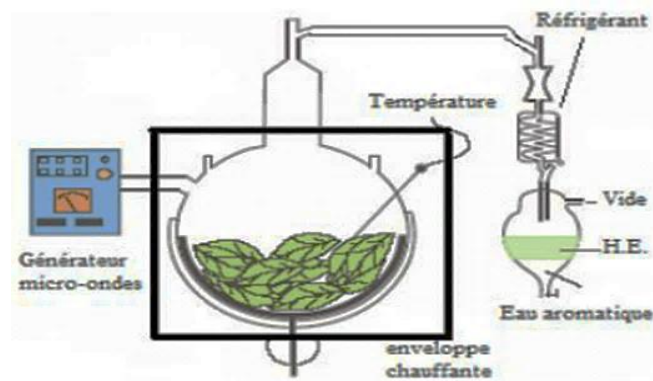


Figure14: Hydro distillation assisté par micro-ondes (Lucchesi M. E, 2005)

III.8. Extraction par fluide supercritique

Le fluide supercritique le plus utilisé est le dioxyde de carbone (Pellerin, 1991). Le CO₂ (CO₂-SUP) est thermodynamiquement stable, insipide, inodore et incolore, il est inflammable mais peut être asphyxiant à haute concentration. Son point critique est de (P_c=73,6 bar et T_c=31,4°C). Dans cet état, l'extrait devient insoluble dans le CO₂ et précipite au fond de l'enceinte. Le gaz carbonique est ensuite liquéfié et peut être à nouveau utilisé. L'extrait récupéré ne contient aucune trace de solvant résiduel qui est facilement éliminé sous forme gazeuse. Le CO₂ est ensuite recyclé et ramené à l'état supercritique (Pellerin, 2001).

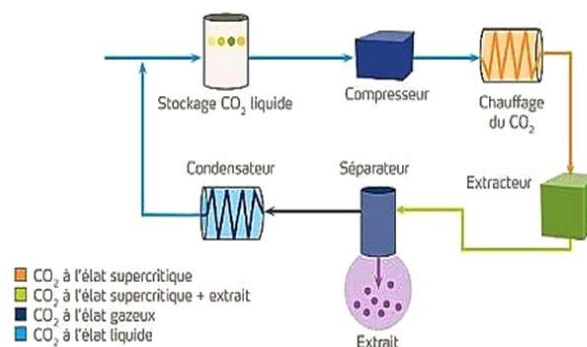


Figure15 : Montage d'extraction par CO2 supercritique
([www. Yaha. Fr/co2/procèdes-industriels/G2-super-](http://www.Yaha.Fr/co2/procèdes-industriels/G2-super-)

IV. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles

IV.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La CPG s'applique à des échantillons gazeux susceptibles d'être vaporisés sans la décomposition dans l'injecteur. La phase mobile est alors un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur qui balaie en permanence la colonne. Cette dernière susceptible d'être vaporisée par chauffage sans décomposition (Burgot. G et Bergot J, 2011), est un tube de faible section enroulé sur lui-même et contenant la phase stationnaire. Un grand choix des détecteurs permet l'analyse sélective et parfois l'identification de mélange très complexe comme dans le cas des huiles essentielles. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatils, possèdent des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine,...). On parle de chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'absorption (Audigie et *al*, 1995).

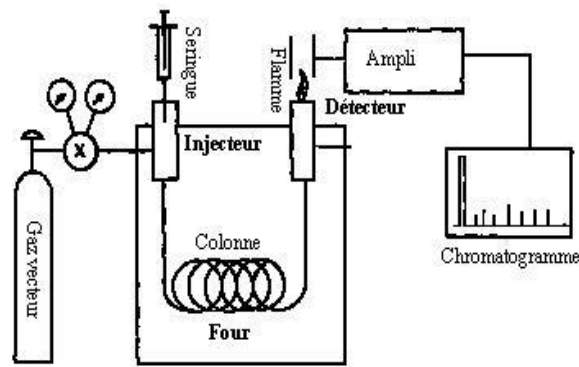


Figure16: Appareillage pour une CPG (Yaacoub R et Tlidjane I, 2018)

IV.2. La chromatographie sur couche mince (CCM)

CCM repose principalement sur des phénomènes d'absorptions. La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant (Caude et Jardi, 1996). Après la migration, le repérage des molécules s'effectue soit par ultra-violet (UV), soit par un colorant spécifique ou encore par exposition aux vapeurs d'iode. La distance de migration des composés est ensuite mesurée et comparée à celle du front de la phase mobile. Bruneton (1999) précise que la technique du CCM, bien que beaucoup moins performante que la chromatographie en phase gazeuse peut être utilisée en routine pour le contrôle de qualité des huiles essentielles.

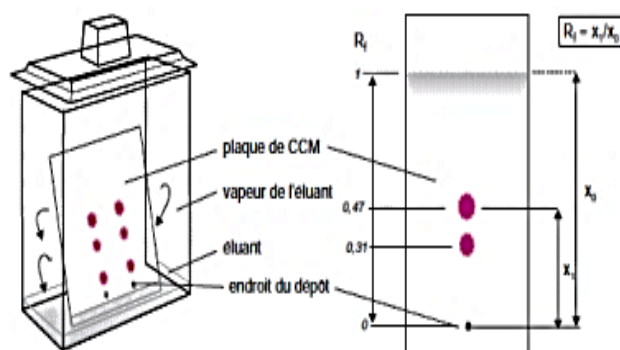


Figure17:Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM (Rouessac, 2005)

IV.3. La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (mass spectrométrie ou SM) est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/q). (Yaacoub R et Tlidjane.I, 2018).

IV.4. Analyse par couplage CPG/SM

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPE et leur identification par le biais de la SM. (Yaacoub R et Tlidjane I, 2018).

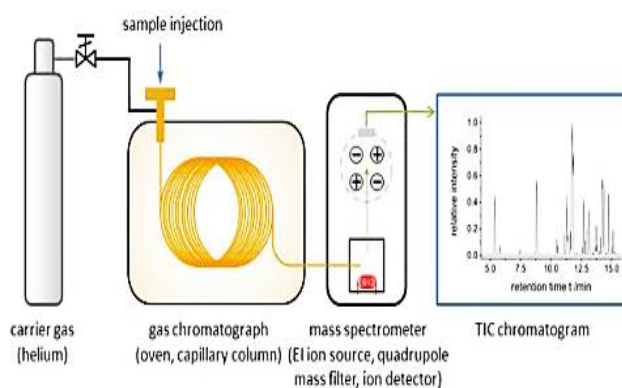


Figure18: Schéma de couplage CPG/SM (Yaacoub R et Tlidjane.I, 2018).

IV.5. La chromatographie liquide à haute performance

La chromatographie liquide à haute performance utilise une phase stationnaire très fine. Les particules solides ont un diamètre pouvant atteindre jusqu'à 5 μm , le garnissage est tassé dans une colonne fermée. La phase mobile liquide circule sous l'effet d'une haute pression. L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques microlitres) dans l'éluant sous pression. Après leur séparation, les différents constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de colonne. Un ordinateur assure l'acquisition et le traitement des données (Audigie et al, 1995 in Bencheikh, 2005).

IV.6. La Résonance Magnétique Nucléaire RMN

La RMN est un outil exceptionnel pour déterminer la structure d'une molécule naturelle ou synthétique, de fournir la possibilité d'identifier les connexions entre atomes des

diverses entités, squelette, groupes fonctionnels et finalement de permettre de les situer dans l'espace les uns par rapport aux autres. (Platzer, 2002).

V. Analyse physico-chimique des huiles essentielles

V.1 Paramètres organoleptique

Les paramètres organoleptiques déterminés sont, la couleur, l'aspect et l'odeur.

V.2. Les propriétés physico-chimiques

V.2.1. Densité (d_{20})

La densité est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile essentielle à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C. Mesure simple, permet de déterminer rapidement la qualité (degré) de l'huile essentielle et de mettre en évidence des fraudes grossières. La pharmacopée Européenne précise que la densité (d_{20}) d'une huile essentielle doit être déterminée par un pycnomètre. La plupart des huiles essentielles sont plus légères que l'eau (densité <1). Cependant, les huiles essentielles contenant des phénols sont plus dense que l'eau (densité >1). (Deschepeer R, 2017).

Tableau 5: Valeurs de densité de certaines huiles essentielles (Deschepeer R, 2017)

Dénomination de l'HE	Densité relative (d_{20})
HE <i>Pinus sylvestris</i>	0,8689
HE <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	1,01 – 1,03
HE <i>Allium copa</i>	1,54 – 1,58

V.2.2. Indice réfraction(I_R^{20})

L' I_R est un paramètre d'identification qualitative et une manière de vérifier le degré de pureté des huiles essentielles (Hellal, 2011).L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminé, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante (Mohamdi, 2005).Cette indice de réfraction permet de vérifier la qualité de la distillation. En effet, une distillation trop rapide à température trop élevé ou trop lente abaisse l'indice de réfraction de l'huile essentielle obtenue. Chaque huile essentielle possède un I_R spécifique. Ainsi, plus l'indice de réfraction d'un produit est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande. L'indice de réfraction est généralement élevé, et supérieur à celui de l'eau à 20°C=1.33 (Handa SS. Khanuja S.P.S.Longo G. Rakesh D.D, 2008).

Tableau 6 : Valeurs d'indice de réfraction de certaines huiles essentielles (Deschepeer R, 2017)

Dénomination de l'HE	I _R (mesuré à 20°C)
HE <i>Mentha piperita</i>	1,460 – 1,467
HE <i>Citrus aurantium</i> var. <i>bergamia</i>	1,464 – 1,469
HE <i>Cinnamomum zeylanicum</i> opécorce	1,520 – 1,570

V.2.3. Indice d'acide(Ia)

L'ia c'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans un 1g d'huile essentielle. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration (Mohamdi, 2005). L'indice d'acide indique le comportement et la quantité des acides libres présents dans les huiles essentielles. Il peut aussi nous renseigner sur la susceptibilité des huiles à subir des altérations, notamment l'oxydation. Donc il indique d'une part le degré de conservation des huiles essentielles et d'autres part leur quantité, souvent cet indice est de valeur inférieure ou égale à 2. (Yaacoob.R et Tlidjane.I, 2018).

V.2.4. pH

Le pH est l'abréviation du potentiel d'hydrogène qui mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H⁺) en solution. Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égale à 7 et basique s'il est supérieur à 7 (Mahcene Z et Boukaraa N, 2016). Le pH des huiles essentielles se situe entre 4 et 6. C'est effectivement légèrement acide, mais nettement moins que du jus de citron (pH=2) et dans tous les cas, moins que le pH de l'estomac (pH=1) (<http://www.daniele festy.com> 2011).

VI. Composition et facteurs de variabilité des huiles essentielles

VI.1.Composition des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique révèle qu'il s'agit de mélanges complexe et variable de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Teisseire, 1991).

VI.1.1.Les terpénoïdes

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont observés. Ils répondent dans la plupart des cas à la formule générale (C₅H₈)_n. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes, (n=3), les triterpènes (n=6), les tetraterpènes (n=8) et les poly terpènes. On y trouve en plus de

terpènes des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols des oxydes et autres (Teisseire, 1991).

VI.1.2. Les composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol, ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. (Teisseire, 1991).

IV.1.3. Les composés d'origine diverse

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés (Teisseire, 1991).

- ✓ Alcools : menthol, géraniol, linalol
- ✓ Aldéhydes : géraniol, citronellal
- ✓ Cétones : Camphre, pipéritone phénol : thymol, Carvacrol
- ✓ Esters : acétate de géranyle
- ✓ Acides : acides géramiques, oxydes : 1.8-Cinéole.
- ✓ Phényl propanoïdes, eugénol
- ✓ Terpènes : limonène, para-cymène
- ✓ Autres : éthers composés soufrés, composés azotés, sesquiterpène.

VI.1.1. Composition chimique De l'huile essentielle du citron

- ✓ Limonène (66% à 80%)
- ✓ Beta-pinène(12%)
- ✓ γ-terpinène(9%)
- ✓ Furocoumarines(3%),
- ✓ Sabinène, mycène, géraniol(1 à2%)
- ✓ Terpinolène, néral, linalol(1%)(<http://fr.m.wikipedia.org>)

IV.2. facteurs de variabilité des huiles essentielles

Selon Senatot (1996) in Djibo et *al.* (2004) la présence ou l'absence de certains constituants dans la plante dépend de l'un ou de la combinaison de trois facteurs : le Patrimoine génétique, l'âge et l'environnement de la plante. En effet l'influence des facteurs environnementaux comme la température, l'humidité (Boira et Blanquer, 1998 ; Palà-paul et *al.*, 2001), l'altitude et l'attitude (Azevedo et *al.*, 2001 ; Oliveira et *al.*, 2005) et la nature du sol (Oliveira et *al.*, 2005 ; Peng et Young, 2005 ; Zheljzakov et *al.*, 2005) sur la composition chimique et le rendement des huiles essentielles a été décrite. Certains auteurs se sont préoccupés d'autres facteurs tels que le cycle végétatif (Juteau et *al.*, 2002 ; Schwob et *al.*, 2004 ; Yayi et *al.*, 2004 ; Jordan et *al.*, 2006

;Sefidkon et *al*, 2007), l'âge, l'organe végétal (Skoula et *al*, 1996 ; Silvestre et *al*, 1997 ; Mockute et Judzentiene, 2003 ; Laouer, 2004), la période de récolte (Angelopoulou et *al*, 2002 ; Cavaleiro et Am, 2003 ;Madeira et *al*, 2005 ; Randrianalijaona et *al*, 2005) les parasites, les virus et les mauvaises herbes (Svoboda et Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001) qui influent sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles.

Le rendement et la composition chimique des huiles essentielles varient également en fonction de la méthode d'extraction (Khajeh et *al*, 2004 et 2005 ; Viljoen et *al*, 2006 ; Sefidkon et *al*, 2007). La durée de séchage affecte le rendement ainsi que la composition (Yayi et *al*, 2004).

Les conditions principales requises pour une production rentable en huile essentielle sont : un bon matériel végétal, la variété de la plante, le sol, l'équipement de distillation et le climat (Smallfield, 2001).

Notion de chémotype

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce. En effet une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera, ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes, types biogénétiques, races chimiques ou races biologiques. (Yaacoub R et Tlidjane I, 2018). Biochimiquement différent, deux chémotypes présenteront non seulement des activités thérapeutiques différentes (Lydie, 2002) mais aussi des toxicités très variables (Baudour, 1997).

VII. 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 :

- Allergie ou hypersensibilité, photosensibilité dus aux furocoumarines.
- Neurotoxicité dus aux cétones
- Néphrotoxicité dus aux terpènes majoritaires dans l'huile essentielle de télébenthine et des rameaux de Genévrier.
- Hépatotoxicité dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives.

L'engénol l'un des constituants du thym, est hépatotoxique (chez l'enfant, 10 ml engénol 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 (Eisennut, 2007 ; El kolli, 2008).

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aigüe par voie orale faible ou très faible : La majorité des huiles essentielles 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, supérieur à 5g/kg (Camomille, Lavande...etc).

Les espèces du genre Citrus, le plus souvent incriminées dans les cas de phototoxicité sont : Le Bigaradier, le Bergamotier, le citronnier et le Limettier. Pour des produits à usage traditionnel à base d'huile essentielle d'écorce d'orange amère pour son effet censés favoriser la perte de poids des cas de toxicité ont été rapportés. Il s'agit de troubles cardiovasculaires (augmentation de la tension artérielle, accélération du rythme cardiaque, vasoconstriction).

Les huiles essentielles des écorces de citrus, principalement d'orange, citron, pamplemousse, de bergamote et de citron vert sont irritants (brulures, prurit et autres réactions cutanées fortes) sur la peau normale après un contact d'une heure. Un eczéma peut apparaître due la présence des terpènes, limonènes, alpha- et bêta- pinènes, géraniol et citral. Ils sont à l'origine de dermatoses professionnelles chez les boulangers- pâtisseries, et les travailleurs de conserveries. Des dermatites et de paronychites ont été observées chez des éplucheurs de citrus, dont les ongles sont souvent érodés spécialement à la dose. Ces réactions irritatives de contact à la pelure de citron sont plus fréquents que celles à la pelure d'orange (Gérant et *al*, 2010 ; Gonzalez- Molina et *al*, 2010).

VIII. Control de qualité

Selon la pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la nuisibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants. La meilleure carte d'identité quantitative qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (Pibiri, 2006). Une huile essentielle pure et naturelle est caractérisée par sa composition strictement végétale, contrairement aux essences synthétiques ou (identiques naturelles) intégralement reconstituées à partir de composés chimiques de synthèse (Pibiri, 2006).

IX.Utilisation des HEs : L'aromathérapie

IX.1.En Médecine

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles pour traiter un certain nombre de maladies. En médecine dentaire, plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries. La listerne qui est une solution constituée d'huile essentielle de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire. Les huiles essentielles de thym et de romarin sont utilisées pour soulager la fatigue, les maux de tête,

les douleurs musculaires et quelques problèmes respiratoires. L'HE de citron est utilisé comme un antiseptique, anti-inflammatoire, lipolytique et anti oxydant, pour faciliter la digestion ou soulager les nausées, anti-virales, anti bactériennes ou anti-fongique (<http://passeportsante.net>). Les HE sont utilisés sous forme de préparations galéniques, et dans les préparations d'infusion (Verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange...etc). Plus de 40% des médicaments sont à base de composants actifs de plantes. De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques : sirop, goutte, gélules, pommade...etc. (Yaacoub R et Tlidjane I, 2018).

IX.2. Dans l'industrie agroalimentaire

Les huiles essentielles jouent un rôle capital dans l'aromatisation des aliments, En effet, elles donnent la flaveur aux condiments (poivre, gingembre) et aux aromatisants (menthe, anis, oranger, thym, laurier). A faible dose, certaines substances ont un effet favorable sur la digestion, ce qui explique leur utilisation en liquoristerie (essence d'anis ou de badiane). L'industrie agroalimentaire utilise les HEs dans la préparation des surgelées non seulement pour rehausser le goût mais aussi pour empêcher les contaminations alimentaires qui se développent (effet antimicrobien). (Yaacoub R et Tidjane I, 2018).

IX.3. En parfumerie et cosmétique

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, des savons et des cosmétiques, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées (Bouamer et *al*, 2004 ; Bouanane et Boussehel, 2005).

IX.4. En agricultures

L'utilisation des huiles essentielles dans le domaine de l'agriculture est encore débutante mais est appelée à se développer. En effet, le contexte réglementaire actuel incite fortement à développer des produits phytosanitaires d'origine naturelle comme alternative aux moyens de lutte chimique. Les huiles essentielles sont actuellement testées sur différentes cibles : les insectes, les champignons, les bactéries, les adventices et également la conservation des semences.

L'utilisation des huiles essentielles en agriculture biologique nécessite leur inscription sur une liste dite (positive) de produits autorisés (Furet A et Bellenot D, 2013 ; Chavassieux D, 2014).

X. Les activités biologiques des huiles essentielles

X.1. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antimicrobiennes intéressantes d'origine bactérienne et fongique (De Biller Beck, 2007). L'activité antifongique des huiles essentielles peut être due à la présence des terpènes qui causent la rupture des membranes fongiques et inhibent le développement des champignons. Les huiles essentielles permettent également la protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (Zambonelli et al, 2004 ; Mangena et Muyima, 1999).

X.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des huiles essentielles est attribuée à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques tels que le linalool, le 1.8 – cinéole, le germinal, le néral, le citronellal, l'iomenthone, la menthone et quelques monoterpènes comme le α -terpinène et le β -terpinène (Edris, 2003).

X.3. Activité antiviral

Les huiles essentielles riches en phénols ont montré une activité antivirale contre certaines virus notamment l'Herpès simplex (Girard, 2010).

X.4. Activités neurale

Les huiles essentielles possèdent une action sédative et agissent sur le système sympathique ou par sympathique. Elles permettent ainsi la régulation de système nerveux périphérique (Girard, 2010).

Chapitre II

Partie pratique

Matériels utilisés

- Balance
- Chauffe ballon 2000 ml
- Ballon 2000ml
- Réfrigérant
- Ampoule à décanter
- Thermomètre
- Entonnoir
- Becher
- Eprouvette 5ml

I. Matériel végétal

Le produit ayant servi à l'extraction des huiles essentielle est la partie écorce (zeste) du citron (Citrus Limon) que nous avons acheté du marché de Constantine au mois d'Avril 2019. Les fruits ont été soigneusement lavés pour les débarrasser de la poussière, puis séchés et rappés à l'aide d'une rappe pour obtenir l'écorce et on les a pesés avec une balance (330g).



Figure 20: Citrus Limon (L) Burm. F (image personnelle)

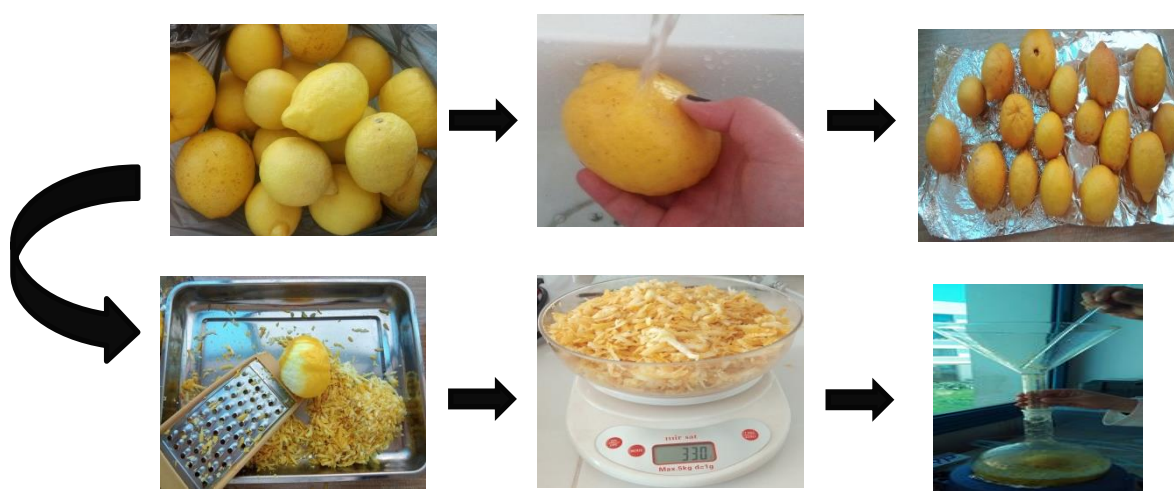


Figure 21 : Préparation du matériel végétal pour l'extraction (image personnelle)

I.1. Méthode d'extraction de l'HE du citron

I.1.1. Le protocole d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1978) au niveau de laboratoire de pharmacognosie, faculté de Médecine, USB, Université Constantine 3. On a introduit (280 g) de zeste frais dans un ballon contenant un litre d'eau l'ensemble est porté à l'ébullition à l'aide d'un chauffe ballon, avec un réglage du chauffage pour permettre une stabilité de l'extraction. Les vapeurs chargées de l'huile essentielle passent à travers le tube vertical (colonne de rectification) puis dans la colonne de refroidissement où aura lieu la condensation. Le distillat (huile essentielle+eau) est récupéré dans une ampoule à décanter pour la séparation du mélange par différence de densité. Le temps d'extraction est mesuré à partir de la chute de la première goutte de distillat dans l'ampoule. La température d'ébullition est inférieure au solvant le plus volatil, ici il s'agit de l'eau qui a donc pour température 100°C, donc la température du mélange sera inférieure à celle-ci.

L'huile ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile. En fin l'huile obtenue a été stockée dans une bouteille en verre (bien remplie et fermée hermétiquement). Elle est gardée au frais et à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation (-4°C).

Tableau 9: Conditions opératoires d'hydro distillation

Conditions d'hydro distillation	
Température	<100°C
Temps	1h45min



Figure 22: Montage pour l'hydro distillation (laboratoire de pharmacognosie Faculté de Médecine USB C3) (image personnelle)

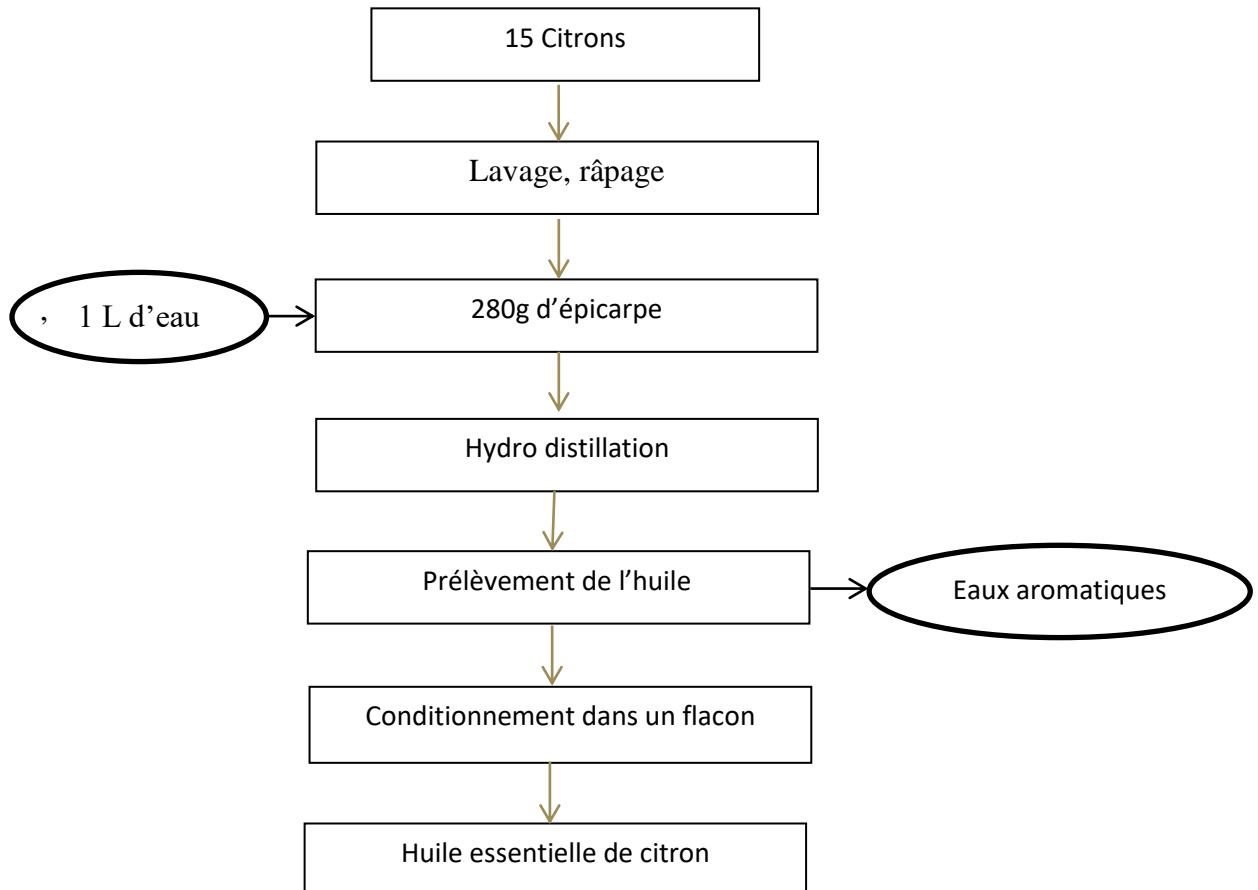


Figure 23 : Diagramme de préparation de l'huile essentielle du citron

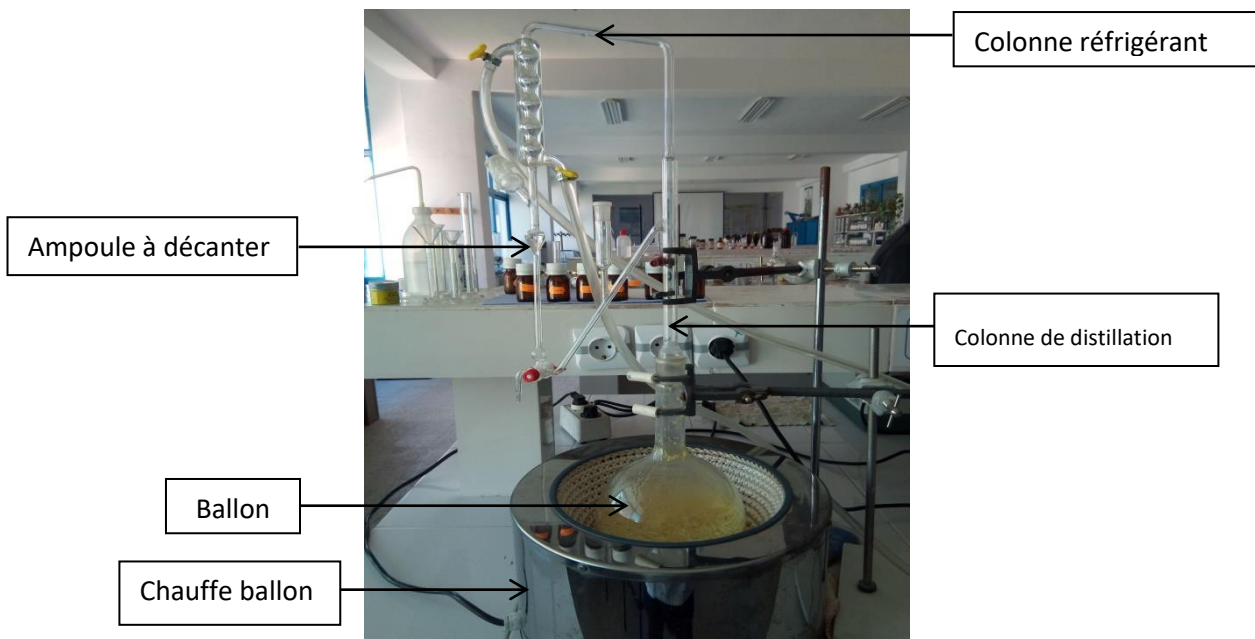


Figure 24 : Appareil d'hydro distillation de type Clevenger (photo personnelle)



Figure 25: Etapes d'obtention de l'HE du citron (Photos personnelles)

I.2. Analyse physico-chimique

I.2.1 Rendement

Le rendement en huile essentielle (RHE), est définie comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M1) et la masse de la matière végétale utilisé (M0) (Carré, 1953 In Bekhchi, 2002). Il est donné par la formule suivante :

$$R\% = (M1/M0) * 100$$

R% : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage

M1 : masse de l'huile essentielle obtenue en gramme

M0 : masse en gramme de la matière végétale sèche

I.2.2. pH

On a mis quelques gouttes de l'HE sur un bout de papier pH, après le changement de la couleur du papier on la compare avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH.

II. Matériel animal : Les animaux d'expérimentation

II.1. Préparation des rats

L'expérimentation qui a duré 21 jours a porté sur 15 rats blancs (*Rattus norvegicus*) de sexe féminin adulte âgé de 2 à 3 mois et pesant entre 160g et 230g ont été utilisés pour l'étude. Les animaux proviennent de l'animalerie du département de Biologie, Faculté des Sciences de la nature, Université Cne 1, ce sont des mammifères de l'ordre des rongeurs, largement utilisés dans divers domaines de recherche. Ces rats femelles sont soumises à une période d'adaptation, aux conditions de l'animalerie : une température de $25 \pm 2^{\circ}$; humidité de 50-55%. Les rats sont placés dans des cages en plastiques qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages sont nettoyées et la litière chargée tous les jours jusqu'à la fin de l'expérimentation, les rats ont accès libre à l'eau et l'aliment.



Figure26 : Rat femelle (*Rattus norvegicus*)
(image personnelle)

II.2. Répartition des rats

Les rats sont réparties en trois groupes, chacun composé de 5 animaux (n=5)

- **Groupe 1 (groupe témoin négatif)** : reçoit 75g/j d'aliment standard de laboratoire
- **Groupe2 (groupe control positif)** : soumis au régime hyper lipidique (le régime hyper lipidique est composé de 50% de régime standard et de 50% d'huile de palme 8ml/j).
- **Groupe3 (groupe control positif)** : soumis au régime hyper lipidique (le régime hyper lipidique est composé de 50% de régime standard et de 50% de l'huile de palme) et reçoit un traitement de l'HEC à une dose de $30\mu\text{l/kg/j}$.

III. Régime alimentaire

III.1. Régime standard

Le régime standard se présente sous forme de granulés de Bétails (UAB) d'ouled Hamla-Oum El Bouaghi, Dont la composition est la suivante :

Tableau 10:Composition du régime alimentaire standard en % pondéraux

Composants	Pourcentage
Mais	660
Soja	150
Issue de meunerie	60
Calcaire	6
Phosphate	18
Sel	10
Acides aminés	20
Oligo-éléments	40
Vitamines : A, D ₃ et E	7
Antioxydant : B, H, T	1

III.2. Régime induction de l'obésité : régime hyper lipidique

Le régime hyper lipidique se compose de 50% de régime standard et de 50% de l'huile de palme administré directement dans l'estomac par un gavage intra gastrique.



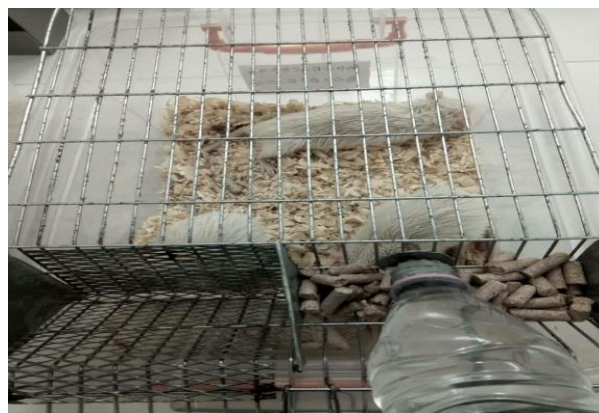
Tableau 27: Administration de l'huile de palme par un gavage intra gastrique chez le rat (image personnelle)



**Figure 28 : Lots des rats témoins normaux
(image personnelle)**



**Figure 29 : Lot des rats recevant (régime hyper
lipidique)(Image personnelle)**



**Lot des rats recevant (régime hyperlipidiques+HE
du citron (Image professionnelle)**

IV. Administration de l'HE du citron

L'administration de l'huile essentielle du citron se fait à partir du j_0 une fois par jours jusqu'aux derniers jours de l'expérimentation par une injection intra péritonéale à une dose de $30\mu\text{l}/\text{kg}$ par jours pour chaque rat.



Tableau 31 : Administration de l'huile essentielle du citron chez le rat (Image personnelle)

V. Paramètres mesurés pendant l'expérimentation

V.1. Suivi du poids corporel des rats

La prise du poids corporel des rats femelles est effectuée à l'aide d'une balance en gramme(g). Le poids a été suivi pendant la semaine que précède le traitement, puis chaque deux jour durant la période d'injection de l'huile essentielle du citron. Les variations du poids corporel des rats (Tableau 14) des 3 lots : témoin, régime hyper lipidique et huile essentielle sont notés dans le tableau, chaque valeur correspond (la moyenne+/-ESM) et le taux de croissance des rats par rapport au premier jour est exprimé en % et calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de croissance}(\%) = (P_{j_21} - P_{j_0}) * 100 / P_{j_0}$$

P_{j_0} : poids du premier jour



Figure 30 Mesure du poids corporel chez le rat (image personnelle)

V.2. Suivi de la circonférence abdominale

La circonférence abdominale de chaque rat a été mesurée au début (avant le traitement par HEC) et pendant le traitement par HEC (chaque deux jours). On a placé le mètre ruban autour du tour de taille (entre la dernière des côtes et le dessus).

Les variations de la circonférence abdominale de chaque rat des trois lots : témoin, régime hyper gras et (régime hyperlipidique+HE) sont représentés dans (le tableau 17).



Tableau 33: Mesure de la circonférence abdominale chez le rat (Image personnelle)

IV.3. Techniques d'analyse des paramètres sanguins

IV.3.1 Prelevement sanguin

Le prélèvement du sang est effectué par des tubes capillaires à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil avant et à la fin des 3 semaines. Les rats ont été anesthésiés par le chloroforme Pendant 2 à 3 minutes. Le sang total récupéré dans des tubes héparines est ensuite centrifugé à 3000 tr/min pendant 15 minutes, les tubes contenant du plasma sont immédiatement transportés dans une glacière au laboratoire d'analyse (Labo d'or Dr Charao. S, Constantine) en vue de l'analyse des paramètres biochimiques (Cholestérol - total, triglycérides, HDL- Cholestérol).



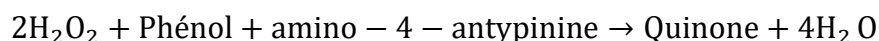
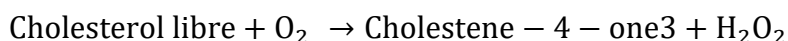
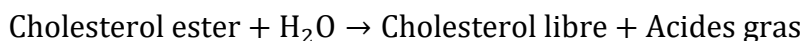
Figure34 : Prélèvement du sang au niveau de sinus retro-orbital (images personnelle)

Le taux du cholestérol total et des triglycérides sériques est déterminé par une technique enzymatique colorimétrique à l'aide d'un spectrophotomètre par un Kit de (SPINREACT) spécifique pour chaque paramètre.

IV.3.2. Dosage de la cholestérolémie

IV.3.2.1 Dosage du Cholestérol-Total

Le cholestérol est déterminé par la méthode enzymatique colorimétrique dans le plasma dans une série de réactions couplées au hydrolysent les esters de cholestérol et oxydent le groupe 3- OH du cholestérol (Kit Roch Diagnostic GmbH). L'un des sous-produits de réaction, H₂O₂ est catalysé par la peroxydase qui produit une couleur. L'absorbance est mesuré à 500nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de cholestérol :



Réactif1 : tampon, PH 6.9

Réactif2 : enzymes (CHE, CHOD et POD)

Réactif3 : Etalon de cholestérol (2g/l)

Solution du dosage :

	Blanc	Etalon	Dosage
Solution du travail (ml)	1	1	1
Etalon (Réactif3)		10	
Sérum (µl)			10

Attendre 5min à 37°C ou 10 min 20 à 25°C. Puis lire la densité optique de dosage à 50 nm (DOD) contre la densité optique de l'étalon (DOE).

Calcul :

$$\text{Taux de cholestérol} = (\text{DOD}/\text{DOE}) * 2 \text{ g/l}$$

Les teneurs en cholestérol sont exprimées en g/l

IV.3.2.2 Dosage du cholestérol-HDL

Le cholestérol-HDL est une lipoprotéine qui est considérée comme étant du bon cholestérol, il est véhiculé vers le foie pour être métabolisé et excréter sous forme de sels biliaires, il n'est pas athérogène par opposition au reste du cholestérol lié à la fraction

VLDL-LDL. En présence d'ions magnésium, le sulfate de d'estrane forme de manière sélective des complexes hydrosolubles avec les LDL, les VLDL et les chylomicrons ; ces complexes sont résistants vis-à-vis d'enzymes modifiées par le polyéthylène glycol.

La concentration en cholestérol des HDL, est déterminée par voie enzymatique à l'aide de cholestérol- estérase et de cholestérol-oxydase modifiées par du polyéthylène glycol (40%). Des groupes aminés de ces enzymes sont couplés à du polyéthylène glycol sous l'action de la cholestérol- estérase, les esters du cholestérol sont scindés en cholestérol libre et en acide gras (Kit Roche Diagnostic GmbH). La méthode utilisée de l'alpha-cyclodextrine sulfate en présence de Mg^{2+} , qui forme des complexes avec des lipoprotéines contenant de l'ApoB et de la cholestérol-estérase couplée au polyéthylène glycol et du cholestérol oxydase par la mesure du cholestérol HDL.

Les réactions sont les suivantes :

(1) ApoB contenant des lipoprotéines + α - cyclodextrine + Mg^{2+}
+ dextrane $SO_4 \rightarrow$ Complexes solubles non réactifs avec des lipoprotéines contenant de l'ApoB

(2) HDL - cholestérol esters \rightarrow HDL - cholestérol non esterifié + acides gras

(3) Cholestérol non esterifié + $O_2 \rightarrow$ Cholésténone + H_2O_2

(4) H_2O_2 + 5 - Aminophénazone + N - ethyl - N - (3 méthylphényl) - N
- succinyl éthylène diamine + H_2O + H^+ \rightarrow quinonimine + H_2O

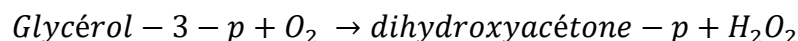
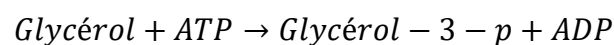
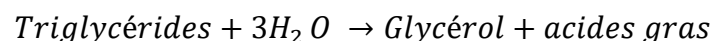
L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de HDL présente dans l'échantillon testé. L'absorbance est mesurée à 600nm.

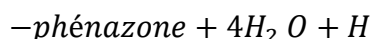
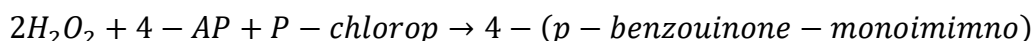
IV.3.3. Dosage des triglycérides

Le dosage des triglycérides sériques se fait entièrement par voie enzymatique par l'action d'une lipase selon la méthode colorimétrique enzymatique (Kit Roche Diagnostic GmbH). Les triglycérides sont hydrolysés en glycérol et en acides gras grâce à des lipases. Une suite de réactions aboutit à la formation de la peroxydase et d'une chromogène donne un composé coloré, La quinonéimine. La concentration en quinonéimine est proportionnelle à la concentration totale en triglycérides présent dans l'échantillon.

La concentration en TG est déterminée à une longueur d'onde $\lambda = 500nm$

La séquence de réactions est la suivante :





L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la quantité de triglycérides contenue dans l'échantillon du sérum

Réactif1 : tampon, PH7.5 **Réactif2** : enzyme (LPL, GK, GPO, POD, 4-AP et ATP)

Réactif3 : Etalon de triglycéride (2g/l)

Solution de travail :

- Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif1)
- La solution est stable pendant 14 jours de 20 à 25°C ou 56 jours de 2° à 8°c

Méthode de dosage :

	Blanc	Etalon	Dosage
Solution du travail (ml)	1	1	1
Etalon (µl)		10	
Sérum (µl)			10

Attendre 5 min à 37°C ou 10 min de 20 à 25°C, puis lire la densité optique de dosage à 505nm(DOD) contre la densité optique de l'étalon(DOE).

Calcul : Taux de triglycérides= (DOD/DOE)*2g/l

Les teneurs en triglycérides sont exprimées en g/l.

IV. Analyse statistique

L'analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft office Excel, 2010

Les résultats sont représentées sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type(Moy±ET)

Les calculs statistiques sont souvent utiles aux biologistes pour la détermination des valeurs normales ou plus exactement des valeurs de référence comme pour l'évaluation de précision et l'exactitude d'analyse (Schwartz, 1992 ; Imott, 1971).

La moyenne :

$$X = \frac{1}{n} \sum_i x_i$$

La variance :

$$V_x = 1/n \sum_i (x_i - \bar{x})^2$$

L'écart-type :

$$\sigma_x = \sqrt{V_x}$$

L'erreur standard de la moyenne : (S_m)

$$S_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

L'évaluation statistique est effectuée par le test T de student

✓ **Test de student**

Dans les études biologiques il est important de savoir si deux échantillons d'individus ou encore deux ou plusieurs séries de résultats d'expériences ou d'observations doivent être considérés comme réellement différents. Ce test permet de comparer deux moyennes

- En cas de petits échantillons (n_1 et/ou $n_2 < 30$)
- Comme notre cas on a 5 rats dans chaque lot, on applique cette loi ; dans un premier temps on calcule la variance comme suit :

$$\sigma^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 = \frac{\sum(x - m_1)^2 + \sum(x - m_2)^2}{n_1 + n_2 - 2} \Leftrightarrow \sigma^2 = \frac{n_1\sigma_1^2 + n_2\sigma_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

Dans ces conditions. La variance standard de la fréquence des moyennes est :

$$S_\sigma^2 = \sigma^2 \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]$$

Pour comparer les deux moyennes on applique le teste de student à 2 degrés de liberté qui dépend de la taille de l'échantillon

✓ $V = d.i.i = n_1 + n_2 - 2$

$$t_e = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\sigma^2 + \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

Si le t calculé ou expérimentale est plus élevé que de la taille de l'échantillon, la différence entre les moyennes des deux échantillons est significative.

La valeur de « t » nous donne le degré de signification « p » sur la table de student.

La différence entre deux moyennes est :

- peu significative : $p < 0.05 (*)$;
- Significative : $p < 0.01 (**)$;
- Très significative : $p < 0.001 (***)$;
- Hautement significative : $p < 0.0001 (****)$;

Chapitre III

Résultats et discussion

I. Les caractéristiques organoleptiques de l'HE du citron

Les paramètres organoleptiques de l'huile essentielle aspect, couleur, odeur sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 14 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de citron

	Aspect	Couleur	Odeur
AFNOR ISO 3140	Liquide, Limpide Fluide et mobile	Jaune très pale à transparent	Fraiche et épicée
Notre huile essentielle	Liquide, Limpide	Jaune très pale à transparent	Fraiche et épicée

II. Analyse physico-chimiques de l'HE du citron

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'huile essentielle de citron sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 15 : Résultats d'analyses physico-chimiques de l'huile essentielle du citron

	Notre huile essentielle	AFNOR-ISO 3140
Rendement%	1.09	0.5-2
pH	6.2	Acide faible

III. Etude des effets anti-obésogènes de l'HE du citron

III.1. Etude des effets de l'HE du citron sur le poids corporels

Tableau 16: Variations des valeurs du poids corporel chez les rats Rt, Rh et Rh HE

Jours	Poids corporel (gramme)		
	Groupe1 Rt	Groupe2 Rh	Groupe3 Rh HE
J0	167.89±4.16	204.25±12.53	220.22±14.15
J3	176.7±4.16	204.05±12.53	203.09±14.15
J5	178.37±4.16	213.06±12.53	203.45±14.15
J7	179.19±4.16	214.33±12.53	203.41±14.15
J9	180.6±4.16	222.5±12.53	204.14±14.15
J11	180.73±4.16	228.93±12.53	198.15±14.15
J13	180.95±4.16	230.9±12.53	193.99±14.15
J15	180.94±4.16	233.33±12.53	186.61±14.15
J17	182.8±4.16	237.43±12.53	178.16±14.15
J19	183.8±4.16	240.32±12.53	168.14±14.15
J21	184.6±16±4.16	243.2±12.53	165.32±14.15

Rt : Rat témoin Rh : Rat régime hyperlipidique Rh HE : Rat huile essentielle

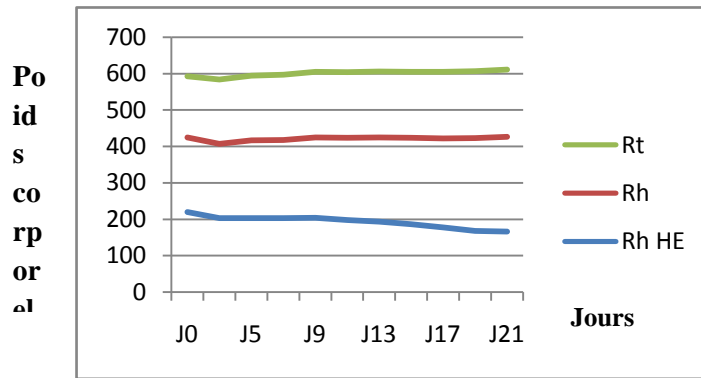


Figure 35 : Variation du poids corporel chez les groupes Rt, Rh et Rh HE

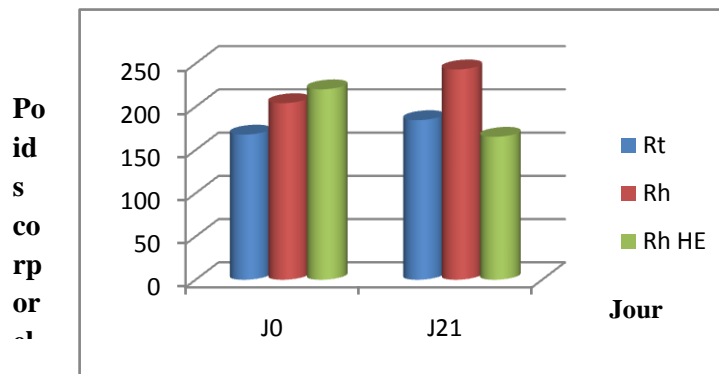


Figure 36: Evolution du poids corporel des groupes Rt, Rh et Rh HE

Le suivi régulier du poids corporel (PC) pendant 3 semaines, chez les 3 groupes des rats, nous a permis de dresser des courbes représentatives de l'évolution du PC durant cette période de traitement.

Nos résultats montrent que l'administration RHL induit une augmentation très hautement significative du PC des animaux entre le premier et les derniers jours. En effet le PC passe de 167.89 ± 4.16 à 183.8 ± 4.16 chez Rt et chez Rh ($p < 0.0001$).

L'administration intra péritonéale de L'HE du citron induit une diminution significative du PC ($p < 0.05$) de l'ordre de 220.22 ± 14.15 à 168.14 ± 14.15 chez Rh HE par rapport à Rh HE 204.25 ± 12.53 à 240.32 ± 12.53 .

III.2. Etude des effets de l'HE du citron sur la circonférence abdominale

Tableau17 : Variations des valeurs de la circonférence abdominale chez les groupes Rt, Rh, Rh HE

Circonférence Abdominale	Circonférence abdominale (centimètre)		
	Groupe1 Rt	Groupe2 Rh	Groupe3 Rh HE
J0	13±0.64	14.12±0.31	14.62±0.31
J3	13.25±0.64	14.12±0.31	14.25±0.31
J5	13.25±0.64	14.25±0.31	14.25±0.31
J7	13.62±0.64	14.56±0.31	14.18±0.31
J9	13.75±0.64	14.62±0.31	14.12±0.31
J11	13.75±0.64	14.75±0.31	14.06±0.31
J13	13.75±0.64	14.81±0.31	14±0.31
J15	13.75±0.64	14.87±0.31	13.75±0.31
J17	13.75±0.64	15±0.31	13.62±0.31
J19	13.75±0.64	15.02±0.31	13.48±0.31
J21	13.78±0.64	15.46±0.31	13.28±0.31

Rt : Rat témoin Rh : Rat régime hyperlipidique Rh HE : Rat huile essentielle

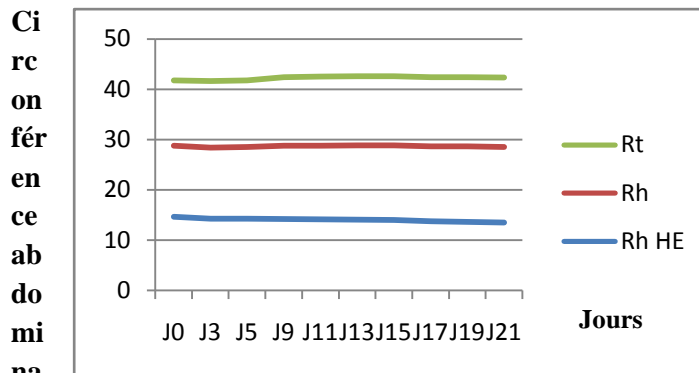


Figure 37: Les variations des valeurs de la circonférence abdominale Chez les groupes Rt, Rh et Rh HE

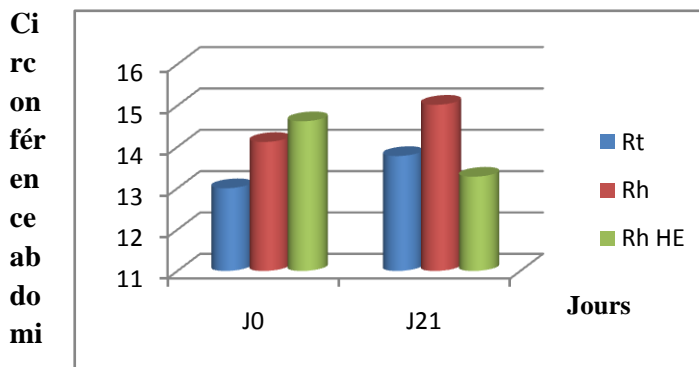


Figure 38: Evolution de la circonférence abdominale chez les groupes Rt, Rh et Rh HE

Le suivi régulier de l'évolution de la circonférence abdominale(CA) pendant 3 semaines, chez les 3 groupes des rats, nous a permis de dresser des courbes représentative de l'évolution de la CA absolu durant cette période de traitement.

Nos résultats montrent que l'administration RHL induit une augmentation de la CA des animaux entre le premier et les derniers jours (figure37). En effet le CA passe de $13. \pm 0.64$ à $13.75. \pm 13.64$ cm chez les rats témoins et de 14.12 ± 0.31 à 15.02 ± 0.31 cm chez les rats recevant le régime hyperlipidique.

L'administration intra péritonéale de l'HE du citron ramène significativement la CA des rats recevant un régime lipidique à la normale ($p < 0.05$). En effet la différence entre la valeur final et la valeur initial, et respectivement de l'ordre de 14.12 ± 0.31 à 15.02 ± 0.31 chez le groupe Rh et de 14.62 ± 0.31 à 13.48 ± 0.31 chez le groupe recevant le régime hyper lipidique supplémenté avec l'huile essentielle du citron.

IV. Etude des effets de l'HE du citron sur les paramètres biochimiques du sang

IV.1. Etude des effets de l'HE du citron sur le cholestérol-Total

Figure 18 : Concentration plasmatique de cholestérol-Total chez les groupes Rt, Rh et Rh HE

Lot	Dose injecté (i.p) $\mu\text{l/j}$	Cholestérol-Total (g/l)	
		J0	J21
Rt	30	0.47 ± 0.63	0.51 ± 0.34
Rh	30	0.58 ± 0.18	0.68 ± 0.27
Rh HE	30	0.64 ± 0.20	0.34 ± 1.42

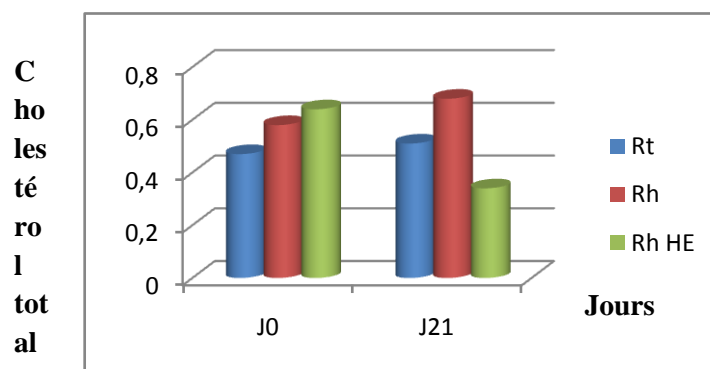


Figure 39: Concentration plasmatique de cholestérol-Total chez les groupes Rt, Rh et Rh HE

Nos résultats présentent une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) de la concentration plasmatique de cholestérol chez les rats de groupe Rh par rapport aux rats de groupe Rt, ces concentrations sont diminuées de façon très hautement significative chez le groupe Rh HE ($P < 0.01$) par rapport au groupe Rh.

IV.2. Etude des effets de l'HE du citron sur le HDL-cholestérol

Tableau 19 : Concentration plasmatique de HDL-cholestérol chez les groupes Rt, Rh et Rh HE

Lot	Dose injecté (i.p) µl/j	HDL-Cholestérol (g/l)	
		J0	J21
Rt	30	0.33±0.30	0.34±0.91
Rh	30	0.35±0.32	0.34±0.30
Rh HE	30	0.42±0.14	0.46±0.21

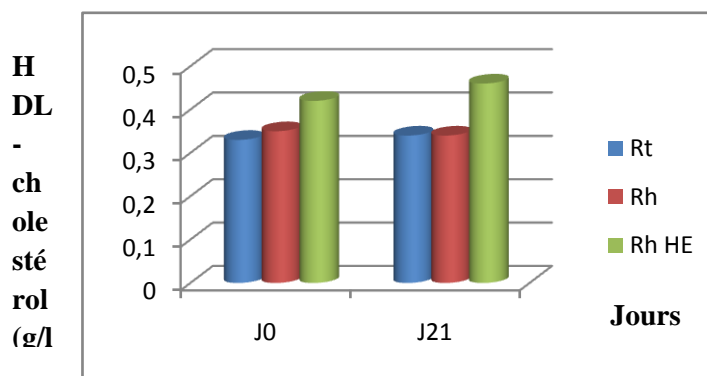


Figure 40: Concentration plasmatique de HDL-cholestérol chez les groupes Rh, Rh et Rh HE

La teneur en HDL-cholestérol ne montre aucune variation significative entre le groupe Rh et le groupe Rt ($P < 0.05$). Cependant le groupe Rh HE présente une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) par rapport au groupe Rh.

IV.3. Etude des effets de l'HE du citron sur les triglycérides

Tableau 20: Concentration plasmatique des triglycérides chez les groupes Rt, Rh et Rh HE

Lot	Dose injecté (i.p) µl/j	Triglycérides (g/l)	
		J0	J21
Rt	30	0.7±0.55	1.08±0.91
Rh	30	0.48±0.2	0.91±0.97
Rh HE	30	0.98±0.09	0.31±0.13

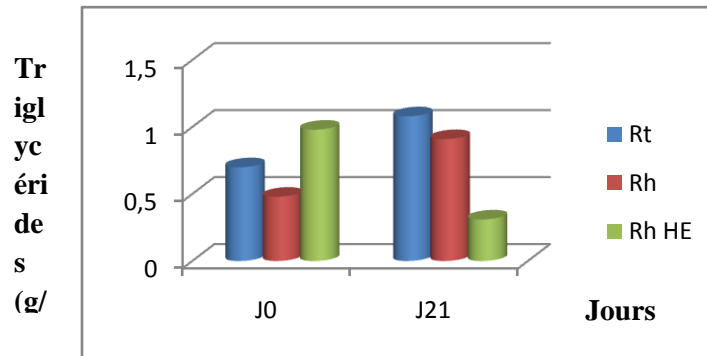


Figure 41 : Concentration plasmatique des triglycérides chez les groupes Rt, Rh et Rh HE

Les résultats obtenus montrent une augmentation hautement significative ($p < 0.001$) de concentration plasmatique de triglycérides chez le groupe Rh par rapport au groupe Rt cependant cette concentration diminue de façon très hautement significative ($p < 0.001$) chez les rats de groupe Rh HE par rapport au groupe RRH.

DISCUSSION

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'effet de l'HE du citron (30µl/kg/j) sur le profil lipidique et la masse pondérale chez les rats rendus obèses par un régime hyperlipidiques.

Notre huile essentielle a une couleur jaune à transparente avec une odeur fraîche et un aspect fluide et mobile. Le rendement de notre huile essentielle obtenu par hydro distillation de l'écorce de citron est de l'ordre de 1.09%. Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et biochimiques et peut influencer les propriétés stabilisatrices d'une huile essentielle, par conséquent, ce résultat peut amener à un caractère stabilisateur contre les microorganismes, ce qui permettra à ces huiles essentielles de jouer le rôle de conservateurs dans les produits alimentaires. Ces résultats ont montrés que notre huile essentielle est conforme avec ceux de la norme AFNOR ISO 3140. Notre huile essentielle est acide (pH6.2).

Dans notre étude le régime hyper lipidique induit une augmentation du poids corporel chez les rats soumis à ce régime par rapport aux rats soumis au régime standard. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Laissouf et *al*, 2014, qui montre qu'un régime hyper lipidique induit une obésité chez les rats Wister. La composition en acides gras des graisses alimentaires peut donc jouer un rôle important dans la régulation du poids corporel, surtout chez les obèses. Des études chez l'animal et chez l'homme ont montrés que les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont plus facilement utilisés comme combustibles, tandis que les acides gras saturés (AGS) sont plus susceptibles d'être accumuler dans les tissus adipeux (Hariri et *al*, 2010).

Les graisses alimentaires n'ont que peu d'effets sur la satiété, et l'exposition périodique à une alimentation hyper lipidique, notamment en cas de forte sensation de faim, peut suffire à entraîner chez les rats une surconsommation de calories sous forme de graisses (Golay, 1998)

La cellule adipeuse différenciée se charge en triglycérides (hypertrophie) jusqu'à atteindre une taille critique au-delà de laquelle elle recrute un nouveau pré-adipocyte. Le nombre d'adipocytes peut ainsi augmenter proportionnellement à la quantité de lipides à mettre en réserve, c'est ce qu'on appelle l'hyperplasie du tissu adipeux (Basdevant, 2003).

Nos résultats montrent aussi que le traitement des rats obèses par l'HE du citron induit une diminution du gain de poids corporel et une diminution de la prise alimentaire chez le groupe Rh HE par rapport au groupe Rh.

Selon (Kajimura et *al*, 2014) par l'augmentation des dépenses énergétiques obligatoires et la thermogénèse adaptative. La plupart des produits anti-obésité naturel (algue et plante médicinale) régulé le poids corporel grâce à une augmentation des dépenses énergétiques obligatoires. Ils régulent l'expression de la thermogénine, protéine clé de la thermogénèse dans le tissu adipeux brune, qui transforme l'énergie issu des aliments en chaleur.

Nos résultats présentent une augmentation significative de la concentration plasmatique) de cholestérol et de triglycérides et une diminution non significative de concentration de HDL- cholestérol chez les rats de groupe Rh par rapport aux rats de groupes Rt. Dans la présente étude, l'obésité provoquée par un régime hyperlipidique conduit à une élévation de teneur plasmatique en cholestérol total, en triglycérides, mais pas de variation au niveau de la teneur plasmatique en HDL-cholestérol chez les rats soumis au régime hyper lipidique Rh par rapport aux rats soumis au régime standard Rt.

Ces résultats sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs qui ont montré que les teneurs en triglycérides et en cholestérol chez les rats obèses sont plus élevés que chez les rats témoins soumis au régime standard (Charles, 2016 ; Fernandez et *al*, 2011 ; Naima et *al*, 2014).

L'hyperlipidémie observé chez les rats Rh peut s'expliquer par la forte teneur en lipide dans l'alimentation. Plusieurs auteurs ont constaté qu'une augmentation en teneur de lipides des aliments provoque une élévation de la concentration en cholestérol plasmatique, et modifie la composition des lipoprotéines plasmatiques, en augmentant notamment la portion d'esters de cholestérol dans les VLDL et LDL. Les modifications de la composition des lipoprotéines sont liées aux activités élevés de la HMG-CoA Réductase (enzyme impliquée dans la synthèse de cholestérol) et l'ACAT hépatique (Abbas et *al*, 2014).

Arafa et *al*, 2005 ont rapportés que l'hyperlipidémie, et en particulier, l'hypercholestérolémie peut être induit chez l'animal par un régime enrichi en cholestérol. Plusieurs travaux ont montré l'effet du cholestérol alimentaire sur la cholestérolémie : La supplémentation de régime alimentaires avec 0.5% de cholestérol et 0.5% d'acide cholique (Minhajuddin et *al*, 2005) ou avec deux doses de cholestérol (0.5% et 4%) avec ou sans acide cholique (Tanaka et *al*, 2005) montre une augmentation du cholestérol total (CT) sérique, d'autres travaux ont indiqué une augmentation de CT sérique et hépatique avec 1% de cholestérol et 0.5% d'acide cholique (Monte et Jimenez, 1993 ; Sakuma et *al*, 1997).

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'effet du cholestérol alimentaire sur les triglycérides. En effet, chez le rat le cholestérol alimentaire induit une hypertriglycéridémie (Osada et *al*, 1994). (Othani et *al*, 1990) ont observé le même effet sans aucun changement dans la synthèse de l'apo B. L'augmentation des TG sériques peut être due à la diminution de l'activité des récepteurs des lipoprotéines de faible densité (LDL), lorsque le régime est supplémenté en cholestérol (Calleja et *al*, 2000). Dans notre étude, la supplémentation du régime en cholestérol induit une hypertriglycéridémie chez les rats rendus hypercholestérolémiques.

La diminution observée dans le profil lipidique (cholestérol et triglycérides) étudiées chez les rats supplémentés avec l'huile essentielle du citron et en accords avec les travaux de (Pengzhan et *al*, 2003 ; Carvallio et *al*, 2009 de Qi et *al*, 2015). Cette diminution peut s'expliquer par les constituants de l'HE de citron.

Assini et *al*, 2013 ont montré que le fait de soumettre des souris à un régime supplémenté en citroflavonoïdes, pourrait prévenir et traiter la dyslipidémie et la stéatose hépatique, par inhibition de la synthèse des acides gras hépatiques et augmentation de l'oxydation des acides gras. De plus, (Khan et *al*, 2010) ont montré que le citrus limon pourrait être efficace contre l'hyperlipidémie puisque il est riche en vitamine C et renferme également différents types de flavonoïdes. En effet le limonène (60 à 70% de sa composition) par ses effets antioxydants permettrait de réduire la cholestérolémie (Spadaro et *al*, 2012). De plus, la présence d'hespéridine et d'ériocitrine, les 2 flavonoïdes les plus abondants dans le citron (Costa et *al*, 2014) expliquerait cet effet et contribuerait à améliorer la vasodilatation coronarienne à diminuer l'agrégation de la plaquette sanguine et à prévenir l'oxydation du LDL.

Des études antérieures ont démontré que les flavonoïdes et les limonites du citron abaissent le cholestérol sanguin chez les rats nourris avec un régime enrichie en cholestérol (Wang et *al*, 2011 ; Boshtam et *al*, 2010 ; Miceli et *al*, 2007 ; Miyake et *al*, 2006 ; Choi et *al*, 2004 ; Kim et *al*, 2003 ; Park et *al*, 2001 ; Kurowska et *al*, 2000 ; Bock et *al*, 1999 ; Kawaguchi et *al*, 1997)

Ces flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de l'activité de l'hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A réductase(HMG-COA réductase) et de l'acylés coenzyme A : cholestérol acyltransférase(ACAT) in vivo (Choi et *al*, 2004 ; Kim et *al*, 2003 ; Park et *al*, 2001 ; Bok et *al*, 1999) et in vitro (Wilcox et *al*, 2001) La HMG-COA réductase est impliqué dans la synthèse du cholestérol et la sécrétion du cholestérol VLDL et l'ACAT dans l'absorption intestinale et l'estérification du cholestérol.

De plus, Cirico et Omaye, (2006) ont noté que le jus de citrus limon ainsi que l'HE de son écorce corrigent l'augmentation du C-LDL, chez l'homme en entraînant une activation des récepteurs LDL ce qui induit la captation et la dégradation de ces lipoprotéines.

Bochtam et *al*, 2010 ont confirmé ces résultats chez les lapins males consommant un régime enrichi en cholestérol (1%) et supplémenté avec 1g de l'extrait aqueux de l'écorce de Citrus Limon. De même, certains auteurs ont montré que les flavanorres du citron diminuent le C-LDL et augmenter le C-HDL plasmatique (Melli et *al*, 2007 ; Monforte et *al*, 1995), diminuent le cholestérol dans les VLDL et LDL et augmentent le cholestérol HDL (Akiyama et *al*, 2010) et corriger ainsi la dyslipidémie.

Une étude a montré que la diminution des LDL était associée à une surexpression du gène du récepteur LDL et a une diminution de l'expression et de l'activité de la protéine microsomale de transfert des triglycérides (MTP) in vitro qui joue un rôle dans l'assemblage des lipoprotéines, principalement des triglycérides et des VLDL (Wilcox et *al*, 2001).

Il est important de souligner que la consommation du Citrus limon pourrait être responsable, en partie de la diminution du taux des TG plasmatiques, En effet, des études

ont rapporté que la supplémentation en hespéritine et en maringinine chez le rat consommant un régime enrichi en cholestérol, entraîne une diminution des triglycérides plasmatiques (Miceli et *al*, 2007 ; Choi et *al*, 2004 ; Kim et *al* ; 2003 ; Kawaguchi et *al*, 1997 ; Monforte et *al*, 1995) , une amélioration de l'hypertriglycéridémie (Akiyama et *al*, 2010), ou alors aucun effet (Ohtsuki et *al*, 2003).

L'effet hypotriglycéridémiant noté pourrait être dû à la répression de la voie de stérol regulatory élément binding protein-1C (SREBP-1C) dans les tissus adipeux et le foie et par conséquent à la diminution de la synthèse des triglycérides. De plus, cette hypotriglycéridémie est concomitante avec la réduction des TG-VLDL. En effet, la masse de VLDL est diminuée reflétant la réduction de leurs différents constituants de surface (apo et CL) et du centre (TG). Ce résultat est en accord avec ceux d'autres études (Green et *al*, 2013 ; Akiyama et *al*, 2010 ; Trovato et *al*, 2010 ; Kawaguchi et *al*, 1997).

Conclusion générale

CONCLUSION

La médecine traditionnelle est largement répandue et tient une place majeure dans le traitement de différentes maladies métaboliques. Le nombre des études en matière de recherche de nouvelles molécules capable de prévenir ou même de retarder l'apparition de ces maladies, reste très limitée. Ce travail a été orienté pour évaluer l'influence de la phytothérapie à base de l'huile essentielle de l'écorce de citron (*Citrus limon*) contre l'obésité et ses complications chez les rats rendus obèses par un régime hyper lipidique.

L'extraction de l'huile essentielle de l'écorce de citron (*Citrus limon*) par la méthode d'hydro distillation a montré un rendement de l'ordre de 1.09 % de matière végétale fraîche

Les propriétés physicochimiques telles que le pH et les propriétés organoleptiques sont conforme aux normes AFNOR.

D'après notre étude on peut conclure que le régime hyper lipidique conduit à l'installation de l'obésité, associée à des anomalies métaboliques comme l'hyperlipidémie.

Nos résultats ont montrés ainsi que l'huile essentielle de citron induit une perte de gains du poids corporel ceci serait due à l'effet bénéfique de cette plante contre l'obésité et le surpoids.

De plus, nous avons observés d'après notre étude que l'HE de citron a un effet hypolipidémique au niveau plasmatique. Ces résultats indiquent l'influence et l'efficacité de l'HE sur les mécanismes cellulaires qui contrôlent le métabolisme des lipides pouvant réduire le risque cardiovasculaire et la protection contre plusieurs maladies.

A la lumière de cette étude, nous avons constaté que l'HE de citron (*Citrus limon*) a des effets bénéfiques sur les altérations métaboliques chez les rats obèses. Son intégration dans l'alimentation peut participer à améliorer le profil métabolique et réduire l'incidence de l'obésité et ses complications à long terme.

En perspective. Il serait intéressant de :

- Tester et évaluer les différents composés et molécules bioactifs extraites du citron sur le gain de poids et le profil lipidique chez les sujets obèses.
- Tester et exploiter d'autres espèces du citron et d'agrumes.
- Sensibiliser la population sur le potentielle préventif de l'utilisation nutritionnelle et pharmacologique de ces produits et molécules naturelles comme des alicaments.

Références bibliographiques

Référence Bibliographiques

A

Abbas K and djermoun M ; (2015)- Etude de l'effet de l'extrait aqueux de Portulaca Oleracea sur l'obésité chez les rats wister. Thèse de doctorat en biochimie appliquée. Université Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued, 108p.

<http://WWW.ncbi.nlm.nih.gov/pubme/15990684>.

ACQUELLNE SMADJA, les huiles essentielles. Université de la réunion, 2009.

AFNOR, Association Française de normalisation Normes Française : huile essentielle. Ed. Afnor, Paris.

Ailhaud C ; 2008-Apports lipidiques et Prise de poids : Aspects qualitatif OCL. Vol.15(1) : 37-40.

Akiyama S ; Katsumata S ; Suzuki K ; Isnimiy ; Ishimi Y ; Wu J and Uehara M.(2010)- Dietary hesperedin exerts hypoglycemic and hypolipidemic effects in streptozotocin-induced margimaltype 1 diabetic rats. J Clin Biochem Nutr : 46 :87-92.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20104270>.

Angelopoulou D ; Denetzos C and Perdetzoglou D. (2002)-Diarnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from cistus monspeliensis L. Leaves, Biochemical systemic and Ecology, 30 :189-203.

Arafa H.M ; (2005)-Cuminum attenuates diet-induced hypercholesterolémia in rats. Med Sci Monit.11(7) : BR228-234.

Assini J.M ; Mulvihill E.E and Huff M.W ; (2013)- Citrus flavonoïdes and lipid metabolism Curr Opin Lipidol.24(1) : 34-40

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23254473>.

Audigie C L; Dupon G et Zonsgain F ; (1995)-Principes des méthodes d'analyse biochimique.TI.2^{ème} ED.Doin Paris.p44.

Azevedo N.R ; **Campos I.F.P** ; Ferreira H, D ; Portes T.A ; Santos S. C ; Seraphin J.C ; Paula J.R and Ferri P.H. (2001)-chemical variabilityin the essential oil of Hyptis suaveolens. Phytochemistry, 57 : 733-736.

B

Basdevant A ; (2003)- Histoire naturelle des obésités Bull.A-ad.Nable Med.Vol.22(3) : 187(7) : 1343-1355.

Référence Bibliographiques

Basdevant ; Guy-Grand B ; 2004-Traité de médecine de l'obésité. Ed Flammarion Médecine Sciences, Paris.431p.

Baudoux D. (1997)-Un procédé, une analyse, une définition. Aroma New. Lettre d'information de N.A.R.D : Naturel Aromatherapy Research and Development.

Benayad N. (2008) : Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines. Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de substances Naturelles et thermolyse Eclair. Département de chimie. Faculté des sciences de Rabat. P61

Bencheikh H. (2005)-contribution à l'étude de la composition de l'activité antimicrobienne et de la cytotoxicité des huiles essentielles des thymus fontanesii et de Foeniculum Vulgare. Mémoire de Magistère. Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.

Benouli D (2016)-Mémoire pour Master en Control de qualité. Extraction et identification des huiles essentielles. Université d'Oran. Département de Chimie physiques. Faculté de Chimie p4.

Bisht K ; Wagner K. H ; Boulmer A.C ; 2010-Curcumin ; resveratrol and flavonoïdes as anti-inflammatory. Cyto-and DNA-protective dietary compounds. Toxicology. Vol.278 (1) : 88-100.

Boira H et Blanquer A. (1998)-Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in thymus piperella L. Biochemical systematic and Ecology, 26 :811-822.

Bok S H ; Lee S H ; Park Y B ; Bae K H ; Son K H ; Jeong T S and Choi M S. (1999)-Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3- methyle glutaryl CoA reductase and acyl CoA : cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extractor

Mixture of Citrus bioflavonoids.J Nutr.129(6) : 1182-1185.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10356084>.

Boshtam M ; Moshataghian J ; Nederi G. & Asgary S. (2010). Citrus Limon Burn f. Can change affinity of LDL and OX-LDL to their receptors in rabbits with atherogenic diet. Atheroscler Suppl. 11(2) : 145.

<http://www.science-direct.com/science/article/pii/S1567568810706784>.

Bouamer A. Bellachit et Mollay Amara. Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe verte et la menthe poivrée de la région d'Ouargla. Mémoire DES. Université de Ouargla, 2004 P 2-5 ; 10 ; 19 ; 21-22.

Référence Bibliographiques

Bouanane N ; Boussehel N. Contribution agroécologique aux essais d'introduction de la menthe poivrée (menthe piperata L) dans la région de Ouargla en vue de l'utilisation de ses huiles essentielles en thérapie, mém Ing. Univ. Ouargla 2005-P22-23 ; 28.

Boujemaa N.E et **BEN Guegua H. (2010)** : L'effet antimicrobien de *Nigella sativa*. Mémoire de fin d'étude. Université Kasdi merbah-Ourgla. Département des sciences de la Nature et de la vie. Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers.

Bousbia N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse cotutelle présentée pour obtenir le grade de docteur en sciences université d'Avignon et des pays de Vaucluse and Ecole Nationale supérieure Agronomique. 128P.

Boutekedjiret C. Etude des procédés d'extraction appliqués à la récupération des essences de romarin : transfert de matière et modélisation. Thèse de doctorat, DPT génie chimique. E.N.P. Alger 1999.

www. Yaha. Fr/co2/procédés-industriels/G2-super-critique.

Bruneton J ;(1999). Pharmacognosie. phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition. Ed, TEC et DOC Paris.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier, 2^{ème} édition.

Burgot G ; Burgot J. L ; Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications : Méthodes chromatographiques électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques, 3^{ème} Edition Tec and Doc Lavoisier 2011 p.10, ISBN : 978-2-7430-1337-0. Biochimique. T1, 2^{ème} ED. Doin, Paris, p.44.

C

Calleja L ; Paris M A and Paul A ; (1999)-Low-cholesterol and high fat diets reduce atherosclerotic lesion development in Apo E-knockout mice. *Arterioscler thromb vasc Biol.* 19 : 2368-2375.

<http://atvb.ahajournals.org/content/19/10/23680>. Abstract.

Caude M et **Jardi A** (1996)-Méthodes chromatographiques Dossier P1445, Base documentaire Techniques d'analyse, vol, Papier TA2

Cavaleiro C ; Salgueiro L.R ; Dacunha A.P ; Figueiredo O.A.C ; Barroso J.G and Cazanova J. (2003). Composition and variability of the essential oils of the leaves and berries from *Juniperus navicularis*. *Biochemical systematics and Ecology*, 31 :193-201.

Référence Bibliographiques

Charles C ; (2016)- Inflammation du tissu adipeux au cours de l'obésité humaine : implication des lymphocytes Th17. Thèse doctorat physiologie (q-bio.TO). Université Pierre et Marie Curie Paris VI. Français 207p.

Choi G S ; Lee S ; Jeong T S ; Lee M K. Lee J S ; Jung U J ; Fim H J ; Park Y B ; Bok S.H and Choi M S ; (2004)-Evaluation of hesperidin 7-O-lauryl éther as lipid-lowering agent in high-cholesterol-fed rats. *Bioorg Med Chem* 12(13) : 3599-3605.

<http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/1518686844>.

Cirico T L and Omaye S T.(2006)-Additive of synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation food chem toxicol.44(4) : 510-516.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16216401>.

Costa R ; Russo M ; Degrasia S ; Grasso E ; Dugo P and Mondello L ; (2014)-Thorough investigation of the oxygene heterocyclic fraction of lime (*Citrus aurantifolia* (Chrism) Swingle) juice. *J Sep Sci*.37(7) : 792-797.

D

Dalichaouch S-Benchaoui ; Nourredine Abadi. *Int.J.Pharm.Sci.Rev.Res* ; 32(2), May-June 2015 ; Article No.02, Pages : 9-13.

Daoy A (2009). L'oranger amer ou bigaradier actualités pharmaceutique volume 48, page 47-49.

Descheppeer R (2017) : Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en Aromathérapie. Mémoire pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Faculté de pharmacie de Marseille p25

Djibo A.K ; Samaté A.D et Nacro M. (2004)-Composition chimique de l'huile essentielle *Ocimum Americanum* Linn ; syn. *Canum sins* du Burkina Faso. *Compte rendu chimie*, 7 :1033-1037.

Dok S.H. Lee S.H ; Lee S.H ; Park Y.B ; Bae K.H ; Son K.H ; Jeong T.S & Choi M.S.(1999).

Plasma and hepatic cholestérol and hepatic activities of 3-hydroxy-3- méthyl-glutaryl-CoA réductase and acyl CoA : cholesterol transferase are lower in rats fed Citrus peel extract or a mixture of Citrus bioflavonoids. *J Nutr* : 129(6) : 1182-1185.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10356084>.

E

Ecormier J. (200). Les arbres fruitiers, le grand tamarinier. Azalées. ED. Sainte-Marie, P230.

Référence Bibliographiques

<http://fr.m.wikipedia.org>citron>.

EDQM. Huiles essentielles-Aetherolea. Pharmacopée Européenne (2017).9^{ème} éd.

Edris A.E ; Shalaby A et Fadel H. (2003). Evaluation of a chemotype of spearment (Menthaspictal) growing in Siva Oasis, Egypt.Eur, food. Technol, 218 :74-78.

Eisenhut M. (2007). The toxicity of essential oils- article in presse. International Journal of infectious Diseases, 11(4) : 365.

Elkolli M. (2008)-Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Athemis pedunculata Desp ; d'Athemis punctata Vahi et de Daucus crinitus Des F. Mémoire de Magistère. Département de biology, Faculté de sciences. UFA de Sétif.

F

Faucon M. (2015). Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : Fondements and aide à la prescription, Edition sang de la terre, Paris, PP : 39-455.

Fernandez S.A ; Madrigal S, J ; Morales G ; IA ; Esquivel R.G ; Valadez V.C and Morales E.J ; (2011)- Inflammation oxidative stress and obesity. International journal of molécular sciences.(5).3117-3132p.

Francis D.K ; Vanden Broeck J ; Youngern ; 2009-Fast food and sweetened beverage consumption : association with overweight and high waist circum ferece in adolescents.Public Health Nutr. Vol.12(8) : 1106-1114.

G

Ganzalez-Molina E. dominguez- perles, Ro, Moreno D.A et Garcia-Viguera C.(2010). Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health J.Pharm Biomed. Anal, 51 : 327-345.

Gérault C ; Cleenewerk M.B ; Jelen G ; Gérard I and Tripodi D (2010). Dermatites éczématiformes et métiers de bouche, revue Fracaise d'allergie. Volume : SO, pages109-203.

Gil-Iz quierdo A ; Riquelme M.T ; Porras I et Ferreres F. (2004).Effet of the rootstock and interstock grafted in lemon tree (Citrus limon (L) Burm) on the flavonoid content of lemon, 52 : 324-331.

Golay -Rôle des graisses alimentaires dans le développement de l'obésité : obésité et lipides. Oléagineux, corps gras, lipides. Vol. 5(3) : 205-207.

Golloun F ; Tonelli N. (2013) des fruits et des graines comestible du monde entier. Edition Brigitte Peyrot Poos, Paris Lavoisier SAS.PP.186-195.

Référence Bibliographiques

Gonzalez-Molina E ; Domingue Z- Péries R ; Moreno compounds of Citrus limon for food **Green C O** ; wheatley A O ; Mc growder D A ; Dilworth L.L and Asemota H N (2013)- Citrus peel poly methoxylated flavones extract modulates Liver and heart induced function parameters in diet induced hypercholesterolemie rats.food chem toxicol.51 :306-309.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23099503>.

Guimaraes R ; Barros L ; Brreira J.C.M. Sousa M. J ; Carvalho A.M et Ferreira ; I.C.F.R. (2010). Targeting excessive free radicals with peels and juices of Citrus fruits : Grapefruit, lemon, lime and orange. Food chem. Toxicol, 48 :99-106.

H

Hariri N ; Gougeon R ; Thibault L ; (2010)-A highly saturated fat-rich diet is more obesogenic than diets with lower saturated fat content nutrition research. Vol. 30 : 632-643.

Hellal Z. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (sardinophilus).

Hemwimon S ; Pavasant P & Shotiprux A. Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of Morinda Citrifolia. Séparation and purification Technology, 2007, Vol.54 ; pp 44-50.

J

Janati S.S.F.Boheshti H. R ; Ferzy J et Fahim N.K. (2012). Chemical composition of lemon (Citrus limon) and peels its considerations as animal food. GIDA, 37(5) : 267-271.

Jordan M J ; Martinez R M ; Goodner K L ; Baldwin E A ; and Stomayer J A(2006)- Seasonal variation of Thymus hyemalis lange and Spanish Thymus Vulgaris L, Essential oils composition, industrial crops and products

Juteau F ; Masotte V ; Bessiere J.M and Viano J. (2002)-compositional characteristics of essential oil of Artemisia campestris var.glutinosa. Biochemical systematic and Ecology, 30 :1065-1070.

K

Kajimura S ; Saito M ; (2014)-A new era in brown adipose tissue biology : Molecular control of brown fat development and energy homeostasis. Annus.Rev.Physiol.(76) : 225-249p.

Kawaguchi K ; Mizuno T ; Aida K and Uchino K ;(1997)-Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas, biosci biotechnol biochem 61(1) : 4-102.

Référence Bibliographiques

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9028038>.

KESBI Amrane. Etude des propriétés physicochimiques et évaluation de l'activité biologique es huiles essentielles d'eucalyptus globales dans la région de Ourgla (2011), p14.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11063434>.

Khajeh M ; Yamini Y ; Sefidkon F and Bahramifar N. (2004)-Comparaison of essential oil composition of Carum. Copticum obtained by supercriticalcarbon dioxide extraction and hydrosistillation methods. Food chemistry.26 :587-591.

Khajeh M ; Yamini Y ; Bahramifair N ; Sefidton F and Pirmoradei M.R. (2005)- Comparaison of essential oil composition of ferula assa soetida obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrosistillation methods. Food Chemistry 91 : 639-644.

Khan Y ; Khan R.A ; Afroz S & Sidding A ; (2010)- Evaluation of hypolipidemic effect of Citrus limon J Bas Appl Sci.6(1) : 39-43.

<http://itunes.apple.com/us/book/evaluation-hyperlipidemic-effect/id483356754?mt=11>.

Kim H K ; Jeong T S. Lee M K ; Park Y B and Choi M S. (2003)-Lipid-Lowering efficacyol hesperetin métabolites in high.Cholesterol fed rats.Clin Chim Acta.327 (1-2) : 129-137.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12482628>.

Kurowska E M ; Spence J.D ; Jordan J ; Wetmore S ; Freeman D.J ; Piché L.A and Serratmore P. (2000). HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. Am J Clin Nutr. 72(5) : 1095-1100.

<http://www.ncbi-nlmnihgov/pubmed/11063434>.

L

Laissof A ; Mokhtari Soulimane N-A ; Merzouk H ; (2014)- L'effet therapeutique de l'huile de lim « linumusitatissimum » et l'ypercholesterolémie chez des rats obèses âgés. Afrique science. Vol.10(2) : 409-418.

Laouer H. (2004)-Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne es huiles essentielles d'ammoides pusilla et de Magydaris pastinacea. Thèse de Doctorat d'état, département de Biology. Faculté des sciences. UFA de Sétif.

Lucchesi M.E : (2005)-Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en sciences discipline : Chimie. Université de la réunion, faculté des sciences et technologies.

Référence Bibliographiques

M

Madeira S.V.F ; Rablo M ; Saares P.M.G ; Souza E.p ; Meineles A.V.P ; Montenegro C ; Lima R.F ; Assrey A.M.S and Criddle D.N. (2005)-Temporal variation of Chemical composition and relaxantation of the essential oil of ocimum gratissimum L. ; (labiateae) on Guinea-pigilum, phytomédecine, 12 :506-509.

Mahcene Zineb et Boukaraa Naima. Essai de developper un bioconserveur à base Rasmarinus officinalis Université Kasdi Marbah Ouargla (2006), P19, 20,21.

Manish K ; Mahesh A. R.M Somache-Khare.2013.Evolution of Antitubercular Activity of Methanolic Extract of Citrus Sinensis : 18-22.

Neffati A, Thèse de doctorat en sciences de l'université de Caen, Etude de la composition Chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une Apiaceae de Tunisie : Pituranthos Chlorantus.2010.

Meflah S. Mémoire pour Master en Génie de l'environnement. Caractérisation des huiles essentielles de citron (feuilles, fruits) de la région d'Ouargla. Université Kasdi Merbah Ouargla.2015.

Miceli N ; Mondello M.R ; Monforte M T ; Sdrafkakis V ; Dugo P ; Crupi M L ; Traviano M E ; De pasuale R and Trovato A ; (2007)-Hypolipidemic effects of citrus bergamia Risso et Poiteau juice in rats fed a hypercholesterolemic diet.J agric food chem 55(26) : 10671-10677.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18038978>.

Minhajuddin M ; Beg Z.H.and Iqbal J. (2005). Hypolipidemic and antioxidant properties of to tocotrienol rich fraction isolated from rice bran oil in experimentally induced hyperlipiemic rats. Food chem Toxicol, 43(5) : 747-753.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/157780150>.

Miyake Y ; Yamamoto K ; Tsujihara N and Osawa T ; (1998). Protective effects of lemon flavonoïdes on oxidative stress in diabetic rats. Lipids.3(7).689.695.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9688172>.

Miyake y ; Sakurai C ; Usuda M ; Fucumotos S ; Hiramistsu M ; Sakaida K ; Osawa T and Kondo K ; (2006)- Différence in plasma métabolite concentration after ingestion of lemon flavonoids and their aglycones in humans. J Nutr sci.Vitaminol.52(1) :54-60.

Mockute D and Judzentiene A. (2003)-Variability of the essential oils composition of Achillea millefolium ssp. Millefolium growing will in Lithuania. Biochemical systématique and Ecology, 31 :1033-1045.

Référence Bibliographiques

Mohamdi.Z. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou Baker belkaid Tlemcen, 2005, 89-92.

Monforte M T ; Trovato A ; Kirjavainen S ; Forestieri A M ; Galati E M and Locurdo R B ; (1995)-Biological effects of hesperidin a citrus flavonoid. (Note II) : hyperlipidemic activity on experimental hypocholesterolemia in rat. *Farmaco*.50(9) :595-599.

<http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/7495469>.

Monte M.J and Jimenez R. (1993)-Effects of a hypercholesterolemia-inducing diet on biliary electrolytes and lipid secretion in the rat. In *J exp pathol*.74(2) : 203-210.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PM2002114/>.

N

Neffati A(2010) : Etude de la composition chimique et évaluation d'activités biologiques de l'huile essentielle d'une Apiaceae de Tunisie Thèse de Doctorat en sciences de l'université de Caen. *Pituranthos chloranthus*.

Niyah Njik G ; Watchop ; Nguelefack T.B. Kamanyi A ; 2005-Hypoglycaemic activity of the leaves of *Bersama engleriana* in rats. *Af J Trad. Vol. 2*(3).

O

Oboh G.A. Ademosun O.2012. Characterisation of the antioxidant properties of phenolic extracts from some Citrus peels : 729-736.

Oliveira M.J ; Iani F, P, C ; Oliveira C.B.A ; Santos M.R ; Souza P.S ; Santos S.C ; Seraphin J.C and Ferri P.H. (2005)-Influence of growth phase on the essential oil composition of *hyptis suaveolens*. *Biochemical systematics and Ecology*, 33 : 275-285.

OMS (organisation Mondiale de la santé) ; 2003-Obésité : prévention et prise en charge de l'épidémie mondiale. Rapport d'une consultation de l'OMS Genève. Série de rapports techniques. Vol 894 : 15-16.

Ohtsuk K ; Abe A ; Abe A ; Mitsuzunsi A ; Kondo M ; Uemura k ; Iwasaki Y and Kondo Y ; (2003)-Glucosyl hesperidin improves serum cholesterol composition and inhibits by peritrophy in vasculature. *J Nutr Sci vitaminol (Tokyo)*.49 (6) :447-450.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14974738>.

Okwu D.E ; Emenike I.N. (2006). Evaluation of phytonutrients and vitamin contents of Citrus fruits. *International journal of Molecular Médecine and Advance Science* 1 :1-6.

Osada J ; Fernandez-Sanchez A ; Diaz Morillo J.I. Miro-Obradors M, J ; Cebrian J.A ; Carrizosa C ; Ordoñas J, M and Palacios-Alaiz E ; (1994)-Differential effect of dietary fat

Référence Bibliographiques

saturation and cholesterol on hépatic apolipo protein gene expression in rats. *Atherosclerosis*.108(1) : 83-90.

Otani L ; Ninomya T ; Murakami M ; Osajima K ; Kato H and murakami T ; (1999)-Sardine peptide with angiotensin T. Converting enzyme inhibitory activity improves glucose toleance in stoke-prone spontaneously hypertensive rats. *Biosci biotechnol biochem* 73(10) : 2203-2209.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pumec/19809178>.

P

Palà-paul J ; Perez-Alonso MJ ; Velasco-Negueruel A ; Palà-paul R ; Sane J and Conejero F. (2001)-seasona, variation in chemical constituents of santolina rosmarinifolia Lssp rosmarinifolia biochemical systematic and écology, 29 : 663-672.

Pellerin P (1991). Supercritical fluid extraction of natural raw matériaux for the flavour and perfume industry. *Perfum. Flavor*.16.4.37-39.

Pellerin P (2001) : Extraction par le CO₂ à l'état supercritique. *Ann. Fals. Exp : chim*.V.94, N°_954-PP : 51-62.

Peng H.Y and Yang X.E. (2005)-volatile constituent in the flowers of Elsholtzia argyi and their variation à possible utilisation of plant resources after phytoremediation. *Journal of the Jiang university science*, 6B (2) : 91-95.

Piribi M.C. (2006) : Assainissement microbiologiques de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat de la Faculté Environnement Naturel, Architectural et construit LAUSANNE P ; 28-42.

Platzer N. (2002)-Application de la RMN à la détermination des structures. Base documentaire, techniques d'analyse, dossier.p1092, Vol. TA.

Porter N.Essential oils and their production. *Crop and Food reasearch*. Number 39(2001).

R

Ramful D ; Tarnus E ; Aruoma O.I ; Bourdoss E ; Bahroun T. (2011).Polyphénol composition, vitamine C content and antioxidant capacity of Mauritian Citrus fruit pulpe ; *food research Internatonational* ; 44 :2088-2099.

Randriana lijaona J.A ; Ramanoelina P.A.R ; Rasoarzhona J.R.E and Gaydou E.M. (2005)-Seasonal and chemotype influences ou the chemical composition of Landana camara.L'essential oils from Madagascar, *analytica chima Acta*, 545 :46-52.

Référence Bibliographiques

Rhayour K. Thèse du Doctorat Nationale. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Faculté des sciences Dhar Mehraz-Fès, 2002.

Rouessac F ; Rouessac A ; Brooks S : Chemical analysis (2004)- Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes, méthodes séparatives. 6^{ème} Ed. Dunad, Paris, p. 102.

S

Sakuma Y ; Hagiliara H ; Nagayoshi A ; Ohnek ; Mutoh S ; Itoy Y ; Nakahara K ; Notsu Y and Okuhara M ; (1997)-Effects of FR145237 an aryl-CoA ; cholesterol acyltransferase inhibitor on diet-induced hypercholesterolemia in diabetic rats. Life Sci 60(6) : 351-356.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9031680>.

Saleria H.A.R ; Butt M.S ; Anjum F.M ; Saeed F. & Ahmed A.N. (2012). Aqueous garlic extract and its phytochemical profile, Spéciale reference to antioxidant status. Int J food Sci Nutr. 63(4) : 431-439.

Santos R.M ; Fortes G.A.C. Ferri P.H ; Santos S.C. (2011). Influence of foliar nutrients on phenol levels in leaves of Eugenia uniflora ; Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn ; 21(4) :581-586.

Schwob L ; Bessiere J.M ; Masotti V and Viano J. (2004)-change in essential oil composition in saint John's wort ypericum perforatum L, acrial parts during its phonological cycle. Biochemical systematics and Ecology, 32 :735-745.

Sefidkon F ; Abbasi k ; Jamzad Z and Ahmadis. (2007)-The effect of distillation methods and stage of plant growthn the essential oil content an composition of saturfa Rechingeri jamzad. Food chemistry, 100 :1054-1058.

Sivestre A.J. D ; Cavaleiro J.A.S ; Delmond B. Filliatre C and Bourgeois G. (1997)-Analysis of the variation of the essential oil composition of Eucalyptus globulis Labill, from Portugal using multivariate statistical analysis.Industrial crop and products, 6 :27-33.

Skoula M ; Abidi C and Kokkalou E. (1996)-Essential oil variation of Lavandula stoechas L, ssp, Stoechas growing wild in crête (Greece), Biochemical systématics and Ecology, 24(3) :255-260.

Smallfield B. (2001)- Introduction to growing herbs for essential oils, médicinal and culinary purposes, crop and food Research. Numberus 5, P4.

Stéphanie D and Séverine S ; (2016).The protective effect of antioxidants consumption on diabètes and vascular complications diseases. (4) :24p.

Souhaila. Dalichaouch-Benchaoui, Noumedine. Abadi Int. J. Pharm. Sci.Rev.Res ; 32(2), May- June 2015 ; Article No 02. Pages : 9-13.

Référence Bibliographiques

Svoboda K.P and Hampson J.B. (1999)-Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities, <http://www.CSI.gov.uv/ienica/seminars/>.

T

Tanake M ; Makaya S ; Kumai T ; Watanabe M.Matsumuto N & Kobayashi S. (2005). Impaired testicular function rats wister diet-induced hypercholesterolemia and/or streptozotocin-induced diabète mellitus. *Endocrinol Res.*27 (1-2) : 109-117.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11428703>.

Teisseire P.J. (1991), Chimie des substances odorantes. Tec et Doc ; Lavoisier, Paris, France.480p.

Terol J ; Soler G ; Talon M et Cercos M. (2010). The aconitate hydratase family from Citrus. *BMC plant Biology*, 10 :222.

Trovato A ; Taviano M E ; Pergolizzis S ; Campolo L ; De Pasquale R and Micelli M ; (2010)-Citrus bergamia Risso and poiteau juice protects against renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats, *phytother Res.*24(4) :514-519.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubme/19655295>.

V

Viljoen A.M ; Denicri B ; Beserkh C ; Potgieter C.J and Edwards T.J. (2006)-Micro distillation and essential oil Chemistry- auseful tool for detecting hybridisation in *Pletranthus Clamiaceaed*. *South African Journal of Botany*, 72-99-104.

W

Wang X ; Hasegawa J ; Kitamura Y ; Wang Z ; Matsuda A ; Shinoda W ; Miura N and Kimura K ; (2011)-Effects of heperidin on the progression of hypercholesterolemia and fatty liver induced by high-cholesterol diet in rats. *J pharmacol Sci.*117(3) : 129-138.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21979313>.

Wilcox L J ; Borradaile N M ; de Dreu L E and Huff M W ;(2001)-Secretion of hepatocyte apo B is inhibited by the flavonoids naringenin and hesperetin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP.*J Lipid Res.*42 :34-725.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11352979>.

Wijesekara R.O.B ; Ratnatunga C.M ; Darbeck K ; 1997 : the distillation of Essential oils Manufacturing and plant Construction Handbook.Eschbom, Federa, Republic of Germany, protrade. Département of foods tuffs and Agricultural products, p56-57.

Référence Bibliographiques

Y

Yaacoub R et 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 du diplôme de Master en Génie chimique. Université Larbi Ben Mhidi Oum el Bouaghi.

Yavari kia P ; Safajou F ; Shahnazi M et Nazemiyeh H. (2014). The effect of lemon inhalation aromatherapy on nausea and vomiting of pregnancy a double-blinded, randomized, controlled clinical trial. Iran Red rescent Med J, 16(3).

Yayi E ; Gbenou J.D ; Aboussi L.A ; Moudachirou M et Chalchat J.C. (2004)-ocimum gratissimum L ; siège de variation chimiques complexes au cours du développement Compte rendus chimie, 7 : 1013-1018.

<http://www.daniele festy.com>2011.

Z

Zambelli A.D'aurelio A.Z ; Severi A, Benvenuti E ; Maggi L et Bianchi A. (2004)- Chemical composition and fungicidal activity of commercial oils thymus vulgaris L.J. Essent oil Res. 16(1) : P69-74.

Zheljazkov V.D ; Craker L.E and xing B. (2005)-Effets of cd, pb and cu on growth and essential oil contents in dill, peppermint and basil. Environmental and experimental botany.

[http:// www.daniele festy.com](http://www.daniele festy.com) (2011).

Zhou I ; Zhou S ; Tang J ; Zhang K ; Guang L ; Huang Y ; Xu Y ; Ying Y ; Zhang L ; Li D ; 2009-protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin and high-carbohydrate/high-fat diet-induced diabetic rats. European Journal of pharmacology Vol, 606 : 262-268.