REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Chimie

Spécialité :

Chimie Pharmaceutique

Par :

Brahim Belhaouari Nacera
Boudergua Amina

Thème :

Etude cinétique de l'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles du *Pelargonium Graveolens*

Soutenue publiquement le : 19 /06 /2018., Devant le jury composé de :

Maachouhamida	Grade : MCB	Etablissement	Président
Youcef ettoumi Khadija	Grade : MCB	Etablissement	Examinateur
Madani Leila	Grade : MCB	Etablissement	Encadreur
Zouambia Yamina	Grade : MCA	Etablissement	Co-Encadreur

Année universitaire 2017/2018

Dédicace

Grace à l'aide du dieu le tout puissant,

j'ai pu achever ce modeste travail que je tiens dédier :

A toi chère ***mère****, je n'aurais jamais réussir sans tes prières.*
Je te savais patiente et indulgente avec un caractère d'acier,
et pour moi la meilleure guide de l'honneur et de devoir.

A celui qui m'a offert la clé de la réussite sur un plat d'or
et qui ne cesse de donner sans recevoir, mon très cher ***père****.*
L'exemple de sa vie pleine d'abnégation et de travail et pour moi.

A mon cher ***mari*** *qui m'a aidée, aimé, soutenu dans tout mon itinéraire*
d'étude, et qui m'a toujours encouragé
A mes très chers ***enfants*** *qui sont le borneur de ma vie.*
A ceux qui ont été la chandelle qui ma éclairé le chemin tout au long
de ma vie et à qui une immense dette de gratitude, mes chères ***sœurs***
*et mes chers****frères*** *: que je les remercie énormément pour*
Leurs tendresses, leurs affections, leurs soutiens illimités
etleurs encouragements indéfectibles.
*A toi ma chère binôme****Amina.*** *Pour ta patience, ton aide et ta gentillesse.*
*A ma chère amie I****btissem****qui madonné toujours le courage*
et prêté main forte pour mener à bien mon travail
A tous ***ma famille*** *et tous mes amis*
A tous les agents qui m'ont aidé à la réalisation de ce modeste
travail de prés ou de loin
A toute la promotio 2017 – 2018

Nacera

Dédicace

Toues les lettre ne sauraient trouve les mots qu'il faut …….

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance …….

Ainsi, c'est tout simplement que
Je dédie ce mémoire

A mes chers parents

Auteurs de mes jours, artisans de mon bonheur et soutiens de toujours. Vous m'avez permis de réaliser ses études et tant d'autres choses. Que ce travail soit le témoignage de ma reconnaissance et de mon amour pour Vous

Puisse dieu, tous puissant, vous accorder longue vie ; afin que je puisse vous combler à mon tour.

A mes sœurs : Razika, Hassiba, Fathia et mon neveu Adem

A mon époux

Vous être toujours à mes cotés, pour m'encourager, me conseiller, m'aider et me soutenir .Tous les mots ne peuvent exprimer mon amour pour vous. Trouver dans ce travail, mon estime, mon respect et mon amour. Que dieu vous procure bonheur, santé et grande succès.

Mes beaux parents dhahbia et mohamed. Avec tous mon respect et ma considération
A ma binôme Nacera, je suis très chancheuse de la connaître et de travailler avec une personne comme elle, je lui souhaite une vie pleine de bonheur

A Madame MADANI Notre promotrice, et Mme ZOINBIA Co-promotrice Pour s a présence et son soutien

A mes chers amis :

A ma cher Hind, louiza meriem, fatima, Bochra

A toute ma grande famille

A tous ceux que m'ont aide à réaliser ce travail

A tous ceux que je n'ai pas citer

AMINA

ملخص

الهدف من هذا العمل هوالمساهمة في تثمين نبتة طبية متواجدة في منطقة المديةتتمثل في العطرشةو ذلك باستخلاص الزيتالطيار للجزء الهوائي لهذه النبتةالطبيةبواسطة التقطير المائيباستخدام نوعين من التسخين : التسخين التقليدي والتسخين الكهرومغناطيسي. , تمت دراسة مقارنة من حيث المردود وحركية الاستخلاص وكذا نوعية الزيوت المتحصل عليها حيثأظهرت تغيير في الكمية المستخلصة.هذه الأخيرة تزداد تحت تأثير التجفيف، حيث وصل مردود الزيوت إلى0,35% و0,64%بواسطة التسخين التقليدي و التحريض الكهرومغناطيسيعلى التوالي. في حين كان لا يتعدى 0.117% و0.41%بالنسبة للنبتة غير المجففة. سلوك حركية الاستخلاص متشابه مع سرعة إستخلاص أكبر في التسخين الكهرومغناطيسي. كما بينت التحاليل الفيزيوكيميائية للزيوت المستخرجة من العطرشة أنها مطابقةلمعاييرAFNOR.

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيرياوالمضاد للفطريات لزيت العطرشة بتقنية الاروماتوغرام على البكتيريا(ستافيلوكوكيس ،كلا بسيلابنومانيا ،ايشيريشيا كولي ،البسودوموناز ايروجينوزا ،بيسيليسسيتيليسوانتيروكوكيسفيكاليس)،وعلى الفطريات (كانديداألبيكانوريزوبيس) في حين تم اختبار النشاط المضاد للأكسدة باستخدام DPPH .أظهرت الاختبارات البيولوجيةلزيتالعطرشةأنلهافعالية مضادةللأكسدة، مضادة للبكتيريا ومضادة للفطريات

كلمات المفتاحية: الزيت الطيار، العطرشة،التقطير المائي، والتسخين الكهرومغناطيسي، الخصائصالفيزيوكيميائية، الاختبارات البيولوجية.

Résumé

Cetravail estunecontribution à la valorisation d'uneplante médicinale, cultivée dans larégionde Médéa il s'agit duPélargonium graveolens et ce parl'extractionl'huile essentielle des parties aériennes de la plante à l'aide de l'hydrodistillation en utilisant deux modes de chauffage : le chauffage classique et le chauffage par induction électromagnétique. Une étude comparative en termes de rendement, de cinétique d'extraction et de la qualité des HEs obtenues a été effectuée. Où elle a montré une variabilité sur la quantité extraite, cette dernière augmente sous l'effet du séchage, car le rendement en HE atteint de PG Frais et PG Sèche ont été extraites avec rendement de l'ordre de 0,35 % et 0,64% par chauffage classique et induction électromagnétique respectivement. tandis qu'il ne dépasse pas 0 ,117 % et 0,41% pour la plante fraiche. Le comportement cinétique est identique avec une vitesse d'extraction élevée par l'induction électromagnétique. La détermination des caractéristiques physico-chimiquesrévèle que les HEs de l'espèce Pélargoniumgraveolens sont conformes aux normes AFNOR .

L'activité antibactérienne et antifongique d'HE de PG ont été évaluées en utilisantl'aromatogramme sur les souches bactériennes :(*staphylococcucs*

aureus,kleibselapneumoia, Escherichia Coli, Pseudomanas*aergenosa*, *Entérococcusfécalis*et *Bacillus subtilis)* et lessouches fongiques *(candidas albicans*et*Rhizopus isolé).* .Alors que, l'activité anti-oxydant a été testée par DPPH•, Les tests biologiques ont montrée que cette huile possède un effetAnti-oxydant, antibactérien et antifongique.

Mots clés : Huile essentielle, *Pélargonium graveolons*, Hydrodistillation, le chauffage à induction électromagnétique, Propriétés physico-chimiques, Activité biologique.

Abstract

This Work contributes to the valorization of a medicinal plant grown in the region of Médéa, the plant in question is the *Pélargonium graveolens*. The essential oil was extracted by hydrodistillation of its aerial partsemployingtwo heating modes namely conventional heating and electromagnetic induction heating. A comparative study in terms of yield, extraction kinetics and quality of essential oil obtained was investigated. It shows a variability on the extracted amount, this last increases under the influence of the drying where the yield of the EO can achieve0,35% and 0,64%using respectively conventional heating and electromagnetic induction heating, while it can't exceed 0,117% and 0,41% for the fresh plant.

The physico-chemical characterization indicates that the *Pélargonium graveolens* essential oils extracted respected AFNOR norm.

Antimicrobial activity of PG EO using aromatogramtechniqueswere estimated on the bacterial strains :(*staphylococcucsaureus, kleibselapneumoia, Escherichia Coli* ,*Pseudomanasaergenosa* , *Entérococcusfécalis*and *Bacillus subtilis)* andthe fungal strains *(candidasalbicans*and*Rhizopusisolé)*and the antioxidant activity was tested by DPPH•.The biological tests have confirmed that thisoilhas anantioxidant, antibacterial andantifungaleffects.

Key words: Essential oils, *Pélargonium graveolens*, hydrodistillation, electromagnetic induction heating, Physico-chemical properties, Biological activity.

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale ……..01

Partie A : Aperçu bibliographique

A.1présentation de la matière végétale …….....03

A.1.1 .Description botanique ……..03

A.1.2 Nom de la plante …….....06

A.1.3 Classification de la plant Pélargonium graveolens…….…..07

A.1.4 Origine et son développement dans le monde ……..... 07

A.1 Ecophysiologie …….....08

A.1.5.1 Facteurs climatiques ……..…….08

A.1.5.2 Facteurs topographiques ……..……08

A.1.5.3 Facteurs édaphiques ……..….09

A.1.6 Période de la culture …….....09

A.1.7 Période de la récolte …… 09

A.1.8 Coupe de feuillage ……...……..09

A.1.9 Utilisation et importance ……...……09

A.1.10 Aspects phytochimique du pélargonium graveolens ……...……10

A.1.11 Aspect anatomique ……..……12

A.2 Huiles essentielles ……..……..13

A.2.1Défition……..……..13

A.2.2 Propriétés physicochimiques……..……14

A.2.3 Propriétés physiques et organoleptiques des HE du pélargonium graveolens……..….14

A.2.4 Les plantes productrices des huiles essentielles…….……15

A.2 Composition chimique d'huile essentiel ……..15

A.2.5.1 Terpènes…….....15

a. Monoterpènes……...16

b.Diterpènes…….16

c.Triterpènes…….16

d.Sesquiterpènes……...17

A.2.5.2 Les composés aromatiques …….……18

A.2.5.3 Composés d'origines diverses…….……....18

A.2.6 Propriétés et utilisation des huiles essentielles……..18

A.2.7 Conservation des huiles essentielles……..19

A.3 Méthodes d'extraction des huiles essentielles……...19

A.3.1 Principaux paramètres d'extraction……20

A.3.2 Avantages et inconvénients des procédés d'extraction……..…22

Partie B : Etude expérimental

B.1 Matériel et Méthodes …….....24

B.1.1 Matière végétale…….....26

B.1.1.1 L'identification……....26

B.1.1.2 Provenance et période de la récolte de la plante……..…26

B.1.1.3 Préparation de la matière végétale……..….26

B.1.2 Détermination de la teneur en eau…….…….26

B.1.3 Calcul du rendement en HE……..……..27

B.1.4 Procédés d'extraction…….……27

B.1.4.1 Extraction par Hydrodistillation classique……..……27

B.1.4.2 Condition opératoires……..……30

B.1.4.3 Extraction par Hydrodistillation par induction électromagnétique……...…..30

B.1.5 Analyse et caractérisation physicochimique des HE extraites ……..…33

B.1.6 Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles…….…37

B.1.6.1 Préparation des extraits……..……..37

B.1.6.2 Aromatogramme……..……37

B.1.6.3 Mode opératoire……...….38

B.1.6.4 Lecture des résultats…….…...39

B.1.6.5 Détermination de la CMI par macro- dilution en milieu liquide……...……..40

B.1.7 Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles…….……41

B.1.8 Micro-organismes étudiés……..42

B.1.9 Pouvoir antioxydant……...….45

B.1.9.1 Mode opératoire……..…….46

B.1.9.2 Calcul du pourcentage d'inhibition I% et la concentration inhibitrice minimale (IC_{50}) ……...……46

B.2 Résultat et discussion

B.2.1 Aspect quantitatif de l'huile essentielle des parties aériennes *Pélargonium Graveolens* …….48

B.2.1.1 Influence du mode de chauffage……..50

B.2.1.2 Influence du taux d'humidité…….…..51

a. Variation du taux d'humidité……...…51

b. Rendement en HE……52

B.2.2 Cinétique d'extraction……....53

B.2.2.1 Cinétique d'extraction par HD classique…….....53

B.2.2.2 Cinétique d'extraction par HD induction électromagnétique……..……55

B.2.3 Aspect organoleptique de l'huile essentielle de pélargonium graveolens……. 56

B.2.4 Aspect physico-chimique des huiles essentielles de pélargonium graveolens……...…57

B.2.5 Evaluation de l'activité biologique…….…59

B.2.5.1 Evaluation de l'activité antibactérienne……..……62

B.2.5.2 activité antifongique……65

B.2.5.3 Effet de la dilution de l'HE de PG sur le potentiel bioacatif……...57

B.2.5.4 Détermination de concentration minimale inhibitrice (SMI)……..70

B.2.5.5 Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des différentes fractions d'HE…….72

B.2.5.6 L'activité antioxydante……..76

Liste des tableaux

Parie A : Aperçu bibliographique

Tableau (A.1) : Description botanique de PG ……..04

Tableau(A.2) : Noms de la plante pélargonium graveolens……..06

Tableau(A.3) : Taxonomie de la plante pélargonium graveolens…….07

Tableau(A.4) : Importance pharmacologique et utilisation traditionnel du pélargonium Graveolens……....08

Tableau(A.5) : Comparaison de la composition chimique de l'huile essentielle de géranium rosat provenant de plusieurs régio d'Afrique……..……..11

Tableau(A.6) : Nomenclature des différentes classes des terpènes …….16

Tableau(A.7) : Les Composés terpéniques…….…..17

Tableau(A.8) : Les techniques les plus couramment utilisées et quelques types des produits fabriqués……20

Tableau(A.9) : Les différentes méthodes d'extraction……..21

Tableau(A.10) : Avantages et inconvénients des différentes procédés d'extraction……..22

Partie B : Etude expérimentale

Tableau(B.1) : Appareillage, matériel et produits utilisées…….…….24

Tableau(B.2) : Coordonnés géographique et bioclimatique de Médéa……..…26

Tableau(B.3) : Condition opératoires d'extraction par hydrodistillation classique…….….30

Tableau(B.4) : Présentation des souches fongiques teste……..43

Tableau(B.5) : Présentation des souches bactériennes……..44

Tableau(B.6) : Rendement en huile essentielle de PG de la région de Médéa récolté en début de floraison……48

Tableau(B.7) : le rendement d'huile essentielle de PG pour différentes régions…….....49

Tableau(B.8) : propriétés organoleptiques de l'HE des feuilles de PG……....56

Tableau(B.9) : propriétés physico-chimiques d'HE extraite par HD classique de PG séché...58

Tableau(B.10) : Diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes et celles fongiques pour les HEs extraites par l'HD classique de PG classique de PG séché et frais…….....61

Tableau(B.11) : Concentration minimale inhibitrice (SMI) de l'HE de PG sèche extraites

Par HD classique et HD par IM en milieu liquide……70

Tableau(B.12) : Evaluation de l'activité antimicrobienne et antifongique des fraction d'HE de PG sèche obtenues par HD classique……....72

Tableau(B.13) : Parentage d'inhibition de radicale DPPH par défirent concentration…… 76

Tableau(B.14) : Paramètres de calcul de l'activité antioxydant IC50mg /m……...….77

Liste des figures

Parie A : Aperçu bibliographique

Figure (A.1.a) .Pélargonium graveolens…….. 05

Figure (A.1.b) .Feuilles pélargonium graveolens……...…..05

Figure (A.1.C). Fleures pélargonium graveolens 05

Figure (A.1.D). Fruits mûrs de pélargonium graveolens……..…05

Figure (A.1.e). Genre pélargonium……...05

Figure (A.1 .f). Genre géranium……...05

Figure (A.2). Synthèse des origines de pélargonium……....08

Figure (A.3). Coupe transversale au niveau de la tige……..…12

Figure (A.4).Observation microscopique d'un poil sécréteur (1) et d'un poil protecteur(2)....13

Figure (A.5). Structure quelque composes aromatique……..…. 18

Partie B : Etude expérimentale

Figure(B.1) : Le schéma général du travail expérimental…..……25

Figure(B.2) : Montage de l'hydrodistillation classique……..……..28

Figure(B.3) : L'organigramme récapitulatif des étapes suivies dans le protocole expérimental……..29

Figure(B.4) : Séparation liquide-liquide par le di-éthyle éther……30

Figure (B.5) : Montage de l'hydrodistillation assistée par induction électromagnétique…....31

Figure (B.6) : Le protocole expérimental pour la réalisation l'hydrodistillation assistée pa Induction électromagnétique……32

Figure (B.7) : Le réfractomètre……34

Figure (B.8) : Montage pour la détermination d'indice de saponification……36

Figure (B.9) : Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boite de pétri……38

Figure(B.10) : Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide……...41

Figure (B.11) : Structure chimique du radical libre DPPH…...……45

Figure (B.12) : Réduction du radical DPPH…….……46

Figure (B.13) : L'évolution de rendement des HE de PG séché et frais obtenu par HD assistée par chauffage classique et par HD assistée par induction électromagnétique……..…50

Figure (B.14) : Taux d'humidité de PG (période de récoltes : début de floraison)(A)PG séché (B). PG frai……..…..51

Figure (B.15) : Différence entre chauffage classique et chauffage par induction magnétique……....53

Figure (B.16) : Evaluation de rendement en HE assistée par le chauffage Classique pour le PG frais et séché (période de récolte : début de floraison)……..…….54

Figure (B.17) : Evaluation de rendement en HE extraite par HD assistée par induction Electromagnétique et HD classique pour le PG séché (période de récolte : début de floraison……....55

Figure (B.18) : Huile essentielle de PG……57

Figure (B.19) : Résultats des aromatogrammes de l'HE dePG extraite par HD classique..…60

Figure (B.20) : Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne étudiées par HE de PG séché et frais (période de récolte : avant floraison)……....64

Figure (B.21) : Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne étudiées par HE de PG séché et frais (période de récolter : début de floraison)……..……65

Figure(B.22) : Comparaison du diamètre d'inhibition des souches fongiques étudiées par HE de PG séché et frais (période de récolte : début de floraison……66

Figure (B.23): Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne étudiées par HE de PG frais pour différentes concentration de HE (période de récoltes: avant floraison)…….68

Figure (B.24): Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne étudiées

Par HE de PG séché pour différentes concentration de HE (période de récoltes: avant floraison ……..…….68

Figure (B.25) : Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne et fongiques étudiées par HE de PG frais pour différentes concentration d'HE (période de récolte : début de floraison)……..……69

Figure(B.26) : Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne et fongiques étudiées par HE de PG séché pour différentes concentration d'HE (période de récolte : début de floraison)……..……69

Figure (B.27) : Evaluation des CMI des HEs de PG séché extraites par HDC et HD IM vis-à-vis différentes souches bactériennes et fongiques……..……71

Figure (B.28) : Effet d'HE sèche brute et dilué sur les différentes souches bactériennes……73

Figure (B.29) : histogramme des diamètres d'inhibition en fonction du temps d'hydrodistillation classique. (HE brute pour *E. coli et Staphylococcus.A*. HE dilué pour *Candidas albicans et Rhizopus*)……...……74

Figure (B.30) : Pouvoir antioxydant de l'huile essentielle PG…….……77

Figure (B.31) : Pouvoir antioxydant de l'acide gallique……...……77

Liste des abréviations

AFNOR	Association Française de Normalisation
ATCC	American type culture collection
CMI	Concentration Minimale d'Inhibition
ED	Eau distillée
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
Fig	Figure
GR	*Géranium Rosat*
HCL	Acide chlorhydrique
HD C	Hydrodistillation assiste par chauffage classique
HD IM	Hydrodistillation assiste par chauffage induction magnétique
HE	Huile essentielle
HEs	Huiles essentielles
IC 50/EC 50	Concentration Inhibitrice à 50%
ISO	ISO Organisation Internationale de Normalisation
KOH	Hydroxyde de potassium
M_{HE}	masse de l'huile essentielle (g)
M_V	masse de l'huile essentielle (g)
MHB	Milieu Muller Hinton
PDA	Potato Dextrose Aga
PMA	Plante Aromatique Médicinale
PG	*Pélargonium Graveolens*
PG Frais	*Pélargonium Graveolens* Frais
PG Sèche	*Pélargonium Graveolens* Sèche
pH	Potentiel d'hydrogène
R	Rendement %
T	Taux d'humidité %
UV.v	Ultra violet visible
v /v	Volume /Volume

Introduction Générale

La région méditerranéenne d'une manière générale, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales. **[1].**Ces plantes sont prometteuses et constituent une grande source naturelle principale de substances actives : d'antioxydants, antifongiques et d'antibactériens naturels pour plusieurs domaines allant de l'agroalimentaire aux industries chimiques et pharmaceutiques. Ces propriétés sont principalement dues aux huiles essentielles qui sont des substances odorantes contenues dans les plantes. **[2]**

Le recours à la phytothérapie et à l'aromathérapie qui se fait généralement par le biais des huiles essentielles, malgré l'ancienneté de sa naissance, a été toujours d'un brûlant intérêt qui ne cesse jamais d'occuper la une des actualités du développement exponentiel des biotechnologies végétales. Les nouveaux progrès de la science contribuent massivement à la naissance de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques qui permettent de transformer les plantes aromatiques et médicinales (PAM) en authentiques médicaments. **[3]**

Les huiles essentielles présentent une très grande richesse de molécules, tant en nombre qu'en variété. Leur criblage permettrait de découvrir de nouveaux antibactériens, qui pourraient constituer une alternative à l'usage des antibiotiques conventionnels devenus inefficaces **[4].** Beaucoup d'efforts et de recherches s'orientent aussi vers les agents antioxydants naturels pour leurs effets sur le stress oxydatif lié à certaines maladies **[5]** et leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation **[6].**

Le *pélargonium Graveolens* est une plante aromatique appartenant à la famille des Geraniaceae, cette plante a été introduite en Algérie au 19ème siècle où elle a acquis des proportions gigantesques durant la période coloniale**,** elle appartient à la catégorie des plantes vivaces à feuillage odorant qui motive son utilisation intense en parfumerie et en cosmétique.

Bien que l'huile essentielle de ce *pélargonium* possède des propriétés anti-infectieuses, anti-inflammatoires, spasmolytiques, hémostatiques et cicatrisantes [7]. Peu de travaux lui ont été consacrés en Algérie

Cette biomasse végétale est une source très prometteuse pour l'avenir ayant un potentiel thérapeutique qui lui confère de belles perspectives sur le créneau du bien-être. C'est dans ce contexte que notre étude s'est motivée, on a jugé fortement utile d'approfondir les connaissances autour des huiles essentielles de cette plante médicinale. En outre de leur extraction par plusieurs modes d'extraction, on s'est aussi préoccupé par l'évaluation des pouvoirs antibactériens, antifongiques et antioxydants de ces huiles essentielles au cours des différentes étapes de la croissance du *Pélargonium graveolens*. On s'est aussi intéressé dans ce travail aux cinétiques d'extraction pour dévoiler la variabilité de l'ampleur de l'activité antibactérienne et antifongique au cours du temps d'extraction.

Pour ce faire, nous avons subdivisé notre travail en deux grandes parties :

- La première partie propose une mise au point bibliographique sur l'espèce étudiée le *Pélargonium graveolens*, en présentant leur description botanique, anatomique et phytochimique. Nous présenterons aussi une rubrique bibliographique sur les huiles essentielles, comptant leur localisation dans la plante, propriété, composition chimique, utilisation, conservation, et les techniques d'extractions
- Le seconde partie représente l'étude expérimentale dont laquelle, une partie matériel et méthodes fait le bilan précis des outils, concepts et équipement utilisés ou cours de ce travail. Elle englobe aussi tous les résultats du travail expérimental entrepris dans cette étude ainsi que leurs interprétations. Cette partie se termine par une conclusion générale

A.1 Présentation de la matière végétale :

Le *Pélargonium* vient du mot grec « pélarges » littéralement cigogne car son fruit ressemble à un bec de cigogne. Le *Pélargonium graveolens* est une plante originaire d'Afrique facile à cultiver comme l'a été toujours depuis des siècles vue son feuillage aromatique qui dégage une odeur de rose très agréable.

Le *Pélargonium.graveolens* (famille Géraniacées), appartient à la catégorie des plantes vivaces à feuillage odorant **[8].** Le genre pélargonium compte plus de 200 espèces dont plusieurs dizaines sont odorantes, **[9].** On regroupe sous le nom générique de « Géranium rosat », le *Pélargonium graveolens*, le *P. roseum*, le *P.odoratissimum*, le *P. capitatum* et le *P. radula*, cultivés au Congo, à la Réunion, à Madagascar, en Egypte, et dans les régions méditerranéennes **[10].**

Le *Pélargonium graveolens* est une plante aromatique médicinale ayant d'intéressantes propriétés thérapeutiques .Aussi, la nature chimique de ses essences les confère des grandes perspectives d'application **[11].**

A.1.1. Description botanique :

La description botanique du *Pélargonium graveolens* se résume comme suit. C'est une plante vivace, elle est un arbrisseau érigé, assez rameux, allant jusqu'à 1,30 m de haut et s'étalant sur 1 m de large, plein de suc (herbacés) en début de végétation, puis ligneux en vieillissant, à écorce brun clair **[12].** Figure (A.1-a). Le *pélargonium graveolens* a des feuilles persistantes, rondes à marges festonnées. Ses fleurs roses, à cinq pétales sont souvent veinées d'une coloration plus foncée.

Le tableau (A.1) regroupe quelques détails botaniques décrivant le *Pélargonium graveolens*

Tableau A.1 : Description botanique de PG **[13].**

Nom du plant	*Pelargonium Graveolens*
Origine	Afrique australe
Période de floraison	Mai à septembre
Couleur des fleurs	Rose
Type de plante	Plante aromatique et médicinale
Type de végétation	Vivace
Type de feuillage	Caduc
Hauteur	60 à 100 cm

- **Appareil végétatif :**

a-Système racinaire :

Il est pivotant étendu et superficiel, pénétrant rarement à plus de 30 cm

b-Tige :

Tendre, gris vert, velue, devenant plus sombre et ligneuse avec l'âge. Elles sont couvertes de poils glanduleux microscopiques qui dégagent un parfum au toucher ou sous l'effet de la chaleur **[14].**

c-Les feuilles :

Molles, d'environ 4 x 6 cm sont profondément lobées (5 à 7 lobes) figure (A.1-b). Elles sont douces et veloutées au toucher, en raison de la présence de nombreux poils glanduleux **[15]. .** Elles sont cordiformes dégageant une odeur de rose au toucher ou à la chaleur.

d-Les inflorescences :

Elles sont des pseudo-ombelles, portant des 10 à 15 fleurs roses figure (A.1.c). Les 2 pétales supérieurs sont veinés de rouge grenat, à apex arrondi, échancré, et plus larges que les 3 pétales inférieurs. Les fleurs sont irrégulières, de couleur rose violet, formant une pseudo-ombelle compacte. Les deux pétales postérieurs sont plus larges que les 3 antérieurs. Le géranium de parfumerie (genre *Pélargonium*) est différent du géranium ornemental (genre *Géranium*) **[15, 16, 17]**

Les fleurs rose pâle ont une symétrie bilatérale caractéristique du genre Pélargonium figure (A.1.e) alors que les espèces du genre *Géranium* ont des fleurs à symétrie radiée suivant 5 rayons **[14]** figure (A.1.f).

e-L'odeur :

Pour Harvey l'odeur est balsamique. **[18]** Pour Demarne et al, elles dégagent une odeur de menthe **[19]**

Mais comme le fait remarquer Maria Lis-Balchin**,** l'odeur change fortement au cours de la floraison : des notes de rose se développent au moment de la floraison alors que le reste du temps l'odeur de menthe domine. **[11]**



Figure A.1-a. *Pélargonium graveolens*



Figure A.1-b. Feuilles *Pélargonium graveolens*



Figure A.1-c. Fleures *Pélargonium graveolens*



Figure A.1-d.Fruits mûrs de *Pélargonium graveolens*



Figure A.1-e.Genre *Pélargonium*



Figure A.1-f. Genre *Géranium*

A.1.2 Nom de la plante :

Le complexe d'hybrides de *Pélargonium asperum, P. odoratissium, P. capitatum* et *P. radens* **[21]**. *P. asperum* Ehrh. *Ex* Wilde (syn. *Pélargonium graveolens*), est désigné par les termes génériques de « *géranium rosat* » ou « Pélargonium groupe rosat ». **[22]** Seulement ces quatre types qui sont importantes pour la production des huiles essentielles. Les pélargoniums cultivés pour l'huile essentielle étaient souvent appelés *Pélargonium graveolens, Pélargonium roseum* ou *Pélargonium asperum* dans la littérature botanique, avec peu d'attention pour la précision botanique, Le nom *Pelargonium roseum* a été attribué par différents auteurs à 3 combinaisons hybrides différentes. **[20]**

Pelargonium ×*asperum* fut proposé par H.E.Moore comme le nom correct pour l'hybride de *Pelargonium graveolens* et *Pelargonium radens*. **[21]**

Tableau A.2 : Noms de la plante *Pélargonium graveolens.* **[21, 22, 20]**

Dénomination latin internationale	- *Pélargonium x asperum* - *Pélargonium graveolens* - *Pélargonium odorantissimum,* - *Pélargonium roseum*
Français	*Géranium rosat, Géranium odorant*
English	*sweet- scented Géranuim, scented Pélargonium, rose Géranuim*
Allemand	*rosengeranie rosenstorchschnabel*
Italien	*Geranio*
Arabe	لقلقي شديد الرائحة -عطر النبات-عطرشية
Persan	*Jiriban*
Synonymes	- *Géranuim radula Cav,* - *Pélargonium radula (Cav) L'Hér,* - *Pélargonium reseum willd*

A.1.3 Classification de la plante *Pélargonium graveolens*: [20] [23]

La position taxonomique du *Pélargonium graveolens* est comme suit :

Tableau A.3 : Taxonomie de la plante *Pélargonium graveolens*

Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Dialypetales
Ordre	Geraniales
Famille	Geraniaceae
Genre	*Pélargonium*
Espèce	*Graveolens*
Nombre de chromosomes	2n = 77 (heptaploïde)
Nom binominal	*Pélargonium Graveolens*

A.1.4 Origine et son développement dans le monde :

Pélargonium graveolens est originaire d'Afrique australe (le Cap). C'est une plante largement répandue et cultivée en Espagne, en Italie, au Maroc, à l'Ile de la Réunion, en Egypte et en Chine (ces deux derniers pays étant les plus gros producteurs). Elle est cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales où elle est distillée pour son HE **[16, 24].**figure (A.2).

Il a été importé en Europe dès le XVIIème siècle, acclimaté dans divers jardins botaniques, propagé et hybridé. En Algérie, cette plante est annuelle et spontanée est largement répondue. **[25]**

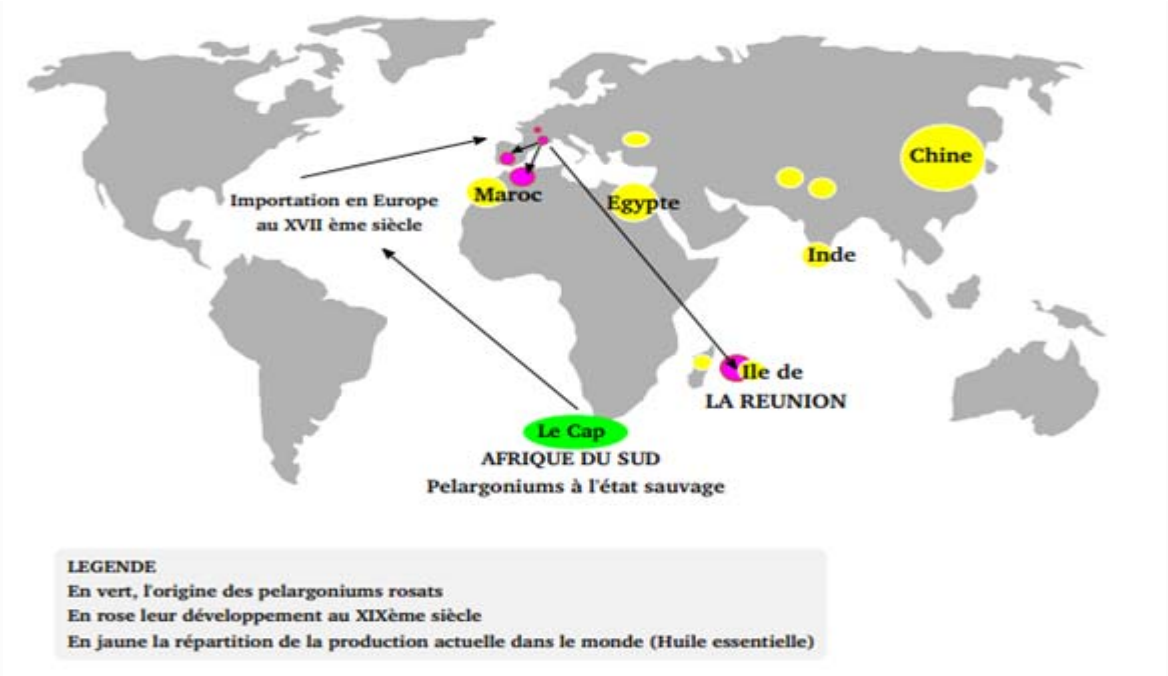


Figure A.2 : Synthèse des origines de *Pélargonium*

A.1.5 Ecophysiologie :

A.1.5.1 Facteurs climatiques :

Les conditions climatiques ont une forte influence sur le développement du *Pélargonium graveolens*, qui demande un climat chaud, sec, sans vent nuisible. Le *Pélargonium graveolens* reste une espèce subtropicale, elle supporte des gelées courtes et légères si le sol est sec. Le froid n'est pas son domaine de prédilection.

L'exposition, l'altitude et la lumière ont une action marquée sur la qualité de l'huile essentielle et de son rendement. La température doit rester supérieure ou égale à 35°C. Le Besoin en eau est important en période de végétation et réduit l'hiver.

Les précipitations moyennes de l'ordre de 1000 à 1500 mm sont recommandées.

A.1.5.2 Facteurs topographiques :

Le *Pélargonium graveolens* trouve son bonheur dans les Hauts entre 600 et 1400 m.

A.1.5.3 Facteurs édaphiques :

Cette plante s'adapte aux types de sols friables, perméables et correctement drainés. Les terres les plus favorables sont les sols légers, un peu acides, humifères, perméables et sains, ferralitiques. **[26,27,28]**

A.1.6 Période de la culture :

La culture spéciale des pélargoniums en trois sections, Ces sections comprennent le traitement des géraniums en hiver, leur traitement en été, enfin leur multiplication, soit par semis ou par marcotte ou par greffes …etc **[29]**

A.1.7 Période de la récolte :

La première récolte peut avoir lieu 6 mois après la plantation. Ensuite les récoltes se succèdent tous les 2 mois environ. « En effet l'huile essentielle est très tôt élaborée dans la jeune feuille.

La récolte d'été étant plus importante que celle d'hiver puisqu'elle représente les 4/5 de la quantité totale distillée dans l'année. **[27]**

A.1.8 Coupe de feuillage :

Certaines études scientifiques, en rapport avec des notions de chronobiologie, ont permis de définir le moment optimal de la récolte, afin de garantir la qualité de la matière première. Ainsi, on préfère récolter :

- Les racines durant le repos végétatif (automne, hiver) :
- Les parties aériennes, le plus souvent au moment de la floraison ;
- Les feuilles, juste avant la floraison ;
- Les fleurs à leur plein épanouissement, voire en bouton ;
- Les graines, lorsqu'elles ont perdu la majeure partie de leur humidité naturelle.

En Algérie, on pratique ordinairement la première coupe en mois de Juin. **[29]**

A.1.9 Utilisation et importance :

En outre de son utilisation dans la parfumerie, le *Pélargonium graveolens* a été utilisé dans la médecine traditionnelle, elle a prouvé aussi un potentiel actif puissant Tableau (A.4).

Tableau A.4 : Importance pharmacologique et utilisation traditionnelle du *Pélargonium graveolens* **[27, 29]**

Nom de la plante (famille)	Partie récoltée	Usage Traditionnel	Activité Pharmacologique
Pélargonium graveolens	Aérienne	• Acné, brûlure, eczéma, plaie, saignement de nez. • Mycoses cutanées, gynécologiques. • Rhumatismes, arthrites, tendinites. • Epistaxis, coupures sanguinolentes. • Hémorroïdes, couperose, phlébite. • Stress, asthénie profonde, anxiété.	• Antibactérienne efficace Fongicide puissante Hémostatique remarquable • Antalgique • Anti-inflammatoire • Tonique astringente cutanée. • Antihémorragique • Analgésique, antiseptique • Antidiabétique

.

A.1.10 Aspects phytochimique du *Pélargonium graveolens* :

Une tonne de plante de *Pélargonium graveolens* donne 1,5 Kg d'huile essentielle ce qui rend cette huile très onéreuse. Le profil chromatographique de cette huile fait apparaître la présence de certains composants caractéristiques : Citronellol, formiate de citronellyl, isomenthone, géraniol, linalool, formate de géranyl et Oxyde de rose dont la synergie confère une fragrance aromatique unique, rappelant celle de la rose. **[30]**

L'HE de *Pélargonium graveolens* se compose majoritairement de 2 alcools : le géraniol et le citronellol qui existent pour 2/3 à l'état libre et pour 1/3 à l'état combiné sous forme d'esters **[11,31]**. Frédéric Emmanuel DEMARNE, classe l'huile de *pélargonium* en trois types :

- Le type Chinois, provenant de Chine, où le citronellol est généralement élevé (30-40%).
- Le type Africain, provenant d'Algérie, du Maroc et d'Égypte, elle contient du 10epieudesmol γ (4-5%) mais pas de guaia-6,9-diène.
- Le type Bourbon, pour celle provenant de La Réunion. Elle contient une grande quantité (57%) de guaia-6, 9-diène mais pas de 10epiγeudesmol.

Le géraniol et le linalol sont généralement élevés. La variabilité de la composition des huiles de géranium est liée au climat, aux températures maximales et minimales, à la durée d'ensoleillement, à la pluviométrie, à la nature du sol.

Une étude comparative a été faite pour l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* provenant de différentes régions d'Afrique. Des fluctuations et des variations de concentration ont été notées pour les composants majoritaires et les composants caractéristiques **[30]** Tableau (A.5).

Tableau A-5 : Comparaison de la composition chimique de l'huile essentielle de Géranium rosat provenant de plusieurs régions**. [30]**

Composés	Bourbon	Organic	Egypte	Chine	Rwanda	Gasabo	Zambia	Reunion	Algérie
Linalool	10,3	11,6	6,0	30	18,1	28	5,9	7,8	3,26
Isomenthone	6,1	6,5	5,2	5,1	8,4	6,0	8,2	5,4	5,44
Citronellol	22,6	25,7	29,2	38,2	12,7	31,2	22,7	21,7	28,68
Geraniol	18,9	16,5	19,3	8,7	34,8	5,6	11,4	17,5	5,55
Formate de citronellyl	7,5	4,8	5,8	10,0	0,4	14,8	7,4	8,2	9,76
Guaia-6,9-diene	5,5	0,2	0,2	6,0	5,3	7,6	8,9	5,8	0,45
10 epi-γ-eudesmol	-	5,8	5,8	0,2	1,7	-	-	-	-

A.1.11 Aspect anatomique :

Des résultats d'observations microscopiques effectuées ont permis de distinguer la présence des poils sécréteurs chez le PG. De l'extérieur à l'intérieur il y a présence d'une couche épidermique (Une seule assise de cellules) qui émette les poils sécréteurs et protecteurs, suivi d'un parenchyme chlorophyllien (plusieurs assises de cellules rondes), sclérenchyme, des faisceaux cribro-vasculaires (phloème et xylème) et enfin par un parenchyme médullaire. figure (A-3).

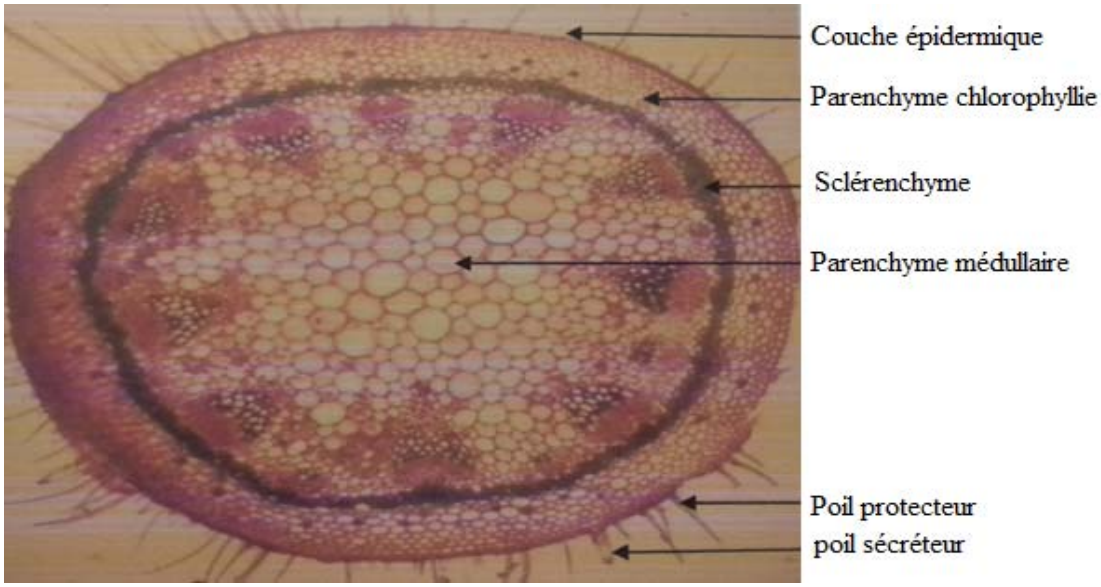


Figure A-3 : Coupe transversale au niveau de la tige (Gx400) **[31]**

L'étude microscopique au niveau des tiges de PG (Figure (A-4)) montre l'existence de 2 types de poils : protecteur et sécréteur.**[32]** rapporte que les poils de protection sont constitués de cellules mortes et, de ce fait, ils ne contiennent que de l'air.

Leur masse soyeuse réfléchit en grande partie les rayons solaires et leur enchevêtrement dense réussit à retenir, à l'abri de l'épiderme, une couche d'air qui se sature lentement d'humidité au lieu d'être rapidement renouvelée. Les sites sécréteurs sont de type superficiel en l'occurrence des poils glandulaires dans leur étude **[33].**

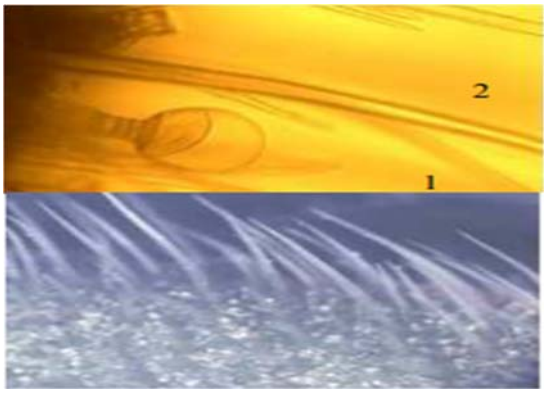


Figure A-4 : Observation microscopique d'un poil sécréteur (1)

et d'un poil protecteur (2) **[34]**

A-2- Huiles essentielles :

A-2-1-Définition :

Une huile essentielle est définie comme les métabolites secondaires odorantes ou huiles volatils obtenu d'une plante ou certaines parties de celle-ci (fleurs, tiges, racines, feuilles, herbes, bois, graines, bourgeons, fruits, écorce) par expression, fermentation, extraction. La méthode de l'entraînement à la vapeur d'eau est la plus utilisée pour la production commerciale. Ce sont des liquides huileux aromatiques, caractérisés par une forte odeur, leur couleur s'arrange dans la gamme de couleur s'étalant le plus souvent de l'incolore au jaune et possible jusqu'à le jaune verdâtre. Néanmoins la présence de certains composés spécifiques affecte la couleur de ces dernières comme par exemple le cham azulène donne du bleu pour l'huile essentielle de la camomille romaine. **[36]**

Ils peuvent être synthétisés par tout organe végétal et stockés dans des cellules sécrétoires, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires. **[35]**

On estime 3000 HEs qui sont connues, parmi lesquelles 300 sont commercialement importantes dans le marché des fragrances. **[37]**

A-2-2 Propriétés physicochimiques :

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène **[38].** Où selon Desmares et al., **[39]** liquides à température ambiante et possèdent une température d'ébullition variant de 160°C à 240°C ce qui les différencie des huiles fixes. Elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.

Les huiles essentielles ont généralement une densité inférieure à celle de l'eau. La densité nous renseigne selon **[40]** sur la composition chimique : ainsi une densité inférieure à 0,9 indique la présence, de composés terpénique et aliphatique à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques. Leur indice de réfraction est élevé car elles dévient la lumière polarisée. Bien qu'entraînable par la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau, mais elles communiquent leurs odeurs à l'eau, cette eau est dite "eau distillée florale" ou aromatique. Elles sont liposolubles et aussi très miscibles dans les solvants organiques. **[39]**

Les huiles essentielles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, en même temps, leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. Elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques ; **[38]**

A.2.3 Propriétés physiques et organoleptiques des HE du *Pélargonium graveolens* :

Une bonne huile essentielle de *Pélargonium graveolens* doit avoir les caractéristiques physiques et organoleptique suivantes :

- Densité à 20°C : 0,883 à 0,905 (leur densité est en général inférieure à celle de l'eau)
- Indice de réfraction à 20°C : 1,461 à 1,477
- Pouvoir rotatoire à 20 °C : -18° à -8°
- Point éclair : +64°C
- Aspect : liquide limpide
- Couleur : de jaune à brun verdâtre
- Odeur : douce sucrée, rosée et fruitée caractéristique du *géranium*. **[42]**

A. 2.4 Les plantes productrices des huiles essentielles :

Parmi les familles végétales les plus productrices d'huiles essentielles, on distingue :

- Les labiées (famille du thym, de la lavande, de la menthe, du basilic)
- Les myrtacées (eucalyptus, melaleuca, myrte, girofle),
- Les rutacées (les citrus, les agrumes, la bergamote).

Beaucoup de végétaux contiennent des huiles essentielles ou des substances voisines mais en pratique peu d'espèces sont utilisées **[41]**

A.2.4 Composition chimique d'huile essentielle

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes contenant plusieurs composés singuliers qui sont des dérivés terpéniques et leurs composés oxygénés. Il s'agit alors de deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes :

- Composés terpéniques.
- Composés aromatiques dérivés du phenylpropane.

Les huiles essentielles peuvent également renfermer divers produits issus de processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils**.** Bien qu'elles ne représentent qu'une petite fraction de la composition de la plante néanmoins, elles confèrent les caractéristiques par lesquelles les plantes aromatiques sont utilisées dans l'alimentation, le domaine de la cosmétologie et les industries pharmaceutiques. **[42]**

A.2.4 .1 Terpènes

La nomenclature utilisé est basé sur une unité terpénique en C_{10} : les différents terpénoïdes sont obtenu par l'addition d'une molécule appelée l'isoprène **(C_5H_3)**

Le tableau (A.6) résume les nomenclatures adoptées pour les différentes classes terpénoïdes. Dans les huiles essentielles seules seront rencontrés les terpènes les plus volatils, ceux dont la masse moléculaire est moins élevée qui sont caractérisés par leur volatilité et par leur odeur piquante intense. **[43]**

Tableau (A.6) : Nomenclature des différentes classes des terpènes **[44]**

Nom	Précurseur	Localisation
C_{10} : monoterpénoides	Pyrophosphate de géranyle	HE -Pétales
C_{15} : sesquiterpénoides	Pyrophosphate de farmésole	HE-résines -pétales
C_{20} : diterpénoides	Pyrophosphate de géranylgéranil	HE-résines
C_{25} : sesterterpénoides	Pyrophosphate de géranylfarmésyl	HE-résines
C_{30} : triterpénoides	Squalène	Résines -cires des feuilles
C_{40}: tetraterpénoides	Phytoène	Tissues vert -racines -pétales
C_n: polyterpénoides **N=9 à 10^3**	Pyrophosphate de géranylgéranyl	Latex cire de feuille

a- Monoterpènes :

On les rencontre comme constituants odorants des essences végétales. La plupart de ces composés possèdent des centres asymétriques et sont donc optiquement actifs. Dans la nature, on ne retrouve fréquemment qu'un seul des stéréoisomères.

Les monoterpènes s'associent pour former des diterpènes ($C_{20}H_{32}$), triterpènes ($C_{30}H_{48}$), tétraterpènes ($C_{40}H_{56}$) et les polyterpènes $(C_{10}H_{16})_n$…, de structures chimiques variées, ils peuvent être acyclique (linéaire), monocyclique, bicyclique ou même tricyclique **[43,44].**

b- Diterpènes :

Ce sont des composés en C_{20} moins volatils (quatre molécules isopréniques), ils sont cycliques ou acyclique. **[43]**

c-Triterpènes :

Ce sont des composés en C_{30} (six molécules isopréniques) aliphatique ou polycycliques. On les utilise dans l'industrie des parfums. Il y'a aussi les tétraterpènes et polyterpènes qui sont des composés importants du point de vue biochimique. Ils contiennent des chaînes à plusieurs doubles liaisons conjuguées, responsables de leurs couleurs. La coloration de ces

hydrocarbures tétra et polyterpènes est facilement explicable par le nombre important de doubles liaisons conjuguées. **[45]**

d- Sesquiterpènes :

Ce sont des composés moins volatils de formule moléculaire $C_{15}H_{22}$, $C_{15}H_{24}$, $C_{15}H_{26}$ (Trois molécules isoprèniques disposées). On trouve quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des HE: Carbures mono- ou polycyclique (B-bisabolene), Alcools (farnésol), Cétones (nootkatone), Aldéhydes (sinensals) et Esters (acétate de cédryle) **[45].**

Le tableau (A-7) donne les formules développées de quelques composés terpéniques rencontrés dans les huiles essentielles).

Tableau (A.7) : Les Composés terpéniques.

Alcool	Aldéhyde	Cétone	Carbure	Classe	
Nerol (Citron)	Citral (Citron)	Tagetone	Mycènes (Laurier)	acyclique	MONOTERPENES
Menthol (Menthe)	Safranal (Safran)	Menthone (Menthe poivrée)	Limonène (Orange)	monocyclique	
Borneol (Sauge)	Myrtenal (Camphre)	Camphre (Camphrier)	Pinène (Terebentine)	bi cyclique	
Farnesol (Tilleul)	α-Sinrensal (Orange)		Sesquicitronellene (Citron)	acyclique	SESQUITERPENES
α-Bisabotol (Camomille Allemande)		Atlantone (Cèdre)	Curcumène (Curcuma aromatique)	monocyclique	
Carotol (Carotte)		Vetivone (Vetivrier)	Cadinène (Goudron de cade)	bi cyclique	

A.2.4 .2 Les composés aromatiques

Les dérivées du phénylpropane (C_6 - C_3) sont beaucoup moins fréquentes, qui eux aussi existent sous différentes formes moléculaires fonctionnalisées. Ce sont très souvent des alkyles propénylphénols, parfois aldéhydes caractéristiques de certaine huile essentielles.

On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composée en C_6-C_1 Comme la vanilline (assez fréquente) ou l'anthranilate de méthyle .Les lactones dérives des acides cinnamiques (c-à-d. les coumarines) étant, au moins pour les plus simple d'entre elle, entrainables aussi par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles. **[44]**

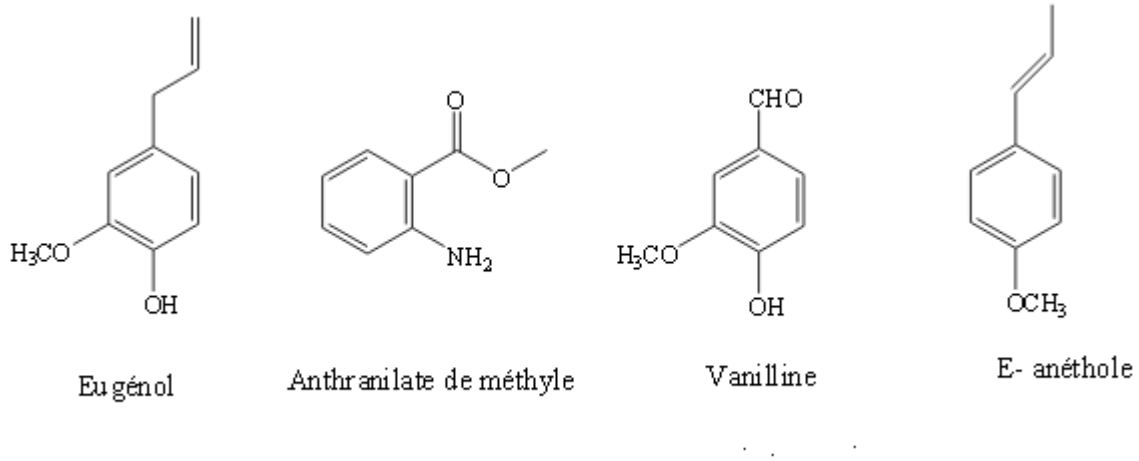


Figure A.5 : Structure de quelques composés aromatiques

A.2.4 .3 Composés d'origines diverses :

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles .Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruit compte de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en refermer .Il en est de même pour les HE lorsqu'ils sont entraînables par la vapeur d'eau **[3].**

A.2.5 Propriétés et utilisation des huiles essentielles :

L'intérêt des HE ou essences est très important, ces produits naturels sont considérés comme des produits à très haute valeur ajoutée destinés à différents secteurs industriels :

- l'industrie agro-alimentaire : elles donnent leur saveur aux condiments, aux aromatisants.

- l'industrie de parfums et des produits cosmétiques est le principal consommateur des plantes à huiles essentielles.
- En pharmacie, l'utilisation des HE, en tant que telles, reste limitée à quelques applications
- comme des antiseptiques externes ou aromatisants pour certaines formes médicamenteuses
- destinées à la voie orale.
- L'industrie chimique : certains constituants des HE sont utilisés comme matières premières
- pour la biotransformation ou l'hémi-synthèse de divers principes actifs médicamenteux,
- odorants, etc.

Certains HE et/ou leurs composants présentent un large spectre d'activité contre les insectes nuisibles, les champignons pathogènes et les nématodes et des pesticides synthétiques **[46, 47].**

A.2.6 Conservation des huiles essentielles :

L'instabilité relative de molécules constituent des huiles essentielles rend leur conservation délicate. Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles.

- La température : stockage doit se faire à basse température (entre 8° et 25°C).
- La lumière : il faut stocker dans l'obscurité et dans un récipient opaque, brun de préférence.
- L'oxygène : les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche.
- La durée de conservation admise est de 2 à 5 ans **[45].**

A.3 Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

La diversité et la complexité d'HE rendant le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte. **[48].**

A.3.1 Principaux paramètres d'extraction :

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

- La volatilité
- La solubilité
- La taille et la forme des molécules constitutives
- L'adsorption.

Le tableau (A-8) résume selon le paramètre de séparation mis en jeu les techniques les plus couramment utilisées et quelques types des produits fabriqués. Ces techniques d'extraction mettent en œuvre, plusieurs types d'opérations fondamentales. **[49].**

Tableau A-8 Les techniques les plus couramment utilisées et quelques types des produits fabriqués. **[49].**

Techniques	Propriétés	Produits fabriqués
Evaporation Déshydratation - Séchage Concentration de miscella (Sous pression. atmosphérique ou réduite) Concentration de jus de fruits	**Volatilité**	Résinoïdes, concrètes Oléorésines
Distillation Rectification (Sous pression. atmosphérique ou réduite) Distillation sèche		Isolats, déterpénés Huile empyreumatique
Co-distillation Avec l'eau (Sous pression. Atmosphérique en surpression) Hydrodistillation Entrainement à la vapeur d'eau Avec un autre fluide (Sous pression. atmosphérique ou réduite) Alcools, Polyols		Huiles essentielles Eaux aromatisées Alcoolats Distillats moléculaire
Extraction liquide / solide : avec solvant conservé : Corps gras, Alcool Solvant éliminé : Fluide liquéfié (ou supercritique)	**Solubilité**	Pommade Infusion – Teinture Concrète, résinoïde
Extraction liquide / liquide Discontinue ou Continue		Essences déterpénées
Cristallisation après concentration partielle et refroidissement.		Menthol – Anéthol
Broyage – tamisage	**Formes et taille des particules**	Huiles essentielles d'agrumes
Expression – Filtration		
Glaçage – Filtration		
Séparation au moyen de membranes		
Séparation chromatographique **Décoloration**	**désorption**	Huiles essentielles Absolues

Il existe actuellement plusieurs procédés technologiques innovants qui viennent compléter celles conventionnelles comme nous le citons principalement sur le tableau (A.9).

Tableau A.9 : Les différentes méthodes d'extraction **[49 à 61]**

Méthodes conventionnelles	Méthodes innovantes
- L'hydro-distillation. - Entrainement à la vapeur d'eau. - Distillation à la vapeur directe. - Distillation sèche - L'hydro-diffusion. - L'expression à froid. - Huiles essentielles produites par pyrogénation du bois. - Extraction à l'eau surchauffée. - Distillation par extraction simultanée (SDE). - Extraction par solvants. - L'enfleurage. - Macération.	- Extraction par ultra-sons ou sonication . - Extraction assistée par micro-ondes. - Extraction au fluide supercritique. - Extraction par Induction magnétique.

A.3.2 Avantages et inconvénients des procédés d'extraction :

A la diversité de ces méthodes, ils en découlent des différents avantages et inconvénients pour chacune de ces méthodes :

Tableau A-10 : Avantages et inconvénients des différents procédés d'extraction **[62]**

Procédés d'extraction	Avantages	Inconvénients
Hydrodistillation	- Rendement en huile essentielle très élevé. - Essence de bonne qualité, très concentrée. - Contacte directe entre matière végétale et eau.	- Altération de certaines substances à la température d'ébullition de l'eau. - Pert d'une partie d'essence par évaporation, oxydation, dissolution et cyclisation. - Procédé violent.
Induction électromagnétique	- Réglage de chaleur à diffuser de manière précise, - La chaleur transforme plus rapidement le longe de .l'objet qu'une chaleur par convection traditionnelle. - Une économie d'espace que l'installation pour chaleur par convection dans la mesure où la chaleur est présente elle –même dans la matière, la radiation est alors très rapide. - Meilleures conditions de travail sans saleté ni fumer.	- L'orsque mauvaises manipulation, d'autre objet peuvent être involontairement chauffés ; ça nécessite un soin délicat lors la manipulation. - Des couts d'acquisition élevés pour les fortes puissances. - Des champs électromagnétiques peuvent apparaître ce qui peut alors nuire l'environnement.
Entrainement à la vapeur d'eau	- Réduire l'altération des constituants d'huile essentielle. - Economie énergie, de temps d'extraction. - Efficacité d'extraction.	- Agglutination de la charge végétale sous l'effet de la vapeur d'eau. - Mauvaise qualité de l'huile. - Réaction secondaire hydrolyse et formation d'artéfacts.
Expression à froid	- Essence de très bonne qualité, non trop altérable.	- Procédé non généralisé - Rendement très faible en essence.

Enfleurage	Obtention d'aboules ou concentré de pommade qui garde tout la finesse et l'odeur de la fleur épuisée.	- Cout très élevé. - Diffusion lente et processus délicat.
Digestion (macération à chaud)	- Rapidité. - Réduction considérable du temps d'extraction, du rendement. - l'optimisation des conditions de l'extraction.	Toutes les fleurs ne peuvent être traitées par ce procédé, ça pourrait peut diminuer le rendement en huile essentielles.
Micro-onde	- Rapidité. - Réduction considérable du temps d'extraction, du rendement. - l'optimisation des conditions de l'extraction. - Amélioration du rendement.	- Détérioration des constituants odorants par le micro ondes qui possèdent une grande énergie.
solvant organique	- Universalité. - Procédé doux, non violente. - Principe actifs olfactivement. - Proche du végétal lui-même	- Danger sur l'homme et sur enivrement en cas de manque de prévention. - Impossible de contrôle les paramètres de pression et de température.

Introduction :

Différents ordres de préoccupations se rencontrent dans cette étude et lui confère sa substance. Dans l'une on a entrepris l'extraction des huiles essentielles à partir des parties aériennes du *Pélargonium graveolens* en utilisant des méthodes d'extractions utilisant différents modes de chauffage. La caractérisation des huiles essentielles obtenues ainsi que l'évaluation de leurs pouvoirs antimicrobiens, antifongiques et antioxydants a pris sa part dans une deuxième préoccupation. Une étude cinétique de l'extraction par hydrodistillation ainsi que l'évaluation de l'activité biologique des fractions des huiles obtenues a fait quant à elle l'objet de notre troisième objectif de ce travail.

B.1 Matériel et Méthodes :

Ce travail a nécessité l'ensemble du matériel et d'appareillage décrit ci-dessous tableau (B-1).

Tableau B-1 : Appareillage, matériel et produits utilisées

Appareillages et matériel	Produits		Verrerie
Dispositif d'hydrodistillation	Nom	pureté	Ballon
Balance analytique	Di-éthyle éther	99,8%	Ampoule à décanter
Etuve d'incubation	Ethanol	99,8%	Réfrigérant à serpentin
Chauffe ballon de puissance 1 L	Hydroxyde de potassium	85%	Flacons en verre stériles
Bec bunsen	Solution phénolphtaléine		Tubes à essai stériles
Agitateur magnétique	Chlorure de sodium	99,5%	béchers
Autoclave pour la stérilisation	Eau physiologique		Pipettes pasteurs
Bain marie	Eau distillée		Eprouvette graduées
pH mètre			Fioles à jauger
Polarimètre			Erlen Meyer
Réfractomètre			
Plaque d'induction magnétique			
Microscope optique			
Cocotte-minute			
Boites pétries en plastique	Milieu de culture Gélose Muller Hinton		
Disque vide en papier	Milieu de culture Gélose Nutritif		
Ecouvillons stériles			

Pour la réalisation de notre travail expérimental on a jugé utile d'adopter l'organigramme du travail expérimental représenté sur la figure (B-1).

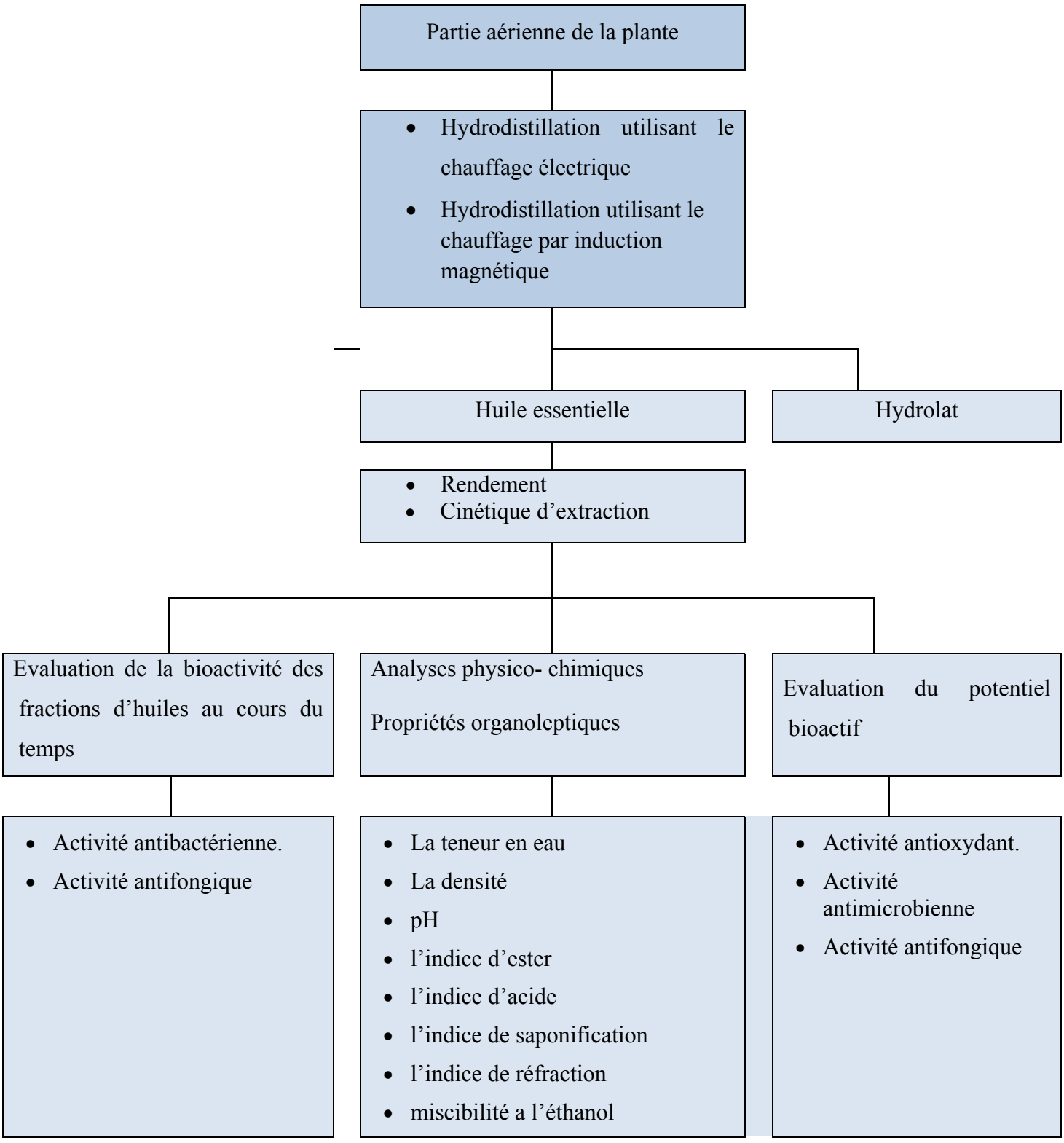


Figure B-1. Le schéma général du travail expérimental

B.1.1 Matière végétale :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude renferme les parties aériennes précisément les feuilles de la plante médicinale *Pélargonium graveolens*.

B.1.1.1 L'identification :

L'identité et la systématique de l'espèce *Pélargonium graveolens* a été confirmée par Monsieur Dahmani chef service au niveau de la Direction de la conservation des forêts de Médéa.

B.1.1.2 Provenance et période de la récolte de la plante :

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes (feuilles, fleurs et tiges) de P.G récoltées durant la période allant du mois de février jusqu'au mois de mai 2018 dans la région de BENI ATTALI de la wilaya de Médéa (Algérie). Les caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la région de Médéa sont résumées dans le tableau (B-2)

Tableau B-2 : Coordonnés géographique et bioclimatique de Médéa **[63]**

Station	Etage bioclimatique	Altitude (m)	Latitude nord	Longitude est	Pluviométrie (mm/an)
Médéa	Semi –aride	920	36 ° 16' 3''	2° 45' 0''	800 mm (au nord et 200 (au sud)

B.1.1.3 Préparation de la matière végétale :

Les plantes fraichement récoltées, sont lavées et divisées en deux parties l'une extraite fraiche et l'autre laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant une semaine. Notant qu'avant le lavage, une certaine quantité est récupérée pour la mesure du taux d'humidité ; les feuilles sont les parties concernées.

B.1.2 Détermination de la teneur en eau :

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans la matière végétale. Le contenu en humidité des feuilles de *Pélargonium graveolens*, a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve à 60°C ± 5°C jusqu'au l'obtention d'un poids constant (La différence entre deux

pesées consécutives n'est pas significative) **[64]** .Où la masse du matériel végétal est pesée avant et après séchage. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{A-B}{B} \times 100 \qquad \text{(B-1)}$$

Avec :

A : Poids de la plante fraiche.

B : Poids de la plante sèche.

H (%) : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

B.1.3 Calcul du rendement en HE :

Le rendement est calculé à partir du poids de l'huile essentielle par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée, soit :

$$\mathbf{R = (M_{HE}/Mvg) \times 100} \qquad \text{(B-2)}$$

R : Rendement en HE (en%).

M_{HE} : Masse de l'huile essentielle.

Mvg : Masse végétale sèche.

B.1.3 Procédés d'extraction :

B.1.3.1 Extraction par Hydrodistillation classique :

L'hydrodistillation est l'un des procédés les plus simples et le plus ancien. Il repose sur le fait que la plupart des matières odorantes peuvent être entraînées à la vapeur d'eau.

Le matériel végétal constitué de la parie aérienne *de Pélargonium graveolens* a été soumis à l'hydrodistillation classique dans laquelle le végétal est en contact direct avec l'eau bouillante, en utilisant le montage de la figure (B-2) dans le but d'entraîner avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts.



Figure B-2: Montage de l'hydrodistillation classique.

Les étapes suivies dans le protocole expérimental pour la réalisation de l'hydrodistillation classique sont résumées sur la figure (B-3).

Notons qu'on a effectué des prélèvements après des intervalles de temps bien définis comptant de l'apparition de la première goutte.

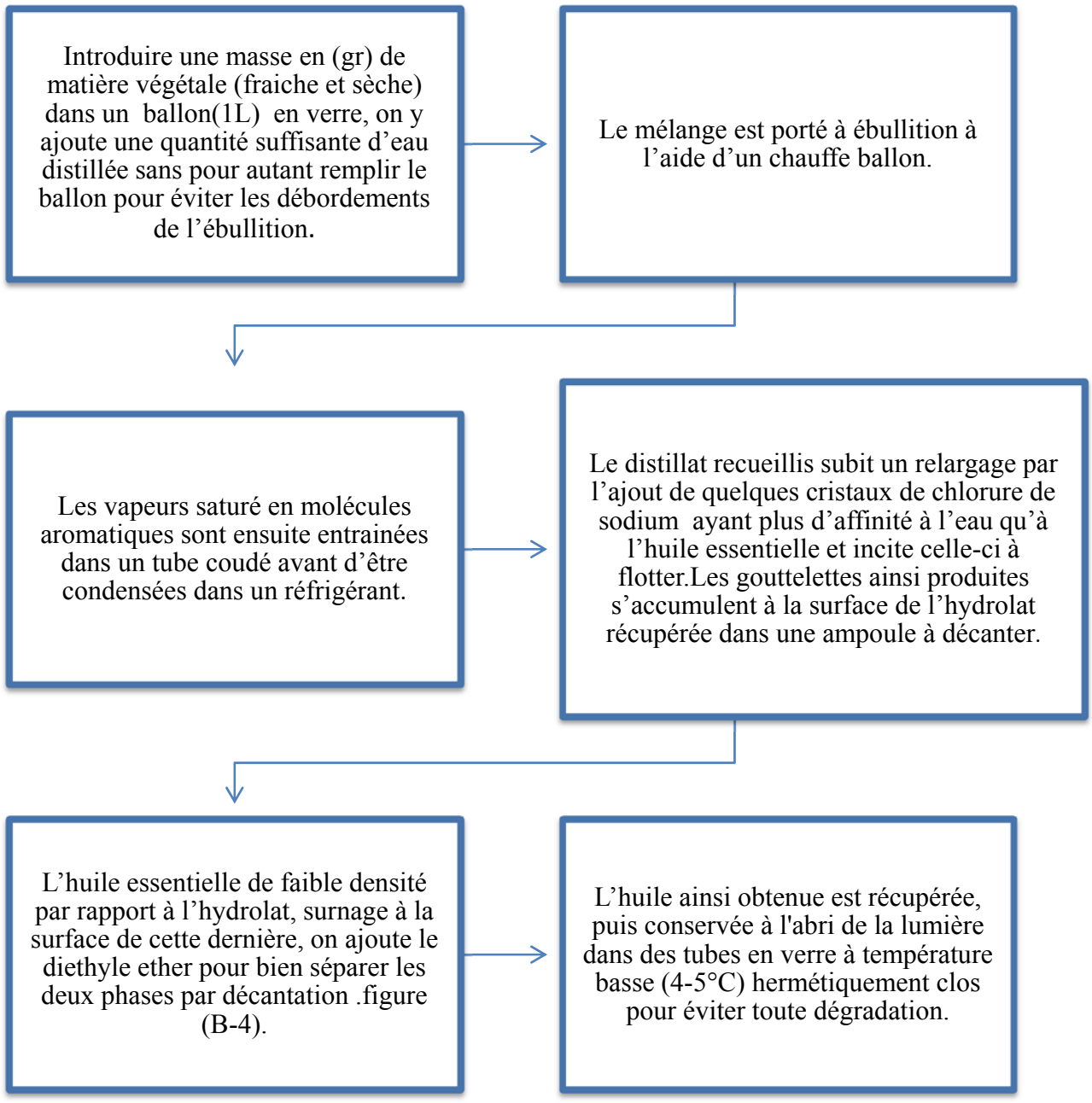


Figure B-3 : L'organigramme récapitulatif des étapes suivies dans le protocole expérimental.

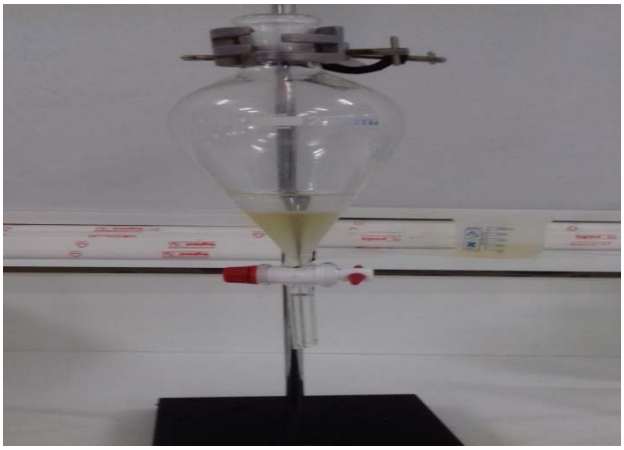


Figure B-4 : Séparation liquide-liquide par le di-éthyle éther

B.1.3.2 Conditions opératoires :

Les conditions opératoires d'extraction par HD sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau B-3 : Conditions opératoires d'extraction par hydrodistillation classique

	PG fraiche	**PG sèche**
Masse végétale(g)	120	60
Volume d'eau distillée (ml)	650	650
Pression (atm)	1	1
Durée d'extraction (h)	3	3
Température	100°C	100°C
Taux d'humidité	82 %	17 %

B.1.3.3 Extraction par Hydrodistillation assistée par induction électromagnétique :

Le chauffage par induction est une technique électrothermique permettant de chauffer des matériaux convecteurs d'électricité, sans contact du matériel avec une source électrique. **[65]**

On trouve, à partir du réseau électrique (50 Hz), un convertisseur permettant de créer les courants électriques à la fréquence souhaitée, un adaptateur nécessaire à l'ajustement des tensions, un inducteur générant le champ électromagnétique dans lequel est placée la charge à chauffer.

Les éléments de base constituant le montage d'extraction par induction magnétique sont représentés dans la figure (B-5).



Figure B-5 : Montage de l'hydrodistillation assistée par induction électromagnétique**.**

Le schéma de la figure (B-6) : résume les étapes suivies dans le protocole expérimental pour la réalisation l'hydrodistillation assistée par induction électromagnétique.

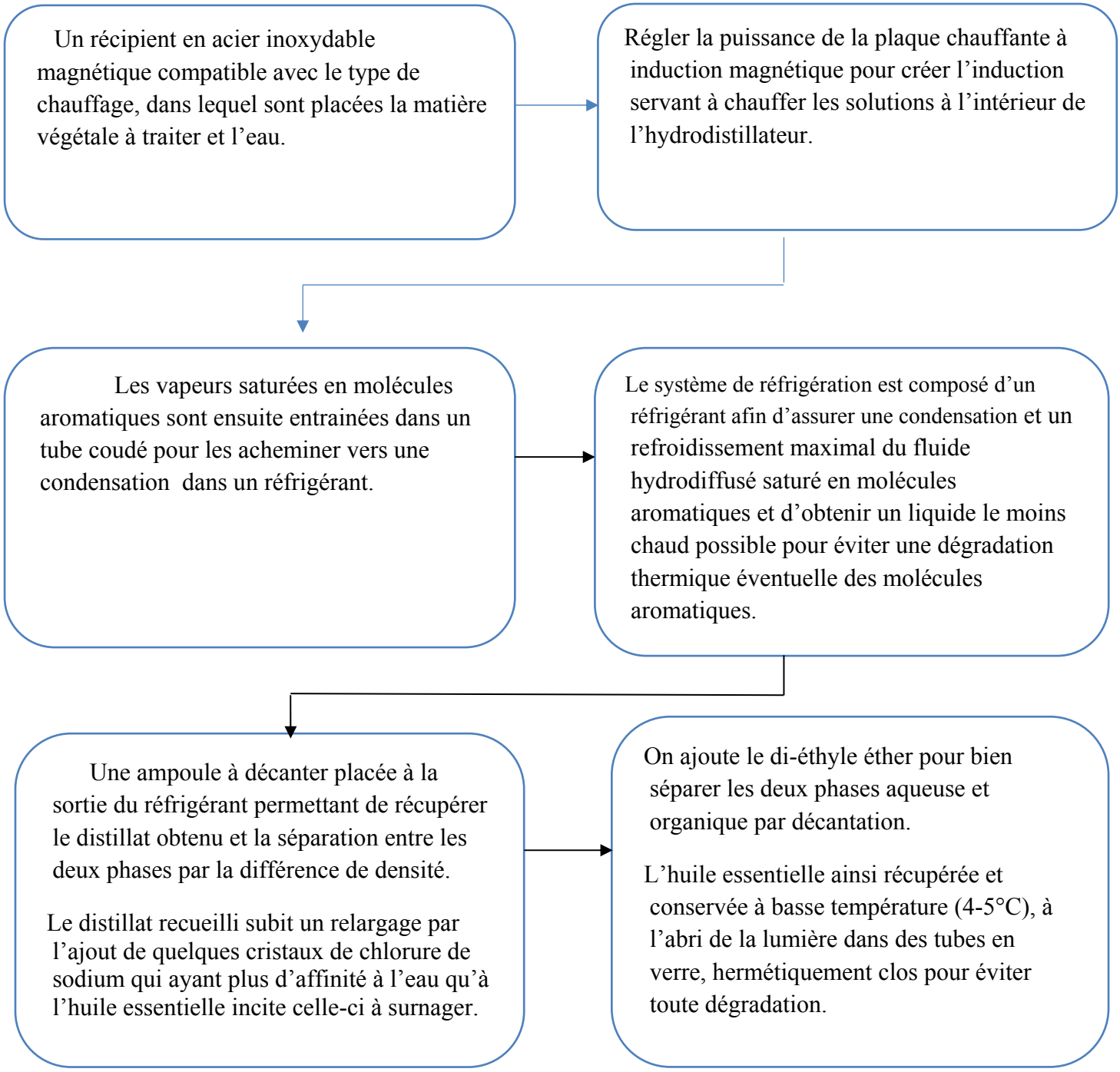


Figure B-6 : Le protocole expérimental pour la réalisation l'hydrodistillation assistée par induction électromagnétique.

B.1.4 Analyse et caractérisation physicochimique des HEs extraites :

Les méthodes utilisées pour déterminer les indices physico-chimiques sont celles indiquées par le recueil de normes de l'Association Française de Normalisation AFNOR **[66]**

a. Test organoleptique :

Chaque extrait est caractérisé par ces propriétés organoleptiques telles que l'odeur, l'aspect et la couleur. L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habilité des parfumeurs à le classer et à le caractériser. La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui le constituent. L'aspect d'un extrait dépend des produits qui le constituent**. [67]**

La couleur des huiles essentielles extraites a été identifiée par observation visuelle.

b. Mesure de la densité relative : [66]

La densité relative de l'HE est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C et la masse de volume d'eau distillée à 20°C. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est d_{20}. La densité est mesurée à l'aide d'un pycnomètre. On effectue la correction à 20°C par la formule suivante ;

$$d^{20}{}_{20} = (m_1 - m)\,(m_2 - m) \qquad \text{(B-3)}$$

d_{20}: Densité à 20°C.

m_1: poids du pycnomètre avec l'HE

m_2 : poids du pycnomètre avec l'HD

m : poids du pycnomètre vide.

c. Mesure de l'indice de réfraction : [66]

On Place l'HE à l'aide d'une pipette dans la cellule de mesure jusqu'au trait de signale ; le couvercle est refermé pendant 15 seconde (temps nécessaire pour que l'appareil soit stabilisé à 20°C) et on règle avec les deux boutons jusqu'à la location du trait signale au centre de la cellule.

L'indice de réfraction d'une HE est le rapport le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'aire dans l'HE maintenue à température constante .Cette grandeur est sans dimension et son symbole est n_D^T . L'indice de réfraction est mesuré à l'aide d'un réfractomètre, est également donnée par la formule suivante :

$$n_D^T = n_D^{T'} + 0{,}0004\ (T'-T) \qquad \text{(B-4)}$$

n_D^T : l'indice de réfraction

$n_D^{T'}$: l'indice à la température ambiante ou de mesure

T' : Température à l'expérience 25°C

T : Température 20°C.



Figure B.7 : Le réfractomètre

d. Mesure de l'indice d'acide : [66]

L'indice d'acide, (I_a), correspond au nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présentes dans un gramme de corps gras. L'échantillon d'un gramme d'huile est dissout dans l'alcool neutralisé avec KOH 0,1M en présence de phénophtaléine. Une coloration violette au point d'équivalence doit subsister quelques instants,

L'indice d'acidité exprimé en pourcentage d'acide libre est calculé comme suit :

$$I_a = (56{,}11 \times V \times C) / m \qquad \text{(B-5)}$$

I_a : L'indice d'acide exprimé en %

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

C : Concentration de KOH.

m : Masse en grammes de l'huile essentielle

e. Mesure de l'indice de saponification : [66]

L'indice de saponification I_s est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres et à la saponification des esters présents dans 1g de substance. Pour le mesurer on procède comme suit :

- Dans une fiole de 250ml de verre borosilicaté munie d'un réfrigérant à reflux, on introduit la prise d'essai (m=1g) d'HE.
- On ajoute 25ml de d'hydroxyde de potassium alcoolique de 0,5M et quelque bille de verre.
- On adapte le réfrigérant et on chauffe pendant 30min.
- On ajoute 1ml de solution de phénophtaléine et on titre immédiatement par l'acide chlorhydrique 0,5M (n_1 ml d'acide chlorhydrique 0,5 M)
- On effectue un essai à blanc dans les mêmes conditions (n_2 ml d'acide chlorhydrique 0,5M).

Cet indice est calculé par la relation suivante :

$$I_s = 28{,}05 \times (n_2 - n_1) / m \qquad \text{(B-6)}$$

I_s : L'indice de saponification

n_1 : volume de HCL en ml nécessaire à la neutralisation l'échantillon

n_2 : volume de HCL en ml nécessaire à la neutralisation le blanc.

m : la masse d'échantillon en g.

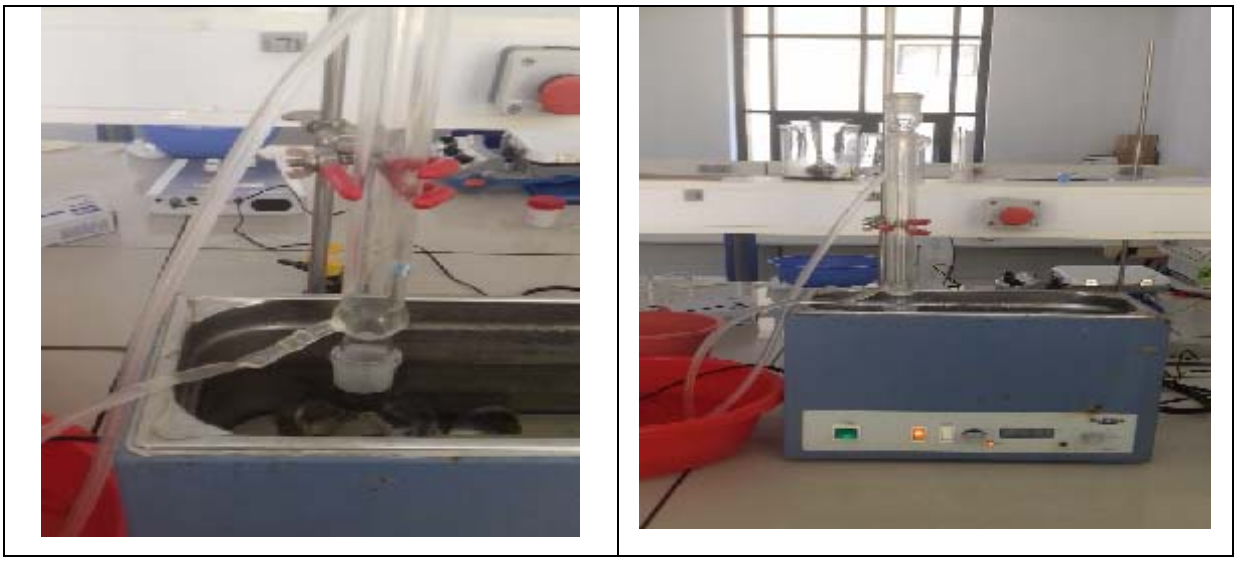


Figure B.8 : Montage pour la détermination d'indice de saponification

f. Mesure de l'indice d'ester : [66]

L'indice d'ester I_E est le nombre qui exprime en milligramme la quantité de d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des ester présents dans 1g de substance.

Il est calculé à partir l'indice de saponification et l'indice d'acide selon la relation suivante ;

$$I_E = I_s - I_a \qquad \textbf{(B-7)}$$

I_E : indice d'ester %

I_s : L'indice de saponification %

I_a : L'indice d'acide exprimé en %

g. Le potentiel d'hydrogène "PH" :

Le pH (potentiel d'hydrogène) mesure l'activité chimique des ions H^+ en solution .Il traduit ainsi la balance entre acide et base sur une échelle de 0 à 14.

Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre Hanna, préalablement étalonné par deux solutions tampons (pH = 4 et pH=7).

h. Miscibilité à l'éthanol : [66]

Une huile est dite soluble dans n volumes ou plus d'alcool d'un titre donné, si la solution limpide dans n volumes demeure limpide comparée à l'huile essentielle non diluée, après 1 addition progressive de nouvelles quantités d'alcool de même titre jusqu'à concurrence de 20 volumes d'alcool, avec une température de 20 ± 0,2°C.

B.1.5 Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne consiste à estimer l'inhibition de la croissance des micro-organismes soumis aux HE de *Pélargonium Graveolens* issues de l'hydrodistillation classique et celle utilisant le chauffage par induction magnétique. On s'est penché aussi dans cette partie sur l'estimation de cette activité pour les fractions d'huiles essentielles obtenues aux différents intervalles du temps de l'hydrodistillation classique. Pour cela, une méthode qualitative dite aromatogramme a été utilisée.

B.1.5.1 Préparation des extraits :

Dans notre étude, nous avons testé l'activité antimicrobienne de l'HE en imprégnant par 03 dose décroissantes de l'HE de *Pélargonium graveolens* séparément tel que :

- La 1ère dose d'huile brute,
- La 2ème (2 µl d'HE dilué dans 5 ml d'éthanol 99,8 % soit (3400 µg/ml))
- La 3ème (2 µl d'HE dilué dans 10 ml d'éthanol 99,8 % soit (1700 µg/ml))

Et ce pour apprécier l'action (dose-dépendante) de l'HE sur la croissance des germes**.**

B.1.5. 2 Aromatogramme :

L'aromatogramme c'est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. Cette méthode est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme (la méthode des disques ou la méthode par diffusion en milieu gélosé), tel que les antibiotiques sont remplacés par des huiles essentielles ou des extraits aromatique. **[68]**

L'aromatogramme est basée sur la technique d'antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. La technique consiste à déposer des disques de

papier imprégnés de différentes huiles essentielles à tester sur une surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier (Figure B-9). Chaque huile diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries se développent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour altérer leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'huile essentielle. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante **[69]**

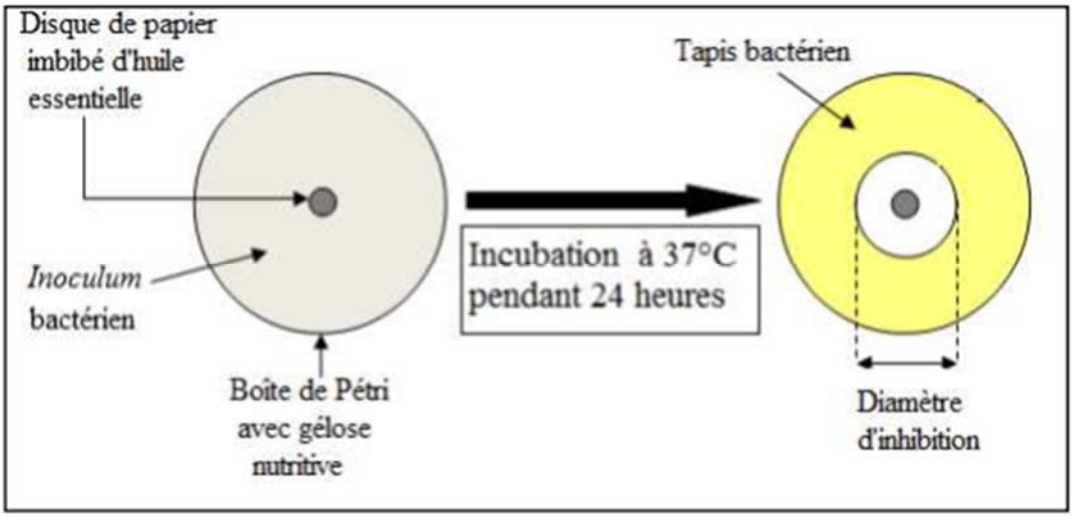


Figure B -9 : Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri

B.1.5.3 Mode opératoire :

- Sur des boites contenant entre 10 – 15 ml de gélose MH pour les bactéries, ensemencé en surface par écouvillonnage 10^8 UFC/ml de culture bactérienne de la souche concernée. L'ensemencement est effectué par étalement, à partir de l'inoculum fraîchement préparé, pour obtenir une distribution égale de l'inoculum.
- On frotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée quatre fois, en tournant la boite de pétri de 45° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. On Finit l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Laisser les boites se dessécher pendant quelques moments.

- A l'aide d'une pince en acier, on dépose à la surface de la gélose des disques stériles (de diamètre 08 mm) imprégnés de déférentes dilutions d'HE, les disques doivent être appliqués à des distances déterminés (03 à 04 disques/boite).
- Les boites sont incubées dans un incubateur à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, et à 25°C pendant (48 -72 h) pour les fongiques.
- Les tests sont répétés trois fois pour avoir des résultats fiables. **[69]**

B.1.5.4 Lecture des résultats :

La lecture et l'interprétation se feront par mesure des diamètres d'inhibition autour chaque disque à l'aide d'une règle en millimètre.

Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériologique de l'HE sur le germe testé. Les résultats sont exprimés en quatre niveaux d'activité sont représentés sur le Tableau (B.4) . **[70]**

On peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, et en traduisant en croix le degré d'activité. **[71]**

Tableau B.4 : Classification de la sensibilité des microorganismes aux huiles essentielles,

Diamètre (Ø) de la zone d'inhibition	La sensibilité à huile essentielle
Ø < 8 mm	Non sensible (-)
9 mm < Ø < 14 mm	Sensible (+)
15 mm < Ø < 19 mm	Très sensible (++)
20 mm < Ø	Extrêmement sensible (+++)

B.1.5.5 Détermination de la CMI par macro-dilution en milieu liquide :

Cette technique consiste à inoculer, par une suspension bactérienne, une gamme de concentration décroissante. Après incubation, l'observation de la gamme permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en extrait capable d'inhiber la croissance bactérienne. **[72]** On procède comme suit :

- 0,2 ml de l'HE est placé dans un tube stérile contenant le bouillon Mueller Hinton supplémenté en tween 80 (0,01 %, v/v).
- Une dilution en cascade est effectuée dans le milieu bouillon Mueller Hinton - tween 80 (0,01 %, v/v), de manière à obtenir une gamme de concentration comprise entre 40 µl/ml et 1,25 µl/ml. **[73]**. (Figure B.10)
- Déposer 0,5 ml d'une suspension bactérienne (10^8 CFC/ml) dans chacun des tubes de la série (Figure B.10), lesquels sont incubés après agitation en vortex, à 37° pendant 24h pour Staphylococcus aureus, Echerichia coli, Pseudomenas aeroginosa, Bacillus subtilis, Entérococcus fécalis, Kleibseila pneumonia et à 25° pendant 48h pour Condidas albicans . (voir Figure B.10)
- Un témoin de la croissance bactérienne, pour lequel 0,5 ml de la suspension bactérienne ont été déposés dans du milieu MHB – tween 80 (0,01 % v/v) est également réalisé.
- Après qu'on les observe macroscopiquement, le premier tube dans lequel il n'y a plus de culture visible indique la concentration minimale inhibitrice.
- Les tubes sont centrifugés ensuite à 6000 T/mn, pendant 05 minutes pour confirmer la présence ou nom de précipité bactérienne. **[72]**

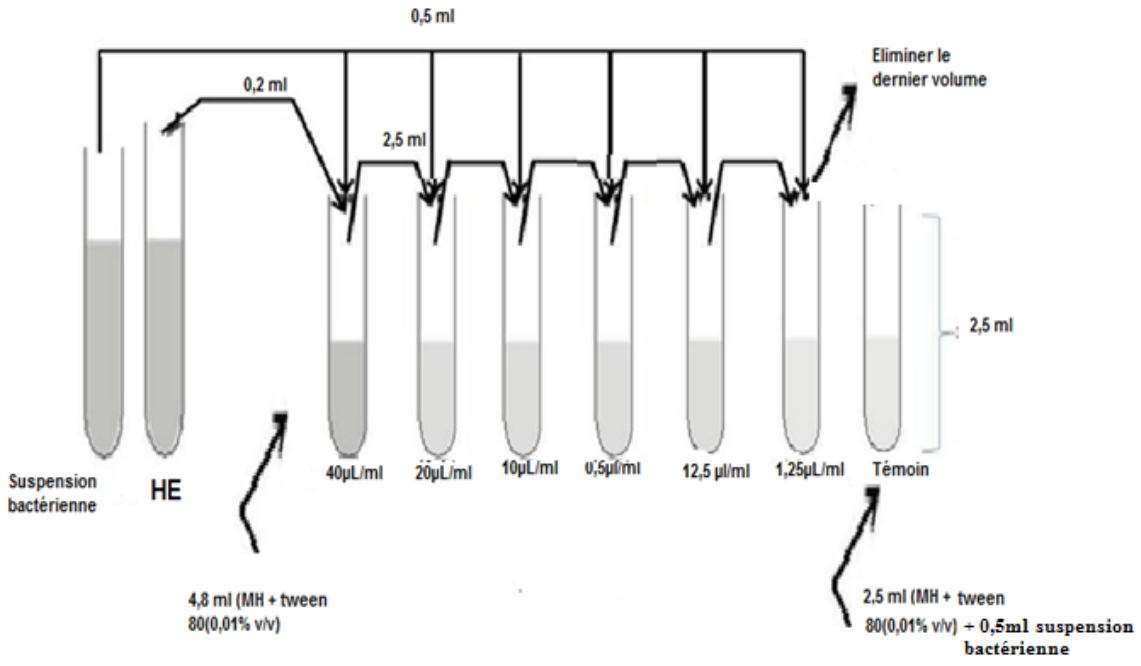


Figure B.10 : Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide

B.1.6 Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles :

La méthode de mesure in vitro du pouvoir antifongique des huiles essentielles se base sur la même technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme (la méthode des disques ou la méthode par diffusion en milieu gélosé), tel que les souches bactériennes sont remplacées par les souches fongiques.

Dans des boites pétries contenant de la gélose PDA ensemencée par les souches fongiques concernées on dépose des disques stériles de diamètres 9mm imprégnés de différentes dilutions d'huiles essentielles, puis on procède à leur incubation à 25°C pendant 48-72h.

B.1.7 Micro-organismes étudiés

L'activité antibactérienne et antifongique a été évaluée sur différents microorganismes sont :

a. **Les fongiques :**

   Les souches fongiques sont choisies pour leur fréquence élevée a contaminer les denrées alimentaires et leur pathogenicite, la souche fongique *Candida albicans* (ATCC (American Type Culture Collection)), a été fourni par labo de recherche d'université Ahmed Bougarra de Boumerdes et la souche fongique *Rhisopus* isolé a été *fourni par le laboratoite de microbiologie des centree hospitaler de Médea*. Elles sont cultivées sur le milieu nutritif PDA (*Potato Dextrose Agar*) pendant sept jours, à 25 °C et à l'obscurité. Ces souches sont représentées sur le tableau (B.4).

b. **Les bactéries :** Les souches bactériennes choisies au cours de cette étude sont l'origine de plusieurs infections (urinaire, intestinales, respiratoires…) ; ces souches bactériennes (ATCC (American Type Culture Collection)), a été fourni par le laboratoire de recherche d'université Ahmed Bougarra de Boumerdes. Elles ont été entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 heures, à l'obscurité et a 37 °C. Ces bactéries sont représentées sur le tableau (B.5).

Tableau B.4 : Présentation des souches fongiques testées **[144, 148]**

Les souches	Morphologie	Milieux d'isolement	Caractéristiques biochimiques
Candidas albicans ATCC 10231	Formant des colonies blanches crémeuses. Cette levure peut mesurer de 3 à 15 µm, elle est caractérisée par un polymorphisme que l'on peut retrouver in vitro et in vivo et qui lui permet de se soustraire aux défenses liés à l'immunité cellulaire.	PDA	• Levure non capsulée, • Non pigmentée, • Aérobie, • Diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes, • Pathogène opportuniste, • Température optimal 30°C.
Rhizopus	La morphologie de l'anamorphe se caractérise par une hyphe siphonnée (sans cloison), multi-nucléé, à noyaux haploïdes, et à croissance apicale, possédant une paroi de chitine et de glucanes..	PDA	Le protoplasme renferme de nombreuses vacuoles qui repoussent le cytoplasme et les noyaux à la périphérie. Les réserves de nourriture sont stockées sous forme de glycogène et de lipides.

Tableau B.5 : Présentation des souches bactériennes testées [144, 145,146, 147, 148]

Les souches	Morphologie	Milieux d'isolement	Caractéristiques biochimiques	
Klebsiella pneumoniae	*Kleibseila pneumonia* des colonies d'aspect muqueux, bacille immobile, de 0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 0,6 à 6,0 µm de longeur, se présentant de manière isolée, ou en groupés par deux ou groupés en courtes chaînes.	• Gélose nutritive (ou gélose ordinaire) • Gélose BCP (bromocrésolpourpre + lactose)	• Aéro-anaérobie • Gram négatif • Oxydase et indole négatif • Nitrate réductase positif • Fermentation des sucres : glucose+ • Réduction des nitrates en nitrites	• ONPG et Urease + • Ornithine décarboxylase négatif • H_2S et TDA négatifs • VP+ (réaction de Voges-Proskauer)
Escherichia coli ATCC 25922	*Escherichia coli* est un bacille radio résistant de la famille des *Enterobacteriaceae*. Sa taille varie en fonction des conditions de croissance (entre 0,5 à 3 µm), pesant de 0,5 à 5 picogrammes	• Gélose nutritive • Gélose BCP	• Gram négatif, • Aéribies facultatifs • Fermentation du glucose (Création de gaz dans un tube Durham). • Ne possédant pas d'oxydase	• Production d'indole à partir du tryptophane. • Ne produit pas d'H2S. • Citrate et Uréase négatifs • Indole positif
Pseudomonas aerogénosa	• *Pseudomenas aeroginosa* est un bacille fin sous forme de bâtonnet de 2 à 4 µm de longeur et 0,5 à 1 µm de largeur, très mobile grâce à un cil polaire • Les colonés présentent un reflet métallique caractéristique observable sur gélose ordinaire (BCP) et sur milieu sélectif (gélose au sang).	**Milieu sélectif :** gélose au sang	• Gram négatif • Aéribies stricts • Oxydase positif • Négatif pour les caractères : Indole, Urée, TDA, H2S, OPNG, LDC, ODC, Lactose	• Positif pour les caractères : gélatinasse, Nitrate réductase, ADH • Non fermenter • pH 4,5 • Odeur de fleur de seringa
Staphylococcus aureus ATCC 29213	• *Les staphylocoques* sont des coques arrondis, en amas réguliers (*grappes de raisin*) ou par deux, de 0,7 à 1 µm de diamètre. Donnant un trouble uniforme en milieux liquides et, sur gélose, des colonies rondes, lisses, bombées et opaques, atteignant 2 à 3 mm de diamètre.	**Milieu sélectif :** • Gélose Chapman • Gélose Baird Parker	• Gram positif • Immobile • Catalase + • Absence d'une oxydase • Fermentation du glucose sans production de gaz	• Faisant fermenter les glucides • Arginine dihydrolase + • Température optimal 37°C et • pH optimale 7,2 à 7,4 • Aérobies facultatifs
Entérococcus fécalis ATCC 29212	• *Les entérococcus faecalis* sont des coccis de dimensions inégales, en diplocoques ou courtes chaînettes. Ils sont immobiles et sans capsule. Ils présentent un trouble en bouillon. Sur gélose au sang, les colonies peuvent être non hémolytiques ou alpha-hémolytiques.	• Gélose Au Sang, • Bile-esculine	• Gram positif, • Anaérobies facultatifs, • Catalase-négatifs,	• Se présentant de manière isolée, en paires ou en courtes chaînes. • La température optimale de croissance est de 35 °C
Bacillus subtilis ATCC 26231	Est une bactérie translucide, de couleur blanc crème ou jaune, élévation bossue, surface brillante, marge dentelée, consistance gluante, sa longueur varie de 2 à 4 µm et sa largeur de 0,5 à 2 µm.	• Gélose nutritive • Gélose BCP	• *Gram positif,* • Mobile et aérobie stricte, • Sa température optimale est de 40 C.	• Temps de génération (26 mn). • Les conditions de croissance à pH (entre 5,5 et 8,5, et à une température de 10 C à 50 C.

B.1.8 Pouvoir antioxydant :

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir **[74].** Lorsque l'on parle de pouvoir antioxydant, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation **[75].** En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène… etc. **[76]**

La détermination du pouvoir antioxydant des huiles essentielles est basée sur le principe de la réduction du radical libre, le 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle (DPPH) selon Leitão et al. **[77]** et Chen et al **[78]**.

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517nm **[79]**. Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-Activité Anti-oxydants des composés phénoliques **[80]**. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Figure B.11). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères. Le radical DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire **[81]**

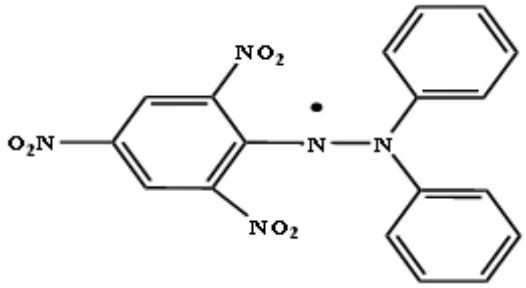


Figure B.11 : Structure chimique du radical libre DPPH **[81]**

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits **[82]**

Le DPPH est initialement violé, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule anti-oxydants, se transforme en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu alcoolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des anti-oxydants. Ce test est très utilisé, car il est rapide et facile. **[82]**

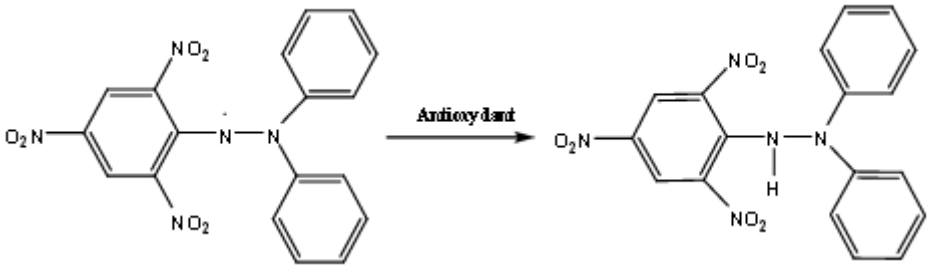


Figure B-12 : Réduction du radical DPPH • **[83]**

B.1.8.1 Mode opératoire :

Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 0,004 g de DPPH dans 100 ml de méthanol, différentes concentrations de solutions d'échantillons et de contrôle sont ajoutées à 1ml de la solution de DPPH. Après incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurés à 517 nm.

B.1.8.2 Calcul du pourcentage d'inhibition I% et la concentration inhibitrice minimale(IC_{50})

$$\mathbf{I\ (\%)=}\ \frac{(Ab-Aech)}{Ab}\ .100 \qquad \textbf{(B.8)}$$

Où:

A_b : Absorbance de la solution DPPH sans l'échantillon (contrôle négatif)

$A_{éch}$: Absorbance de la solution DPPH en présence de l'échantillon

La concentration d'inhibition minimale (IC_{50}) est estimée par l'extrapolation à I=50% en traçant la courbe I % = f (concentrations)

Les valeurs mesurées permettent de tracer la variation du pourcentage d'inhibition du radical DDPH en fonction de la concentration de l'huile essentielle testée. On détermine graphiquement la concentration correspondante a 50% d'inhibition (EC50, autrement appelée IC50), qui constitue l'activité anti-radicalaire de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* testée. La valeur EC50 trouvée pour l'huile est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% par inhibition de l'activité du radical DPPH.

B.2 Résultats et discussions

B.2.1. Aspect quantitatif de l'huile essentielle des parties aériennes de *Pélargonium graveolens :*

Afin de contribuer à une éventuelle valorisation de l'espèce végétale *Pélargonium graveolens,* nous avons opté dans une partie de notre travail pour l'étude de l'extraction par deux différentes techniques extractives des substrats végétaux. Au cours de ce balayage nous évaluerons la variation du rendement des huiles essentielles obtenus en fonction des divers paramètres à savoir : teneur en eau, mode de chauffage.

L'HE a été extrait de la matière végétale sèche et fraiche, l'extraction que nous avons effectuée a été faite à partir parties aériennes de *Pélargonium graveolens* récoltée en période de début de floraison de cette plante, du mois d'Avril au mois de Mai. Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau (B-6).

Tableau B-6 : Rendement en huile essentielle de PG de la région de Médéa récoltée en début de floraison.

		PG frais	**PG séché**
Masse végétale (g)		120	60
Quantité d'eau (ml)		650	650
Taux d'humidité (%)		82	17
HD assistée par chauffage classique	M (g)	0,14	0,21
	R (%)	0,117	0,350
HD assistée par induction électromagnétique	M (g)	0,498	1,536
	R (%)	0,41	0,64

Notre étude donne un rendement satisfaisant de 0,117 % pour la plante fraiche de PG. Ce rendement est en accord avec celui recommandé par les normes AFNOR. En comparaison avec la même espèce d'autres régions, le rendement est remarquablement élevé pour le PG séché provenant du Maroc récoltées en Mars 2013, il atteint 0,8%. **[81]** qui est même largement supérieur à notre rendement en huiles essentielles pour la plante sèche (0,35 %). Tableau (B-7).

Tableau B-7 : Le rendement d'huile essentielle de PG pour différentes régions

Région	**Réunion [84]**	**Inde [85]**	**Afrique de sud [86]**	**Blida [34]**	**Maroc [04]**	**Ourgla [87]**	**Médéa Notre étude**	**AFNOR [66]**
Année	1989	2006	2006	2010	2014	2015	2018	
Rendement (%)	0,08-0,16(f)	0,22(f)	0,2 (f)	0,2(f)	0,8 (s)	0,14 (f)	0,117(f) 0,35 (s)	0,1-0,15(f)

(f) : fraiches, (s) sèches

Les fluctuations et les variations constatées dans le rendement peuvent être attribuées à l'imbrication d'une multitude de facteurs. Les plus importants sont :

- Le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité de l'HE,
- Les pratiques culturales (les écartements entre plants : **[81]**, le désherbage **[86]**, les amendements minéraux **[89]**),
- L'origine de la plante Rodolfo J., et al **[90]** ont montré que le rendement d'extraction est fonction de l'origine de la plante : France (0,15%), Portugal (0,2%), USA (0,18%).
- Le matériel employé et la méthode d'extraction de l'HE , **[91, 92]**
- Le temps de séchage influe sur le rendement : Cette tendance est mentionnée par le travail de Gomes PB., **[91]** où il rapporte dans une étude comparative que l'HE distillée des plantes sèches et feuillage jaune est la meilleure qualitativement et quantitativement ;

- Le climat, la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents exercent une influence directe, surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielles comme la plante PG. **[10],**
- L'âge de la plantation. Il est maximum pour les plantations de 3 ans, 30 à 35 kg/ha. **[93]**
- l'organe de la plante utilisé, etc.

B.2.1.1 Influence du mode de chauffage :

L'examen des résultats expérimentaux de l'extraction des parties aériennes de *Pélargonium graveolens* provenant de Médéa par l'hydrodistillation assistée par deux modes de chauffage : classique et par induction magnétique montre des écarts dans les rendements obtenus. L'importance de l'effet du mode de chauffage choisi sur la quantité d'huile peut être nettement objectivée à travers les histogrammes de la figure (B-13) qui représente le suivi du rendement de l'extraction de *Pélargonium graveolens* frais et séché par les modes de chauffage utilisés conventionnels et innovants.

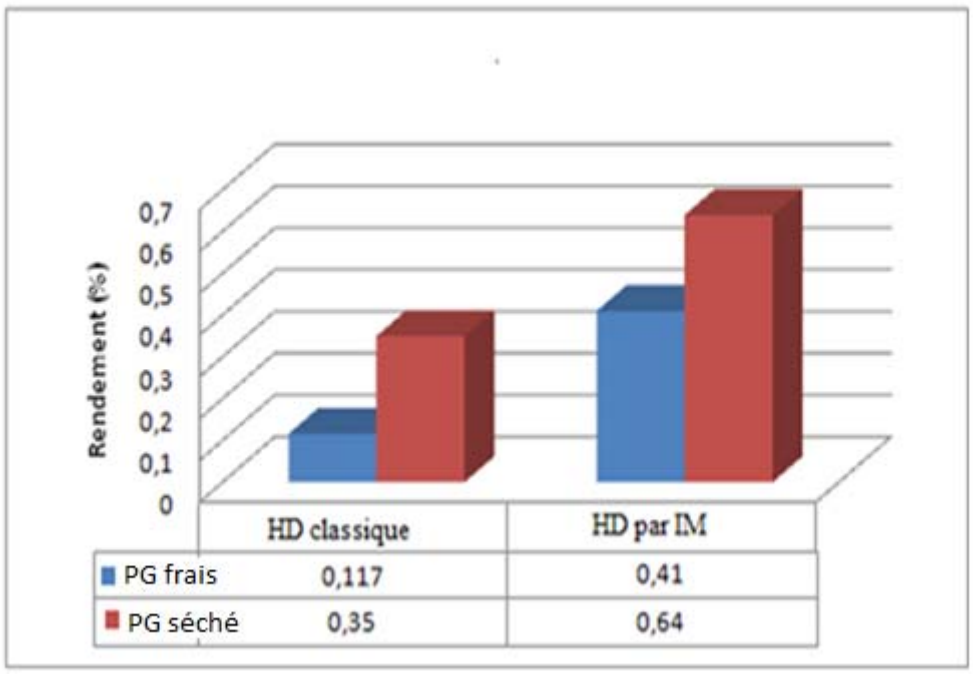


Figure B-13 : L'évolution de rendement des HEs de PG séché et frais obtenu par HD assistée par chauffage classique et par HD assistée par induction électromagnétique.

En effet, l'hydrodistillation assistée par induction électromagnétique est nettement plus performante que l'HD classique car il est possible d'augmenter le rendement en HE pour le PG frais et séché respectivement jusqu'à 0,41 % et 0,64 %, contre 0,117 % et 0,35 % par HD classique.

En revanche, le chauffage par induction magnétique permet l'homogénéité et la rapidité de chauffage, grâce à son principe de produire la chaleur au sein même du matériau à chauffer, il parait qu'il aura une influence sur le déroulement de l'hydrodistillation et par conséquent sur le rendement en huile essentielle et la durée de l'extraction.

B.2.1.2 Influence du taux d'humidité :

a- Variation du taux d'humidité :

Le taux d'humidité dans les parties aériennes de *Pélargonium graveolens*, représente la masse de l'eau contenue dans cet échantillon par rapport à sa masse sèche. Les résultats de la détermination de la teneur en eau de la matière végétale à l'état fraiche et sèche sont regroupés sur la figure (B-14)

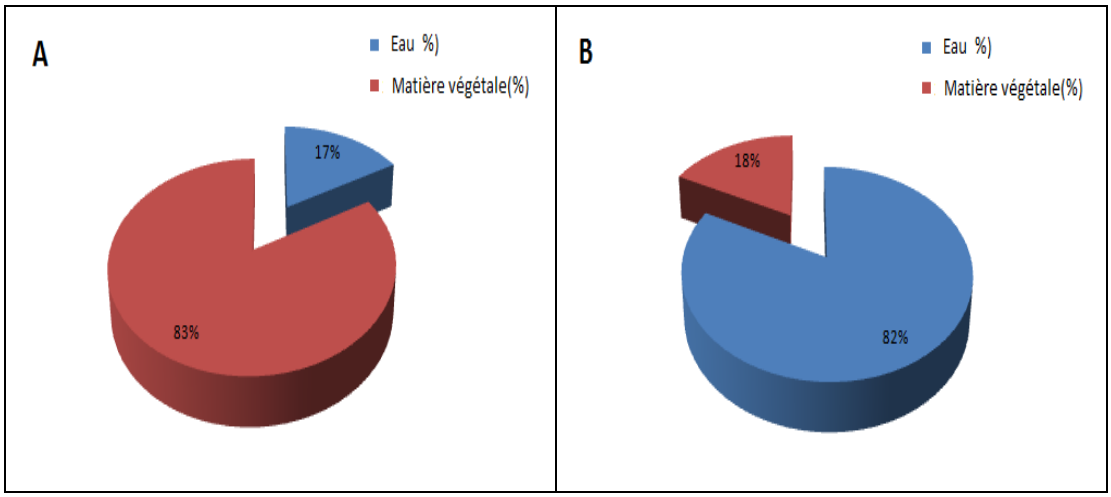


Figure B-14 : Taux d'humidité de PG (Période de récoltes : début de floraison)
(A) PG séché**(B).** PG frais

La plante fraichement récoltée a un taux d'humidité plus élevé que celle de la plante sèche, cette déférence traduit l'effet de séchage de la plante à l'air libre. La plante, en tant qu'être

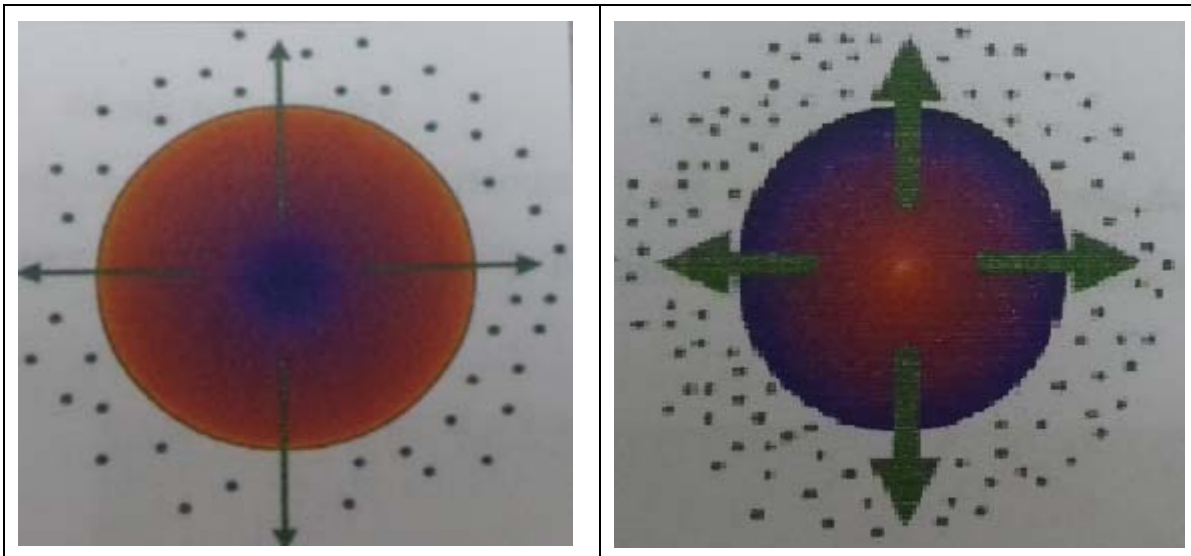
vivant, va peu à peu perdre de ses propriété après la récolte, elle perd une quantité de l'eau au cours de temps.

Cette teneur en eau dépend de la période de récolte et aussi de la région. Le taux d'humidité de *Pélargonium graveolens* frais, récoltéde Fès (Maroc) durant la période de Mars 2013, atteint 77,5 % est légèrement faible par rapport à celui de notre plante **[04]**. Par contre pour la plante provenant de la région de Médéa durant la période de Mai,des taux d'humidités plus faibles de l'ordre de 38% et 12 % respectivement pour la plante fraiche et sèche de PG ont été aperçus par Bensouna A. et Boubaa S. **[62]**

b- Rendement en HE :

Il apparait également que le séchage a manifesté son effet sur le rendement en HE. Ce qui se traduit par une faible masse huileuse extraite à partir de PG frais par rapport à celle extraite à partir de la plante sèche. Ceci est valable pour les deux modes de chauffage utilisés figure (B.13). Pour l'hydrodistillation utilisant le chauffage classique, le rendement en HE peut atteindre une augmentation de 3 fois plus par le séchage (de 0,117% à 0,35%), du fait que le séchage élimine de l'eau présente dans les feuilles qui est responsable de traîner la libération des HEs.

D'autre part, cette amélioration de la quantité d'HE extraite par le séchage est 2 fois plus supérieure que celle manifestée dans le cas où le chauffage par induction magnétique est utilisé. Cela peut être expliqué par la différence du contenu en eau résiduelle. Une augmentation de ce contenu favorise le chauffage par induction magnétique et par la suite l'extraction car le chauffage très rapide de l'eau résiduelle présente dans la matière végétale « chauffage au cœur » entraîne une augmentation aussi rapide de la pression à l'intérieur des cellules de la matière figure (B-15). Dans bien des cas, la pression interne s'élève de façon suffisamment élevée pour faire exploser la paroi de la cellule, ce qui entraine l'expulsion du contenu qui sera dissout dans le milieu aqueux environnant. **[94].**



(a) Extraction par chauffage classique

(b) Extraction par chauffage par induction magnétique

Figure B-15 : Différence entre chauffage classique et chauffage par induction magnétique **[102]**

Extraction par le mode de chauffage classique : ce procédé est contrôlé par diffusion donc, la force motrice de la séparation est la différence de concentrations.

Extraction assisté par induction électromagnétique : l'inversion du gradient de température mène au transfert de la masse sous l'effet de la pression.

B.2.2 Cinétique d'extraction :

B.2.2.1Cinétique d'extraction par HD classique :

L'évolution de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des parties aériennes de PG par l'hydrodistillation assistée par le chauffage classique a été suivie et rapportée sur

la figure (B-16).

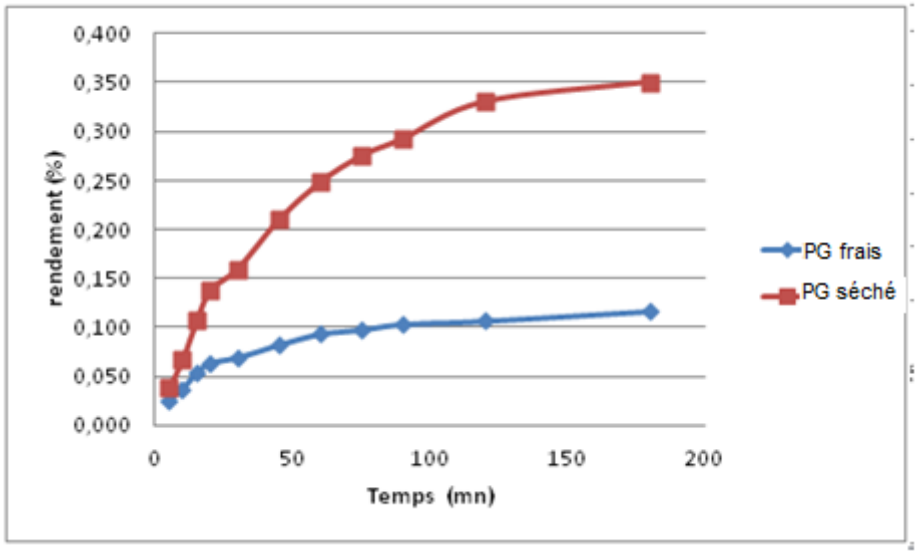


Figure B-16 : Evaluation de rendement en HE extraite par HD assistée par le chauffage classique pour le PG frais et séché de (période de récolte : début de floraison).

Les allures des courbes cinétiques représentant les cinétiques d'extraction par HD pour les parties aériennes fraiches et sèches de PG sont identiques pour les deux cas indiquant qu'elles suivent les mêmes étapes d'extraction :

- ✓ La première étape correspond au début de la distillation de l'HE proprement dite. Au cours de cette étape un accroissement rapide de rendement de façon significative jusqu'à ce qu'il atteint son maximum.
- ✓ Enfin, la deuxième étape indique un ralentissement de l'augmentation du rendement avec apparition d'un pseudo palier. En conséquence, la durée de l'hydrodistillation est de 180 min.

Les deux vitesses d'extraction pour les deux étapes pour la plante fraîche sont bien inférieures que celles rencontrées pour celle séchée .En effet, l'eau présente dans les parties aériennes fraiches fait tarder la libération des huiles essentielles dans les deux étapes caractérisant les cinétiques. Ce qui est traduit par une faible masse huileuse extraite à partir de PG frais de 0,14 g par rapport à celle extraite à partir de PG séché qui atteint 0,210 g.

Les divergences du comportement cinétique apparaissent sur l'ensemble des périodes d'extraction et il devient plus net en dépassant 50 mn d'extraction ou la vitesse d'extraction change. Selon Bencheikh S. et al **[95]** montre que pour un meilleur rendement d'extraction des huiles essentielles , l'extraction doit être effectuée après séchage de la plante avant

l'hydrodistillation. Cette règle a été confirmée pour l'eucalyptus **[96,97]**, pour la verveine **[98,99]**, pour le romarin **[100, 101]**

La cinétique d'extraction peut dépendre de la nature du substrat végétal, la qualité de l'HE, la nature des sites producteurs des HE et leurs localisations.

Dans le cas de *Pélargonium graveolens*, les structures sécrétrices sont superficielles, la membrane externe ou la cuticule qui constitue la seule barrière à la libération de l'HE, est vite rompue à ébullition. Les composés volatils sont aussitôt évaporés d'où la courte durée pour atteindre le pic cumulatif lors de l'extraction. **[86].**

B.2.2.2 Cinétique d'extraction par HD assistée par induction électromagnétique :

Le suivi de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des parties aériennes sèches de *Pélargonium graveolens* par hydrodistillation assistée par induction électromagnétique est représenté par la figure (B-17).

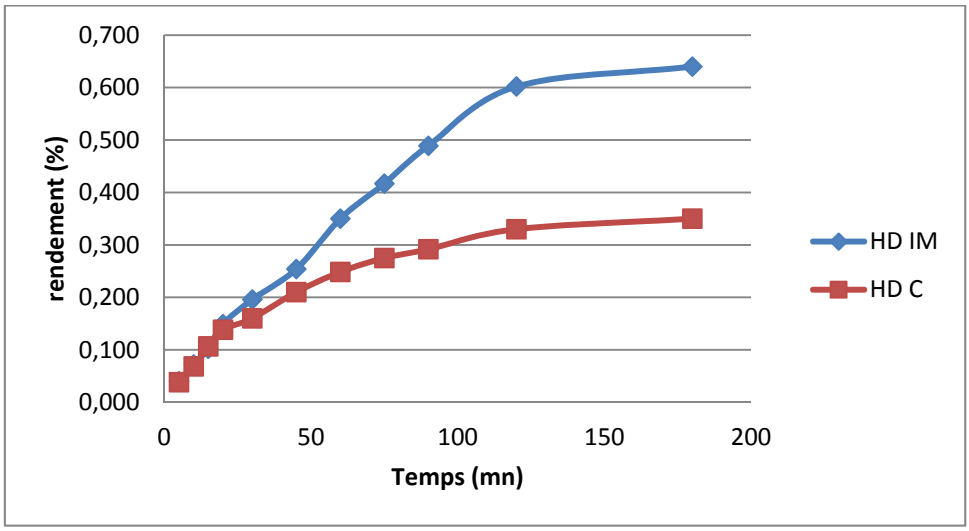


Figure B-17: Evaluation de rendement en HE extraite par HD assisté par induction électromagnétique et HD classique pour le PG séché (période de récolte : début de floraison)

La cinétique d'extraction par hydrodistillation assistée par induction électromagnétique pour le *Pélargonium graveolens* séché suit les mêmes étapes d'extraction citées pour la méthode d'extraction HD classique seulement avec une vitesse d'extraction plus importante.

D'après les courbes représentées sur la figure (B-17), il est clair que la méthode d'extraction assistée par induction électromagnétique a montré une réduction de temps d'extraction, il baisse jusqu'à 60 minutes pour avoir le même rendement de l'HD classique à 180min, ce

résultat concorde avec le travail de **[102]** qui a trouvé que la durée de HD classique est plus longue qu'avec chauffage par induction électromagnétique 195mn et 150 mn respectivement.

Les divergences du comportement des cinétiques d'extraction par HD classique et celle assistée par induction magnétique ne débute clairement qu'après 20 minutes. Il est possible que ce soit le temps nécessaire pour la récupération de l'huile superficielle qui ne dépend pas de mode de chauffage.

L'accélération de la vitesse d'HD par IM est garantie par la présence du champ magnétique, permettant l'homogénéité et la rapidité de chauffage grâce à son principe de produire la chaleur au sein même du matériau à chauffer. **[94]**

L'eau traitée avec des radiations électromagnétiques produit des agrégats de molécules de taille réduite, ce qui améliore l'hydrodiffusion favorisant une plus grande vitesse d'hydrodistilation. La réduction de la taille des agrégats de molécules intervient sur l'hydrodiffusion et les échanges liquide-solide. **[103]**

La saturation en eau du substrat induit l'établissement de diverses pressions hydrauliques **[104,105].**

Celles-ci peuvent avoir une influence sur les mécanismes d'hydrodiffusion. En effet, elles sont liées à des forces physiques s'exerçant sur les particules végétales (immergées dans la phase aqueuse).

Par rapport au système de chauffage conventionnel, la méthode d'hydrodistillation assisté par induction électromagnétique a montré des meilleur résultats en terme de :

- ✓ Amélioration du rendement en HE.
- ✓ Réduction de temps d'extraction.

B.2.3 Aspect organoleptique de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* :

A l'issue des distillations réalisées, l'HE obtenue est de couleur jaune verdâtre figure (B-18) avec une odeur prononcée de rose citronnée. Les paramètres organoleptiques de notre HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR tableau (B-8). L'huile

essentielle de *Pélargonium graveolens* est principalement appréciée pour son odeur de rose en parfumerie.

Tableau B-8 : Propriétés organoleptiques de la partie aérienne de PG

Tests	Norme AFNOR	Résultats
Aspect	Liquide mobile, limpide	Liquide mobile
Couleur	Jaune ambré à jaune verdâtre	Jaune verdâtre claire
Odeur	Rosée, ± menthée	Légèrement citronnée, rosé



Figure B-18. Huile essentielle de PG

B.2.4.Aspect physico-chimique des huiles essentielles de *Pélargonium graveolens* :

Les propriétés physico-chimiques des HEs *de Pélargonium graveolens* extraites le long de notre étude sont rassemblées sur le tableau (B-9) où elles sont comparées par celles des HEs de la même plante trouvées par d'autre études et celles répertoriées par la norme Afnor.

Tableau B-9 : Propriétés physico-chimiques d'HE extraite par HD classique de PG séché

Paramètres physico-chimique	La norme AFNOR [66]	La norme France DEMARNE FE. 1985 [10]	Boukhatem M, 2010 [34]	Notre étude
Densité (leur densité est en général inférieure à celle de l'eau)	0,884	0,905	0,890	0,850
Indice d'acide	10	4 – 10	5,2	10,02
Indice de réfraction	1 ,461-1,470	1,447	1,465	1,468
Indice de saponification	/	/	/	75,35
Indice d'ester	53 - 76	46 - 66	69	65,33
Miscibilité à l'éthanol (v/v)	3 - 5	2 - 3	3	3
PH	/	/	/	6

A partir de ces valeurs, il en ressort que les propriétés physico-chimiques de nos HEs sont en accord avec ceux mentionnés par les normes AFNOR. L'aspect physico-chimique étant influencé par la composition chimique qui est elle-même tributaire des conditions édaphiques et climatiques ainsi que les conditions de cultures des plantes ; cependant il est bien clair que leurs valeurs différent d'une région à l'autre.

- ✓ **Le pH** obtenu indique que notre HE est très légèrement acide.
- ✓ **La densité** de notre HE est moins dense que la norme France mais très proche à celle indiquée par la norme AFNOR.
- ✓ **L'indice d'acide** donne une idée sur le taux d'acides gras libres. Dans notre étude, cet indice, proche à celui de la norme AFNOR. Un produit avec un indice d'acidité faible est un produit de bonne qualité. En effet, une huile fraiche ne contient que très peu

d'acides libres (hydrolyse des esters). Un I_a inférieur à 2 est une preuve de bonne conservation de l'HE (faible quantité d'acides libres) comme dans le cas des résultats trouvés par **[34]**

- ✓ **L'indice de réfraction** est une grandeur qui nous permet d'identifier l'HE, aussi de contrôler sa pureté. L'indice de réfraction de notre huile est plus élevé que celui trouvé pour l'huile de France **[10]** et celle de la région de Chiffa **[34]**. Il parait que notre huile contient légèrement plus de monoterpènes par rapport aux deux autres car cet indice variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé. Pour certains auteurs, le faible indice de réfraction de l'HE indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques**. [106]**
- ✓ **L'indice de saponification** : Plus la valeur de cet indice est élevée plus le poids moléculaire est faible.
- ✓ **L'indice d'ester :** La valeur (I_E) de notre HE est faible en comparant à celui observé par **Boukhatem M, [34]**, néanmoins elle est tolérable par rapport aux normes AFNOR.

B.2.5 Evaluation de l'activité biologique :

L'activité antimicrobienne et l'activité antifongique ont été évaluées *in vitro* en observant l'inhibition de la croissance des bactérieset des moisissures à tester en contact avec l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* à différentes concentrations. Les résultats de cette étude donnant les diamètres d'inhibitions et la sensibilité des souches sont rassemblés dans le tableau (B-10).

D'après les résultats obtenus, on observe que les disques imbibés d'HEs de *Pélargonium graveolens* issus de l'hydrodistillation classique pourront être entourés des zones d'inhibitions dans certain cas d'HEs utilisés, ce qui traduit une absence de croissance microbienne et fongique figure (B-19). Alors que la grandeur de cette activité d'inhibition ne pourra être déduite qu'après la mesure des diamètres de ces zones d'inhibition.

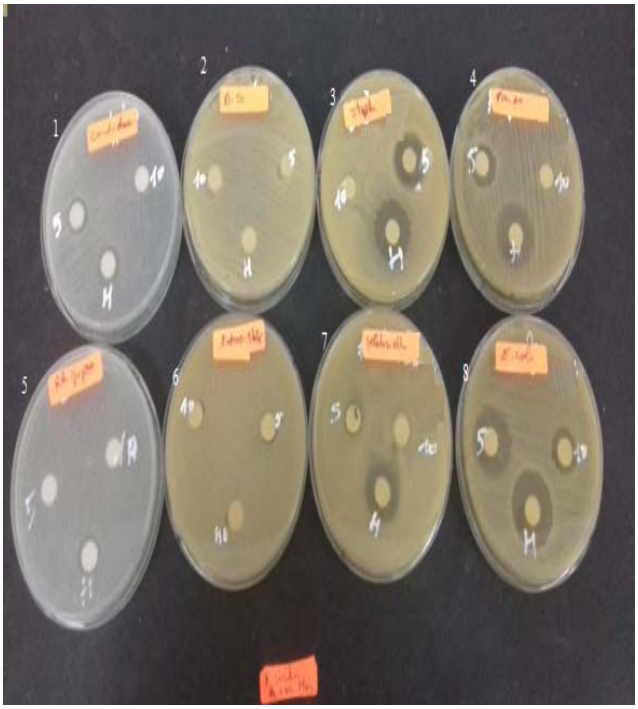
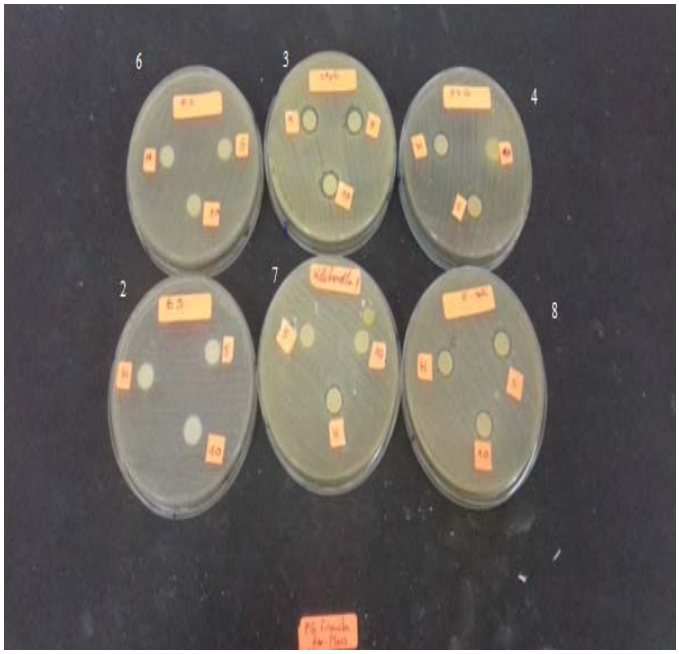
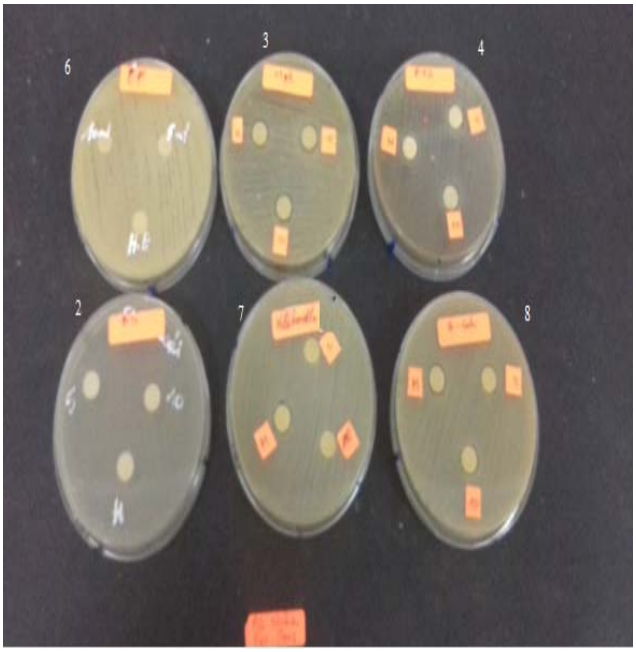
	
PG frais (début de floraison)	PG séché (début de floraison)
	
PG frais (avant floraison)	PG séché (avant floraison)

Figure B-19 : Résultats des aromatogrammes de l'HE de PG extraite par HD classique

Tableau B-10 : Diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes et celles fongiques pour les HEs extraites par l'HD classique de PG séché et frais

		Diamètre de zone d'inhibition (mm) et degré de sensibilité des germes							
		Les souches bactériennes						Souches fongiques	
		Gram -			Gram +				
		Klebsiella pneumoniae	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aerogénosa*	*Staphylococcus aureus*	*Entérococcus fécalis*	*Bacillus subtilis*	*Candidas albicans*	*Rhizopus*
Période de récolte : avant floraison	**HE de PG sèché**	**11**	**13**	**12**	**14**	**-**	**-**	/	/
		+	+	+	+	-	-	/	/
	HE de PG frais	**10**	**12**	**11**	**12**	**-**	**-**	/	/
		-	+	+	+	-	-	/	/
	HE de PG séché+ 0.00034g/ml	**-**	**12**	**11**	**13**	**-**	**-**	/	/
		-	+	+	+	-	-	/	/
	HE de PG frais 0.00034 g/ml	**-**	**11**	**10**	**11**	**-**	**-**	/	/
		-	+	+	+	-	-	/	/
	HE de PG séché 0.00017g/ml	**-**	**12**	**10**	**13**	**-**	**-**	/	/
		-	+	+	+	-	-	/	/
	HE de PG frais 0.00017g/ml	**-**	**10**	**-**	**11**	**-**	**-**	/	/
		-	+	+	+	-	-	/	/
Période de récolte : début floraison	**HE de PG séché**	**19**	**23**	**22**	**23**	**-**	**-**	**14**	**15**
		++	+++	+++	+++	-	-	+	+
	HE de PG frais	**18**	**20**	**21**	**22**	**-**	**-**	**14**	**-**
		++	+++	+++	+++	-	-	+	-
	HE de PG séché 0.00034g/ml	**11**	**21**	**16**	**18**	**-**	**-**	**12**	**-**
		+	+++	++	++	-	-	+	-
	HE de PG frais 0.00034g/ml	**15**	**18**	**16**	**18**	**-**	**-**	**12**	**-**
		++	++	++	++	-	-	+	-
	HE de PG séché 0.00017g/ml	**-**	**15**	**-**	**12**	**-**	-	-	-
		-	++	-	+	-	-	-	-
	HE de PG frais 0.00017g/ml	**-**	**17**	**-**	**-**	**-**	**-**	**11**	**-**
		-	++	-	-	-	-	+	-
Ethanol		**Diamètre d'inhibition de l'éthanol avoisine 8 mm**							

(-) : Pas de zone d'inhibition
Pour la période de récolte (avant floraison) les souches fongiques n'ont pas été testées.

B.2.5.1 Evaluation de l'activité antibactérienne :

A partir d'une lecture du tableau (B-10) on peut observer qu'il existe des divergences de l'activité antimicrobienne qui peuvent être dues à la différence des souches testées et des différences de compositions chimiques d'huile extraite à partir de la plante sècheet celles extraites de la plante fraiche ainsi qu'à la différence des périodes de récolte.Sachant qu'il a été déjà montré que l'activité d'une huile essentielle est directement liée à sa composition chimique **[107].**

Il est clair que le potentiel antibactérien de cette huile est remarquable et il est significatif envers plusieurs souches testées, comme détaillé dans la rubrique ci-dessous dans laquelle on a essayé de comparer nos résultats avec les résultats des travaux antérieurs concernant l'évaluation du pouvoir inhibiteur de l'HE de PG des souches suivantes :

- ***Staphylococcus aureus*** :

Nos résultats confirment que l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* issues de l'hydodistillation classique, a un effet inhibiteur important sur le *Staphylococcus aureus*. Ce qui vient rejoindre les résultats trouvés antérieurement Ben Hsouna A. et Hamdi N., **[108]**, Ghannadi A.et al**. [109]**, Ouissam N. [**04]**, Silva N.,et Fernandes A [**113]**. et Boutarfaia A. **[87]** qui ont mis en évidence l'effet inhibiteur très important de cette huile essentielle contre cette souche.

Selon, Said O. et al**[110]** , Kalebra J., et al**[111]** , et Kabera J. **[112]** le *Staphylococcus aureus* est résistante à l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens*.

- ***Pseudomonas aeruginosa :***

Comme trouvé dans l'étude de Ouissam N. **[04]** nos résultats montrent que l'huile essentielle de PG a un effet inhibiteur important sur la souche *Pseudomonas aeruginosa.* Cette activité est moins importante selon Ghannadi A.et al. **[109]** Par contre Selon Boutarfaia A. **[87]** Kabera J. **[112]**et Kalebra J., et al **[111]** *Pseudomonas aeroginosa* est résistante à l'huile essentielle de PG.

- ***Klebsiella pneumoniae :***

L'étude de l'effet de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* sur la croissance de *Klebsiella pneumoniae*, montre qu'elle inhibe la croissance de cette souche.

Selon Ouissam N. **[04]** et Ben Hsouna A. et Hamdi N., **[108]** cette huile essentielle a un effet inhibiteur moins important contre *Klebsiella pneumoniae.* En revanche notre huile essentielle de PG a un effet inhibiteur important surcette souche.

- ***Escherichia coli :***

L'huile essentielle de PG extraite dans cette étude a un effet inhibiteur important sur *Escherichia coli.*Ce résultat concorde avec les travaux de Kabera J. **[112]**. Notre huile a montré une supériorité en terme de pouvoir inhibant de l'*Escherichia coli*par rapport à celui évalué dans les travaux de Ghannadi A.et al. **[109]** et Ouissam N**. [04].** Cette souche est considérée résistante à l'huile essentielle de PG **[110] .**

- ***Entérococus fécalis :***

La souche *Entérococus fécalis* testée dans notre étude peut résister l'huile de PG, par contre Ben Hsouna A. et Hamdi N., **[108]** ont montré que son inhibition est possible par cette huile.

- ***Bacillus subtilis:***

Selon Said O. et al **[110]**, Ben Hsouna A. et Hamdi N., **[108]** et Silva N. , Fernandes A. **[113]** *Bacillus subtilis* a montré une sensibilité pour l'huile essentielle de PG. Par contre notre échantillon d'HE de PG n'a aucun effet inhibiteur sur la croissance de cette souche.

Le degré de sensibilité des bactéries testées vis-à-vis d'une même HE est supposé varier selon le Gram. **[115]**. Dans ces travaux on a mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (-) par rapport aux bactéries Gram (+). D'autres résultats sont confirmés par de nombreuses expériences **[116, 117, 118, 119]** ayant montré que les bactéries Gram (-) sont plus résistantes aux HE que les bactéries Gram (+). Ces affirmation n'ont cependant pas été confirmées par d'autres travaux, la susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du Gram **[120, 121, 116]**. Nos résultats corroborent cette dernière affirmation.

L'examen des diamètres d'inhibition pour les souches testés figures (B-20) et (B-21) révèle que les deux souches *Staphylocoque aureus*, et *Escherichia coli* hautement pathogènes présentent une sensibilité très élevée vis-à-vis de l'HE extraite de PG séché. Ce qui confirme une conclusion citée par **Oussalah M. et al. [71]**, indiquant que chaque espèce microbienne

réagit de façon particulière aux différents huiles essentielles, et certaines huiles ont des effets inhibiteurs spécifiques d'une bactérie. **[71]**

Pour les deux périodes de récolte, On remarque que l'HE de PG séché est plus active que l'HE de PG fraichement récoltée sur toutes les espèces testées. Il est possible que le contenu en agents responsable de l'inhibition de ces souches est plus important dans l'huile extraite de PG séché.

Cependant, une analyse qualitative de la composition chimique de ces huiles peut apporter plus d'exactitude à cette conclusion.

Concernant l'effet du séchage sur la qualité chimique des huiles essentielles, **[97]** ont remarqué que le séchage à l'air libre et au soleil n'affecte pas d'une manière significative la composition chimique des huiles essentielles. Par ailleurs, Silou T. et al. **[122]** et Roger H. et al. **[123]**, travaillant respectivement sur les feuilles d'Eucalyptus citriodora et les feuilles d'Ocimum basilicum, ont rapporté que le séchage a nettement influencé la composition chimique des huiles essentielles de ces espèces surtout les composés majoritaires.

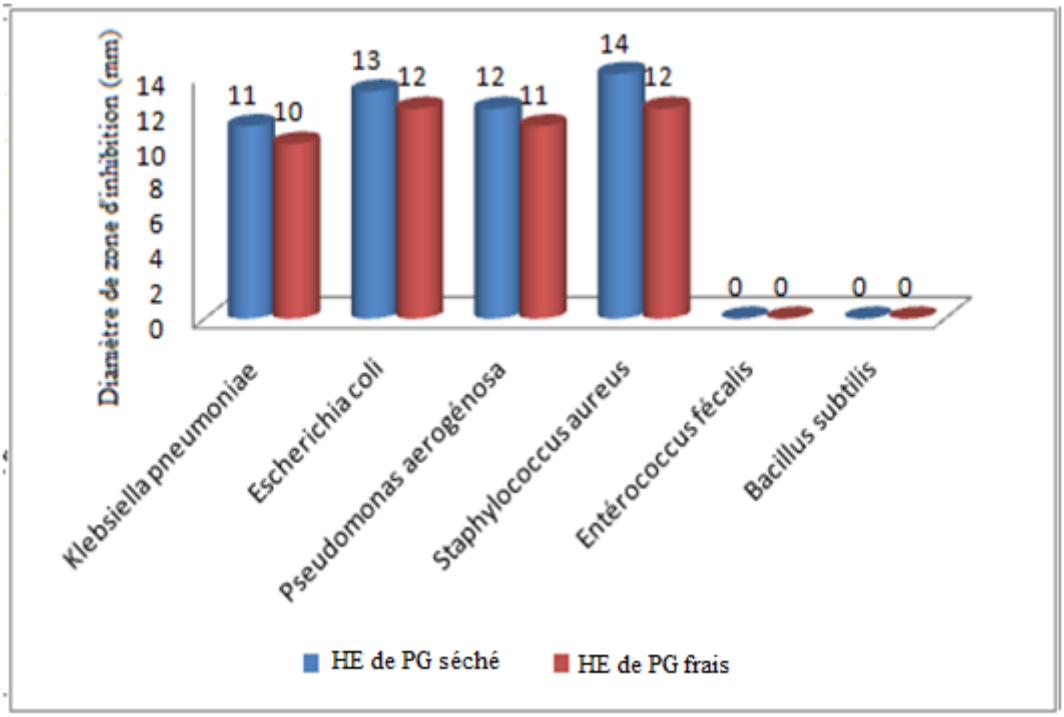


Figure B-20: Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne étudiées par HE de PG séché et frais (période de récolte : avant floraison)

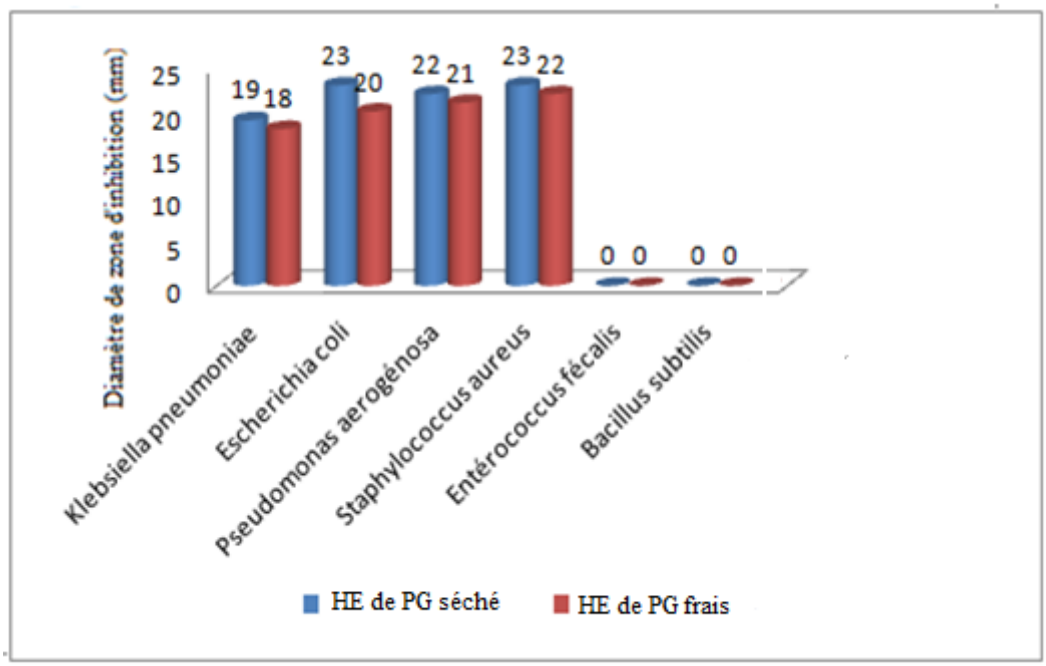


Figure B-21 : Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne étudiées par HE de PG séché et frais (période de récolte : début de floraison)

L'examen de ces deux figures (B-20 et B-21) mène à remarquer l'activité antibactérienne est plus importante pour l'huile extraite de la plante en début de floraison. Ce qui peut être traduit par la maturation de la plante qui favorise la richesse en agents responsables du pouvoir antibactérien des huiles essentielles du Pélargonium graveolens.

Selon Rossi P. et al., **[124]**, une huile essentielle est considérée comme active contre un microorganisme, si elle fournit des diamètres d'inhibition supérieurs ou égaux à 15 mm Donc, d'après nos résultats le *Pélargonium graveolens*ne peut produire une huile essentielle d'activité significative qu'à partir de la phase de croissance de début de floraison.

B.2.5.2 activité antifongique :

En outre de l'activité antibactérienne, l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* a prouvé son pouvoir antifongique contre deux types de souches testés : figure B-22 et tableau (B-10)

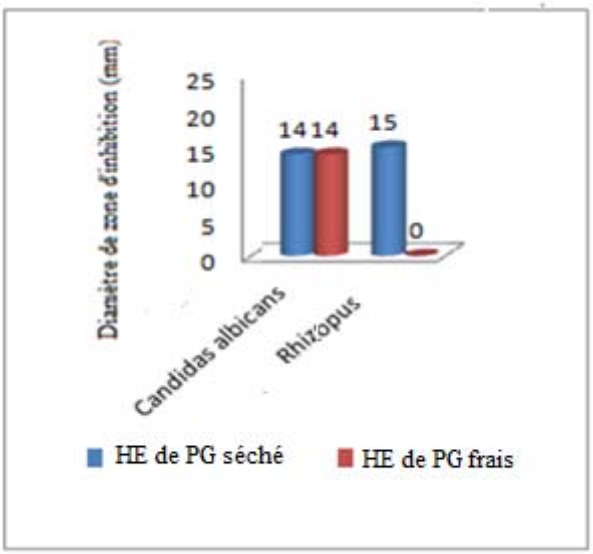


Figure B-22 : Comparaison du diamètre d'inhibition des souches fongiques étudiées par HE de PG séché et frais (période de récolte : début de floraison)

- ***Candidas albicans :***

Notre huile essentielle de *Pélargonium graveolens* montre une faible inhibition de la croissance de *Candidas albicans*. Selon **[125**], cette huile essentielle a un effet inhibiteur plus important contre cette moisissure. Par contre les travaux de Kabera J. **[112]** ont montré que le *Candidas albicans* résiste l'HE de PG.

- ***Rhizopus :***

La croissance de *Rhizopus* peut être inhibée par notre huile essentielle de *Pélargonium graveolens.* Cette inhibition est considérée faible, contrairement à Ben Hsouna A. et Hamdi N., **[108]** qui ont montré que ce type de moisissure est fortement sensible à ce type d'huile essentielle.

B.2.5.3 Effet de la dilution de l'HE de PG sur le potentiel bioactif :

Des mesures des diamètres des zones d'inhibitions des HEs issues de l'hydrodistillation de PG frais et séché récoltés avant et en début defloraison à différentes dilutions dans l'éthanol ont été effectuées pour toutes les souches déjà testées avec l'extrait pur.
Il enressort de ces mesures que la zone d'inhibition diminue en augmentant la dilution de l'huile essentielle pour les souches *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogénosa*, *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae* et *candidas albicans*.
Les dilutions de l'HE issue de la plante récoltée avant la floraison ne peuvent manifester aucune activité antibactérienne contre la souche *Klebsiella pneumoniae*. Les trois souches *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogénosa*, *Staphylococcus aureus* restent sensibles même à des dilutions qui arrivent à 1700 µg/ml. Figures (B-23), (B-24)

Pour la période de début de floraison pendant laquelle la maturation est avancée, l'HE de PG frais et celle de PG séché demeure active pour une dilution de 3400µg/ml contre les souches *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogénosa* et *Staphylococcus aureus.* Figures (B-25), (B-26)

Il est nécessaire à partir des résultats obtenus d'accentuer l'effet de séchage de la plante sur le pouvoir antibactérien et antifongique de cette huile essentielle. En effet, le séchage du *Pélargonium graveolens* en période de début de floraison est favorable pour apporter une richesse en quantité d'agents responsables de l'activité inhibitrice des souches testées *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogénosa*, *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, candidas albicans* et le *rhizopus isolé*. Néanmoins le contenu de l'huile essentielle en agents capables d'altérer la croissance des trois souches *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*et*candidas albicans* peut être plus riche pour le *Pélargonium graveolens* fraichement récolté que celui de la plante sèche. Cela se traduit par :

- la souche fongique *candidas albicans* reste sensible à l'HE de PG frais diluée à 1700 µg/ml, tandis qu'il ne peut l'être que pour une dilution de 3400 µg/ml si la plante est séchée.
- La souche *Klebsiella pneumoniae*est sensible à l'HE diluée à 3400µg/ml extraite de PG séché mais très sensible à la même concentration si le PG est fraichement récoltée.

- Les deux huiles extraites de la plante sèche et celle fraiche peuvent être encore actives contre l'*Escherichia coli* même à une dilution de 1700µg/ml avec une meilleure activité octroyée par la plante fraiche.

On juge fortement utile d'entreprendre une identification comparative de la composition chimique de l'HE issue de la plante sèche et celle fraiche pour pouvoir confirmer la corrélation entre l'activité biologique et le taux d'humidité de la plante.

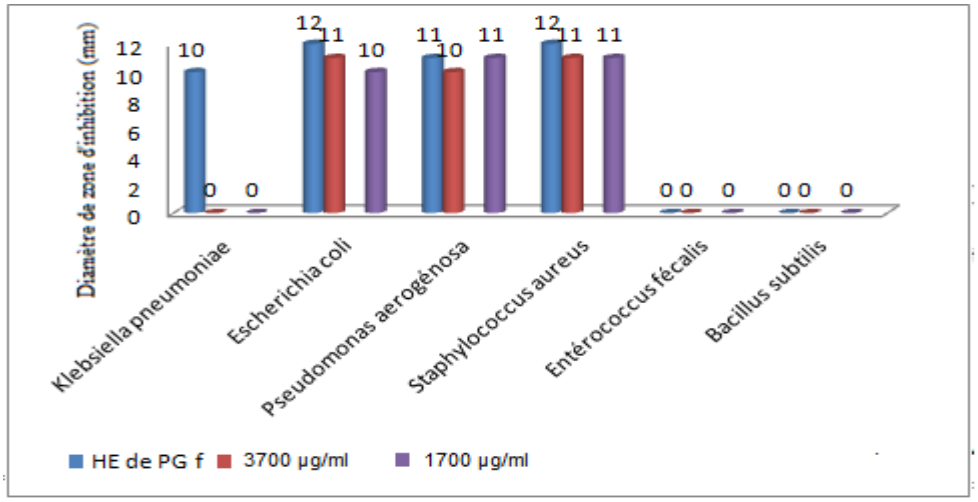


Figure B-23: Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne étudiées par HE de PG frais pour différentes concentration de HE (période de récoltes: avant floraison)

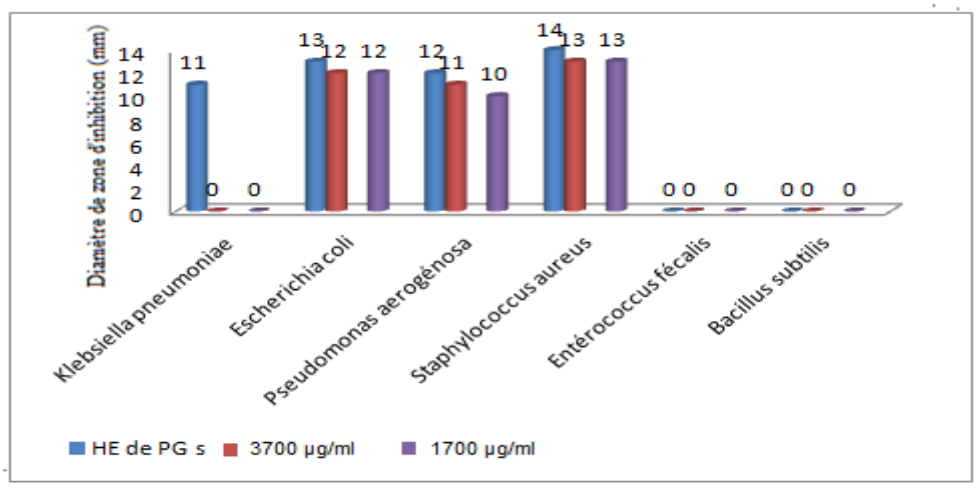


Figure B-24: Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne étudiées par HE de PG séché pour différentes concentration de HE (période de récoltes: avant floraison)

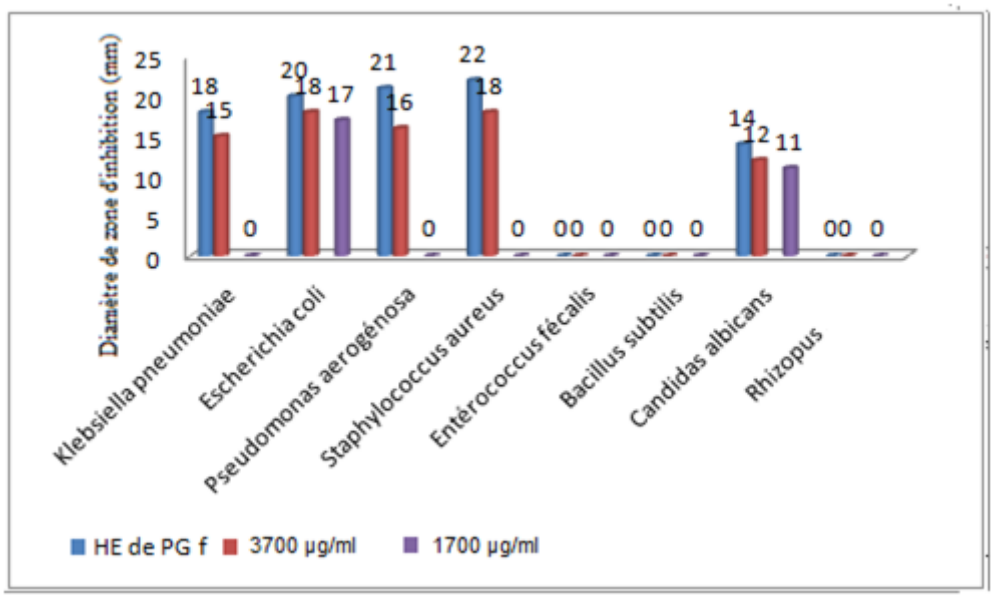


Figure B-25 : Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne et fongiques étudiées par HE de PG frais pour différentes concentration d'HE (période de récolte : début de floraison).

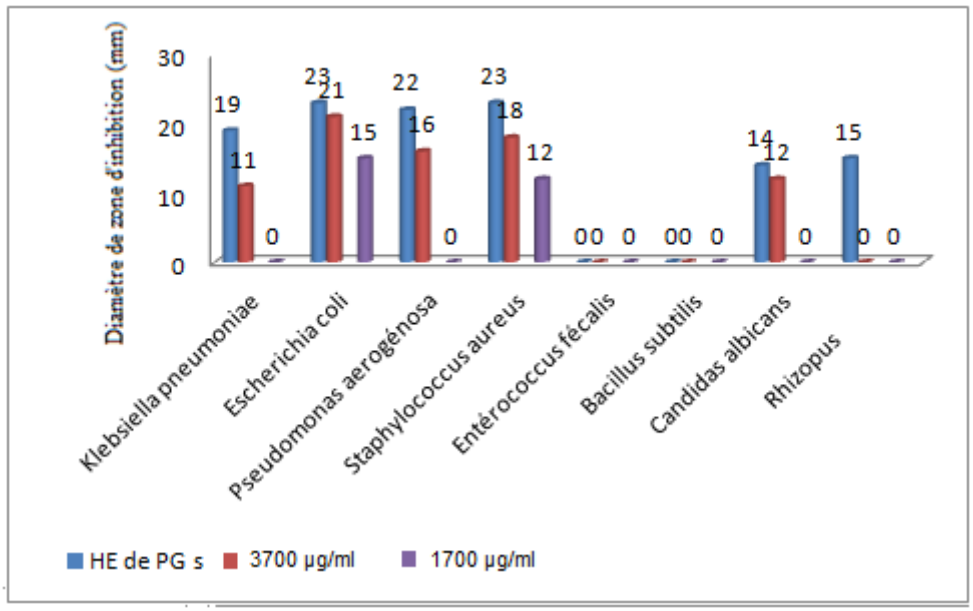


Figure B-26 : Comparaison du diamètre d'inhibition des souches bactérienne et fongiques étudiées par HE de PG séché pour différentes concentration d'HE (période de récolte : début de floraison).

B.2.5.4. Détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Les résultats sur le tableau (B-11) indiquent les valeurs des CMI des HE de PG séché extraites par la méthode HD classique et HD assisté par induction magnétique vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques testées.

Les analyses des résultats montrent que notre HE présente une activité antibactérienne remarquable figure (B-27). En effet, pour les 6 souches étudiées, la gamme des CMI varie de 8,5 µg/ml à 34 µg/ml qui vaut 10µl/ml à 40µl/ml pour les bactéries et supérieure à 34 µg/ml (40 µl/ml) pour les fongiques.

Tableau B-11 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'HE de PG sèche extraites par HD classique et HD par IM en milieu liquide

		Concentration minimale inhibitrice (CMI) µl/ml					
		Les souches bactériennes				**Souches fongiques**	
		Gram -			**Gram +**		
		Klebsiella pneumoniae	***Escherichia coli***	***Pseudomonas aerogénosa***	***Staphylococcus aureus***	***Candidas albicans***	***Rhizopus***
Période de récolte (début de floraison)	**HE de PG séché (HD C)**	**40**	**20**	**40**	**20**	**> 40**	**> 40**
	HE de PG séché (HD IM)	**20**	**10**	**20**	**10**	**> 40**	**> 40**

Selon les résultats présentés dans le tableau (B-9) et la figure (B-27), il est clair qu'aucune CMI n'a été observée vis-à-vis de *Candidas albicans* et *Rhizopus isolé* (CMI >40 µl/ml), ces fongiques possèdent un potentiel de résistance élevé contre l'action antifongique d'HE de PG sèche.

L'HE extraite par induction magnétique a montré une meilleure performance antimicrobienne par rapport au HE extraite par HD classique, avec des CMI de l'ordre de 10 µL/ml, et 20 µL/ml HD IM et HD C respectivement vis-à-vis *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, et des CMI de l'ordre de 20 µL/ml, et 40 µL/ml HD IM et HD C respectivement vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aerogénosa.*

Ce résultat concorde avec les travaux de Ouahbib b. et Saci F. **[126]** sur les agrumes qui ont prouvé que l'HE extraite par IM a une meilleur activité que celle de l'HE extraite par HD classique. Ce qui signifie que les activités antimicrobiennes et antifongiques d'une HE peuvent changer par le changement de la méthode d'extraction, On peut expliquer ces résultats par la différence de composition entre les deux HE. **[127]**

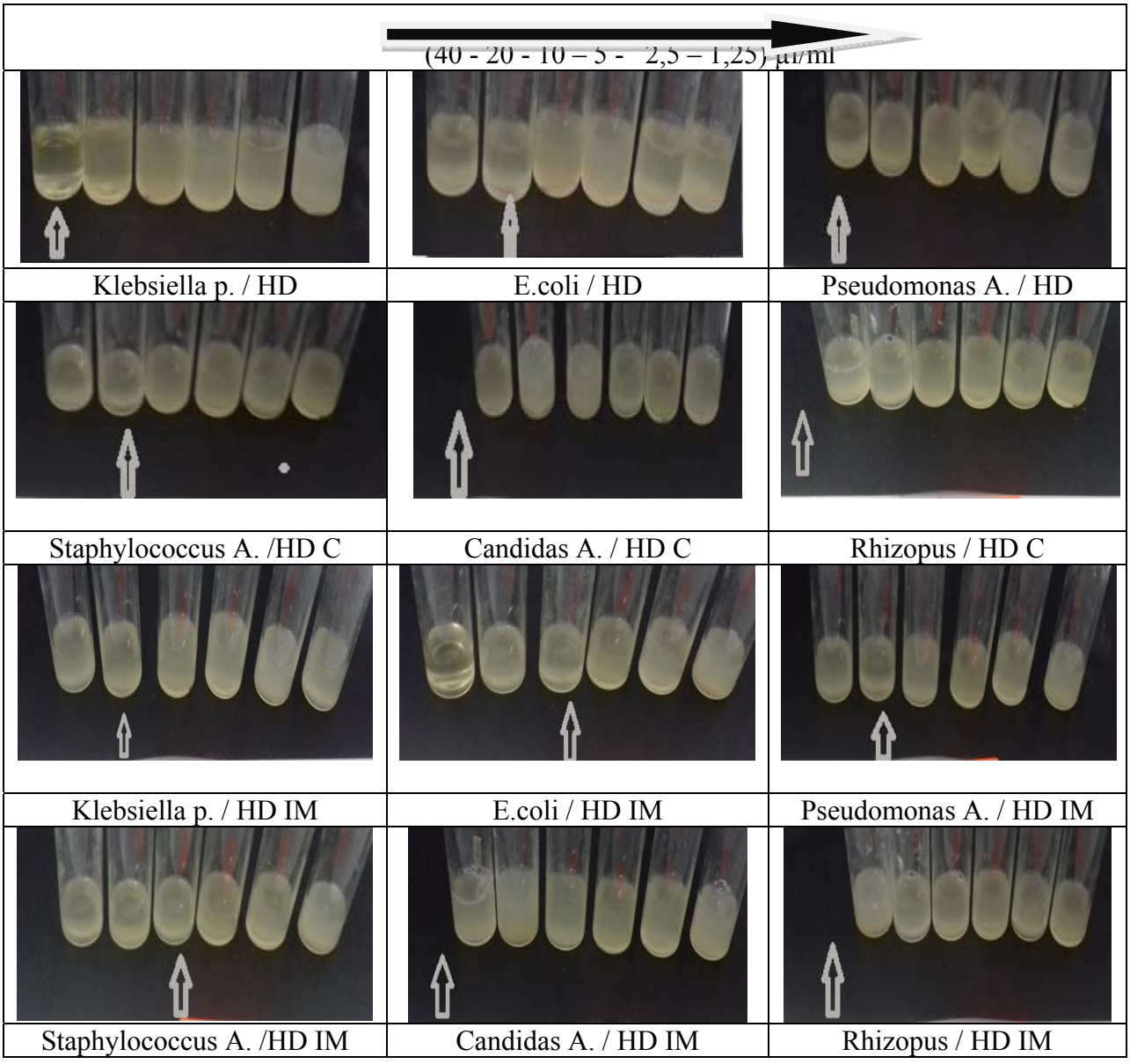


Figure B-27 : Evaluation des CMI des HEs de PG séché extraites par HD C et HD IM vis-à-vis différentes souches bactériennes et fongiques.

B.2.5.5 Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des différentes fractions d'HE :

Les fractions d'HE obtenues au cours des différents temps de l'hydrodistillation classique de *Pélargonium graveolens* séché ont été utilisées pour des tests d'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureusKlebsiella pneumoniae, Pseudomonas aerogénosa, Candidas albicans* et *Rhizopus.*
Pour quelques souches on a opté à la dilution des fractions d'HE vu leur faibles quantités. Les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique des différentes fractions d'huile essentielle sont rassemblés dans le tableau (B-12) selon les résultats de la figure (B.28).

Tableau B-12 : Evaluation de l'activité antimicrobienne et antifongique des fractions d'HE de PG sèche obtenues par HD classique.

		Diamètre de zone d'inhibition (mm)							
Les souches	**Temps (mn)**	**5**	**10**	**15**	**30**	**45**	**60**	**75**	**90**
Escherichia coli	PG sèche brute	-	-	-	-	15	18	12	-
		-	-	-	-	++	++	+	-
Staphylococcus aureus	PG sèche brute	-	-	-	11	15	18	-	-
		-	-	-	+	++	++	-	-
Klebsiella pneumoniae	3400 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-
	1700 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aerogénosa	3400 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-
	1700 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-
Candidas albicans	3400 µg/ml	-	-	-	-	11	13	12	-
		-	-	-	-	+	+	+	-
	1700 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhizopus	3400 µg/ml	-	-	-	-	-	-	13	-
		-	-	-	-	-	-	+	-
	1700 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-	-

(-) Pas de zone d'inhibition

Diamètre d'inhibition de l'éthanol est voisin de 9 mm.

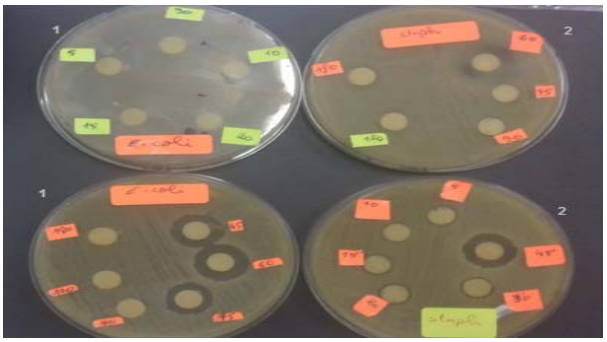
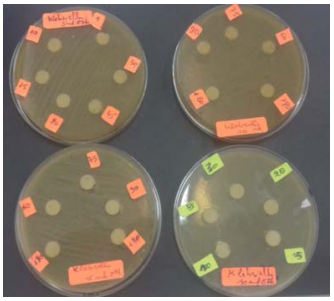
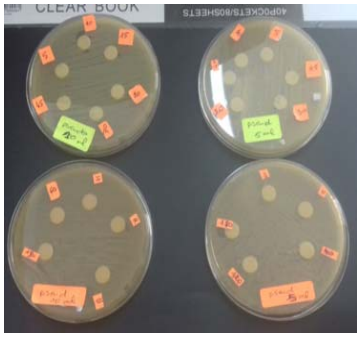
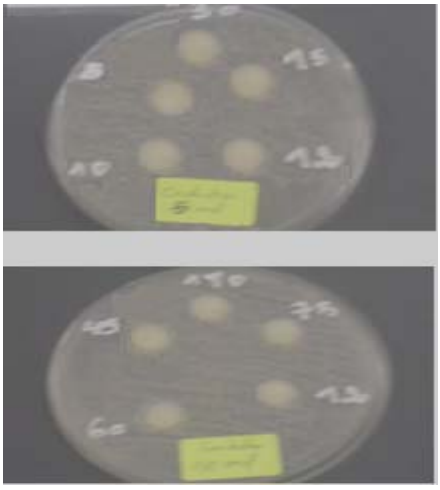
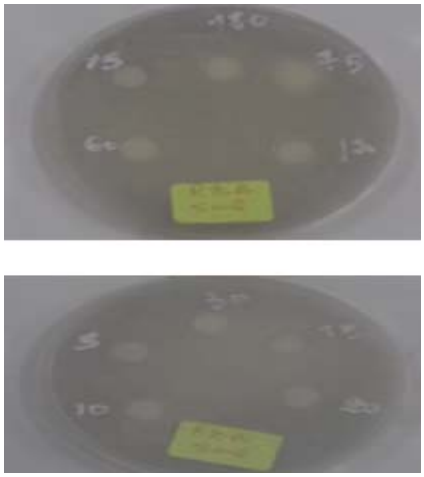
<table>
<tr><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td>Escherichia coli (HE de séché brute)</td><td>Staphylococcus aureus (HE de PG séché brute)</td></tr>
<tr><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Klebsiella pneumoniae</td><td>Pseudomonas aerogénosa</td></tr>
<tr><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Candidas albicans</td><td>Rhizopus</td></tr>
</table>

Figure B.28 : Effet d'HE sèche brute et dilué sur les différentes souches bactériennes

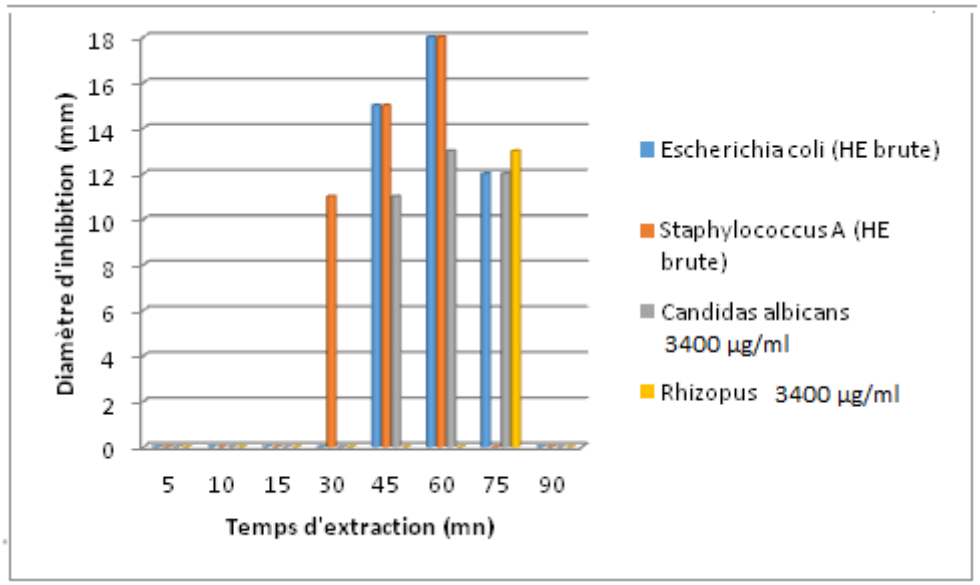


Figure B-29 : Histogramme des diamètres d'inhibition en fonction du temps d'hydrodistillation classique. (HE brute pour *E.coli* et *Staphylococcus.A.* HE dilué pour *Candidas albicans* et *Rhizopus*).

Les résultats présentés dans le tableau (B-12) et la figure (B-29) montrent que l'huile essentielle extraite par HD de PG séché a des activités antibactériennes et antifongiques variables avec le temps d'extraction.

Les fractions d'HE extraite dans l'intervalle du temps [45-75min] sont les seules qui peuvent inhiber la souche E.coli. Cet effet inhibiteur devient plus important à un temps d'extraction de 60 minutes. Ce qui laisse déduire que la libération croissante des composés responsables d'inhiber l'*E.coli* débute après 45 minutes puis s'affaiblit à 75 minutes.

Les résultats montrent que la souche *staphylococcus aureus* est sensible à l'huile essentielle de PG extraite dans le temps d'extraction allant de 30mn à 60mn avec des diamètres des zones d'inhibitions croissant dans cet intervalle de temps. Il est possible que les agents qui inhibent la croissance du *staphylococcus aureus*ne pourront être libérer qu'à partir de 30 mn d'hydrodistillation classique. Ce composant qui joue le rôle d'un agent antimicrobien est contenu à libéré jusqu'à 60 mn.

Les 02 souches bactériennes *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aerogénosa* sont résistantes à notre huile diluée à 3400 et 1700 µg/ml . Cela peut être dû à une faiblesse de quantité des inhibiteurs de ces deux souches dans les fractions choisies, ou bien l'absence de l'effet synergique des composés responsables de cette inhibition par le fait de séparer les

fractions. **[71]**, ont rapporté que la différence dans les activités antibactériennes des HE peut être liée à la concentration, à la nature et le contenu, aux groupements fonctionnels, à la configuration des composés et, leur interaction synergique possible.

La souche fongique *Candidas albicans*est sensible à la fraction d'HE diluée à 3400 µg/ml et extraite à partir de 45 minutes jusqu'à 70 minutes d'hydrodistillation. Alors que il n'est possible qu'à partir de 75 min d'extraction de libérer les agents responsable à l'inhibition de la souche *Rhizopus.*

On peut déduire qu'il est possible de garantir la bioactivité de l'huile essentielle du *Pélargonium graveolens* envers les souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus, Candidas albicans* et *Rhizopus,* seulement il faut dépasser les 75min d'hydrodistillation classique.

Plusieurs études ont montré qu'en raison de la complexité chimique des huiles essentielles une activité antimicrobienne et antifongique beaucoup plus prononcée que celle prévisible pour les composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) peut être due à la présence d'interactions synergiques entre les composants **[128, 129, 130, 131, 35, 132, 110]**. Ainsi, la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant. Il est cependant probable que les composants minoritaires agissent de manière synergique **[133].**

Les activités antibactériennes et antifongiques de l'huile de PG peuvent être attribuées principalement aux alcools terpéniques (citronellol, géraniol, linalol) qui représentent en général environ 50 % des constituants de l'HE de PG. En effet, les terpènes oxygénés sont des agents antimicrobiens très actifs **[130, 134, 135, 136, 137, 138].**

B.5.5.6 L'activité antioxydante :

Les valeurs du pourcentage d'inhibition des radicaux libres par l'HE de PG, aux différentes concentrations testées, sont représentées dans le tableau (B-13).

Tableau B-13 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par différentes concentrations d'HE de *Pélargonium graveolens*

Concentration de l'HE (mg/ml)	Inhibition (%)
0,0068	52,71
0,0059	48,71
0,0051	45,18
0,0042	41,50
0,0034	37,74
0,0025	36,07
0,0017	28,54
0,0008	22,24

Les résultats des mesures des pourcentages d'inhibition du radical DPPH (DO) obtenus lors du test antioxydant par la méthode de DPPH et de l'HE ont permis de tracer le courbe de la figure (B-31) d'acide gallique qui représente la variation du pourcentage d'inhibition du radical DDPH en fonction de la concentration de l'huile essentielle testée.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radicale libre augmente avec l'augmentation de la concentration pour le cas d'acide gallique figure (B-31) ou pour le cas de l'huile essentielle de PG figure (B-30).

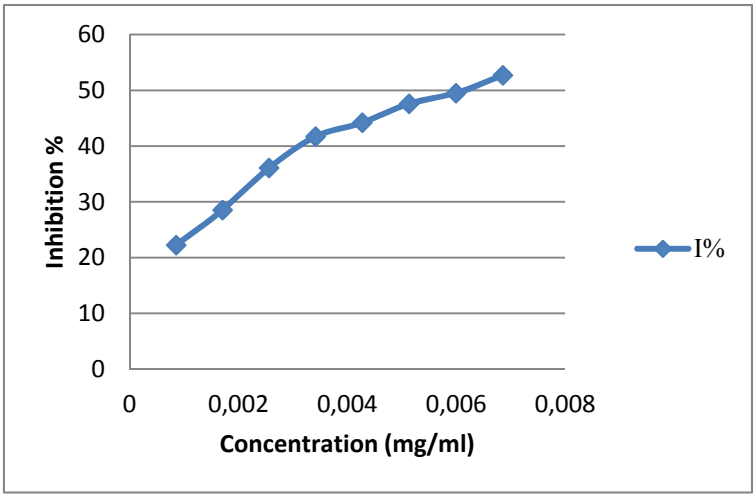


Figure B-30 : Pouvoir antioxydant de l'huile essentielle PG

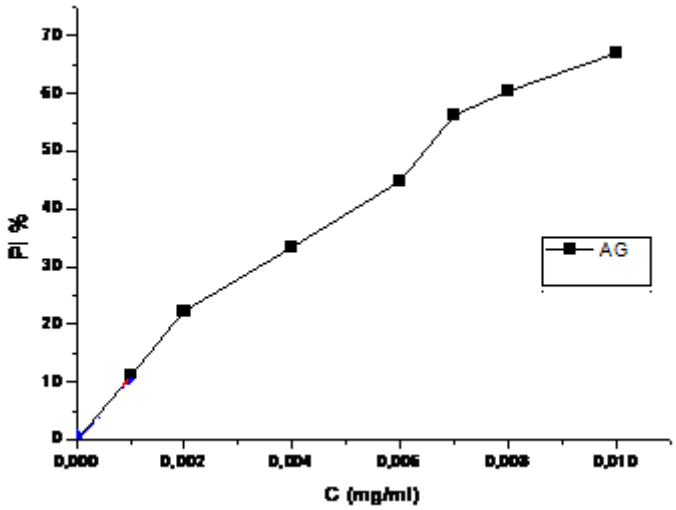


Figure B-31 : Pouvoir antioxydant de l'acide gallique

Les valeurs de l'activité antioxydant (IC_{50}) de l'acide gallique et de l'HE sont résumées dans le tableau (B-14).

Tableau B-14 : Paramètres de calcul de l'activité antioxydant IC_{50} mg/ml

Témoin positif et échantillon	**IC_{50} (µg /ml)**
Acide gallique	6,5
Notre HE de PG	6,4

Lalli et al. **[139]**, en étudiant l'effet antioxydant de l'huile de *Pelargonium asperum* d'Afrique du Sud, ont trouvé une valeur d'IC_{50} de 14,49 µg/ml. Le pouvoir anti-radicalaire de l'huile essentielle des Comores a donné une valeur de l'IC_{50} de 6,675 µg/ml Said Omar S**. [110]** concorde avec IC_{50} de notre HE. La valeur d'IC_{50} trouvée par Sayed & Fayed **[140]** pour l'huile essentielle de cette même espèce en provenance d'Égypte était de 66,5 µg/ml, ce qui montre que son pouvoir antioxydant est beaucoup plus faible par rapport à celui de notre huile. Donc, notre huile a révélée beaucoup plus antioxydante que celles de l'Égypte et l'Afrique du Sud.

Les études de Somova et al. **[141]**, Li & Liu **[142],** Seyed & Fayed **[140]** et Zhuang et al. **[143]** ont montré que l'activité anti-radicalaire des huiles essentielles du géranium est liée surtout aux composés terpéniques tels que le citronellol et le géraniol.

Conclusion générale

L'objectif principal de notre étude consistait en une valorisation d'espèce de biomasse végétale Algériennes cultivée dans la région de Médéa *le pélargonium graveolens ;* en effet sous cet aspect la réalisation de ce travail résidait en plusieurs intérêts :

- Une étude comparative portant tant sur le rendement des extraits obtenus par deux techniques extractives conventionnelles HD assisté par le chauffage classique et innovantes HD assisté par induction électromagnétique .
- Une étude de la cinétique de l'extraction des huiles essentielles du *Pélargonium graveolens.*
- Dévoiler pour les huiles essentielles extraites les caractéristiques physico-chimiques, le potentiel antioxydant, antibactérien et antifongique.
- Suivi de la variation de l'activité antibactérienne, antifongique des fractions des huiles essentielles obtenues au cours du temps d'hydrodistillation assistée par le chauffage classique.

De notre recherche bibliographique on soulève l'importance d'espèce choisie dans cette étude sur le plan médicinale de par leurs propriétés antimicrobienne, antifongique, antioxydante, etc. Cette partie nous a permis également de discerner la variabilité de la qualité chimique d'huile essentielle issue de cette plante avec les conditions climatiques et environnementales, le mode d'extraction.

Après avoir évalué les résultats de nos expériences, nous avons abouti aux conclusions suivantes :

- La partie aérienne du *Pélargonium graveolens* de la région de Médéa d'une nature du climat et d'altitude favorable pouvant engendrer une richesse en huiles essentielles.
- L'étude comparative sur l'aspect quantitatif a prouvé que l'hydrodistillation assistée par induction électromagnétique est nettement plus performante que l'HD classique car il est possible d'augmenter le rendement en HE pour le PG frais et séché jusqu'à 0,41 % et

0,64 %, respectivement contre 0,117 % et 0,35 % par HD classique. Cette différence est certainement liée au mode de chauffage, surtout que le chauffage par induction permet l'homogénéité et la rapidité de chauffage, grâce à son principe de produire la chaleur au sein même du matériau de chauffage. Ceci favorise la libération des huiles essentielles.

- Il apparait également que le séchage a manifesté son effet sur le rendement en HE. Ce qui se traduit par une faible masse huileuse extraite à partir de PG frais par rapport à celle extraite à partir de la plante sèche
- Le séchage améliore mieux la quantité d'huile essentielle extraite par l'hdrodistillation classique. Cette amélioration est 2 fois plus supérieure que celle manifestée dans le cas où le chauffage par induction magnétique est utilisé.
- L'étude cinétique a prouvé que l'HD assistée par induction magnétique a montré des meilleurs résultats en terme de réduction de temps d'extraction de la substance huileuse des parties aériennes du PG.
- Les propriétés physico-chimiques de nos HE sont en accord avec ceux mentionnés par les normes AFNOR.
- l'activité antibactérienne est plus importante pour l'huile extraite de la plante sèche en début de floraison. La maturité de la plante ainsi que la richesse en terme de quantité et en qualité de l'huile en certains agents bioactifs favorise l'inhibition de certaines bactéries.
- Notre HE a un effet inhibiteur important sur *l'Escherichia coli, staphylococcus aureus*, *Pseudomanas aergenosa,* et *kleibsela pneumoniae.* Les souches bactériennes *Entérococcus fécalis* et *Bacillus subtilis* ont montré une sensibilité pour l'huile essentielle de PG. Par contre cette huile essentielle a un faible effet inhibiteur contre les souches fongiques (*candidas albicans* et *Rhizopus isolé).*
- L'HE extraite par induction magnétique a montré une meilleure performance antimicrobienne par rapport aux HEs extraites par HD classique, avec des CMI de l'ordre de 10 µL/ml, et 20 µL/ml pour l'HD assistée par induction magnétique et HD classique respectivement vis-à-vis *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, et des CMI de l'ordre de 20 µL/ml, et 40 µL/ml l'HD assistée par induction magnétique et HD classique respectivement vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aerogénosa.*
- Notre HE à des concentrations inférieur à 40 µL/ml ne présente aucun effet inhibiteur pour *Candidas albicans* et *Rhizopus.*
- La bioactivité de l'HE de PG sèche de la région de Médéa envers l'ensemble des souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus, Candidas albicans* et *Rhizopus* est garantie si le

temps d'extraction dépasse les 75 min d'hydrodistillation classique. Cela mène à conclure aussi que la composition chimique des fractions d'HE est différente et variable avec le temps d'extraction.

- Cette HE est dotée d'un grand pouvoir antioxydant 0,0065 mg/ml vis-à-vis des radicaux libres en comparaison à d'autres HEs issues de PG d'autres provenances. Notre HE peut agir à très faible dose pour altérer le développement des radicaux libres.
- L'huile essentielle de PG peut constituer une source importante d'antioxydants naturels. Cette huile constitue donc un très bon agent conservateur dans le domaine de l'agroalimentaire, de la pharmacologie, de la cosmétique et de la parfumerie. Avec ses propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydantes, elle pourrait avoir des applications industrielles importantes.
- Les résultats de cette étude peuvent contribuer à la valorisation de *Pelargonium gravelons* et promouvoir la diversification des huiles essentielles afin d'apporter une valeur ajoutée aux plantes aromatiques et médicinales.
- Au terme de ce travail sur l'huile de PG de la région de Médéa, nous avons contribué à apporter des arguments scientifiques quant à l'utilisation de cette plante dans le domaine pharmaceutique, agroalimentaire et d'autres.

Ce travail pourrait être poursuivi sur un certain nombre de pistes d'investigations qui méritent d'être étudiées :

- Etendre le nombre d'espèces étudiées par famille de plantes pour pouvoir généraliser nos constatations.
- Corréler la cinétique d'extraction avec la composition chimique et l'activité biologiques.
- La valorisation des extraits obtenus par des tests sur d'autres activités pharmacologiques en vue de passer à l'utilisation pratique de ces extraits.
- Optimisation des conditions opératoires de l'extraction des huiles essentielles du *pélargonium graveolens* par l'hydrodistillation utilisant le chauffage par induction électromagnétique.

Références

[01] Anthoula ,. A., 2003. Plantes Aromatiques & Médicinales; Ministère De L'agriculture; Direction des Etudes et de La Coordination.

[02] El kalamouni C., 2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits aromatiques oubliées de Midi- Pyrénées ; thèse de doctorat ; université de Toulouse.

[03] Brunetton J., 1999. Pharmacongosie, phytochimie, plantes médicinales. Editiond Tec & Doc, édition médicales internationales, pp : 483-560.

[04] Ouissam N., 2014.Composition chimique et effet antimicrobien de huile essentielle de Pelargonuim graveolens (Géranium rosat) , mémoire de Master Sciences et Techniques, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah , Maroc.

[05] Dorman H.J.D., S.G. Deans, R.C. Noble & P. Surai., 1995. - Evaluation in vitro of plant essential oils as natural antioxidants. J. Essent. Oil Res., 7, 645-651.

[06] Caillets.et Lacroix M., 2007. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire ; Ed.Laboratoire de recherche en sciences Appliquées à l'alimentation (RESALA) de l'INRS-Institut ArmandFrappier, Univ. Laval (Quebec).

[07] Moro Buronzo A., 2008.Grand guide des huiles essentielles (Ed) Hachette pratique, p 191.

[08] Bardeau F., 2009 .les huiles essentielles. EdLanore. Paris.

[09] Antoine Cariot., 1865. Étude des fleurs: botanique élémentaire, descriptive et usuelle, Girard-Josserand.

[10] Dermane FE., 1985. Le géranium rosat ».Parfums, Cosmétiques et arômes n° 62.

[11] Maria Lis-Balchin., 2002. « (chap. 14) Essential oils from different *Pelargonium species* and cultivars: their chemical composition (using GC, GC/MS) and appearane of trichomes (under EM) », dans Maria Lis-Balchin (ed.), *Geranium and Pelargonium, the genera Geranium and Pelargonium*, CRC Press.

[12] Ebrahim L., 2002. « *Pelargonium graveolens L'Hér.* » [Archive], *PlantZAfrica.com*, South African National Biodiversity Institute, November.

[13] Geoffe B., Forrester S., 2005. Botanica, et d'horticulture. 1 ère édition. Italie: Place des victoires.

[14] Roger L., 2011. Les plantes médicinales réunionnaises d'aujourd'hui, Editions ORPHIE.

[15] Diana M. Miller., 2002. « The taxonomy of *Pelargonium* species and cultivars, their origins and growth in the wild », dans Maria Lis-Balchin (ed.), *GERANIUM AND PELARGONIUM, the genera Geranium and Pelargonium*, CRC Press.

[16] Fernandez X, Chemat F, Thi KTD. 2012. Les huiles essentielles: vertus et applications. Vuibert, Paris

[17] Boukef MK., 1986. Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. ACCT, Paris

[18] Harvey, W. H., S Sonder, O., (Eds.): Flora Capensis**1**, pp. 259–308. Dublin: Hodges & Smith.

[19] Demarne J. J.A. Van der Walt., 1988. « Pelargonium graveolens and P. radens : a comparison of their morphology and essential oils », *South African Journal of Botany*, vol. 54.

[20] K. Ghedira · P., 2015. Goetz Géranium rosat : Pelargonium graveolens L'Hér. (Géraniaceae) Phytothérapie 13:197-201, DOI 10.1007/s10298-015-0955-x, Lavoisier SAS 2015.

[21] Weiss E.A., 1997.- Essential oil crops. Centre for Agriculture and Biosciences (CAB) International, New York and UK, 24-50.

[22] Frédéric-Emmanuel Demarne. 2002. « 'Rose-scented geranium' a *Pelargonium* grown for perfume industry », dans Maria Lis-Balchin (ed.), *GERANIUM AND PELARGONIUM, the genera* Geranium *and* Pelargonium, CRC Press.

[23] Seidemann J., 2005. World spice plantes : economic, usage, botany, taxonomy), Springer, London, pp : 275-277.

[24] Ravindra NS RN Kulkarni., 2015.Essential oil yield and quality in rose-scented geranium: Variation among clones and plant parts. Scientia Horticulturae 184: 31–5

[25] Juliani Hr, Koroche A, Simon Je, et al., 2006. Quality of Geranium oils (pelargonium Species): Case Studies in Southern and Estern Africa. J Essent Oil Res 18: 116 – 21

[26]François Berthier., 2008.LE GERANIUM BOURBON, Plante à parfum de l'île de La Réu nion, Azalées Editions.

[27]BedierJean François., 2012.«Le géranium bourbon et ses applications en aro mathérapie »

[28] Riviere C.,1889.Algérie:horticulture générale, végétation, cultures spéciales, acclimatation.Paris: Hachette, p.67.

[29] Lemaire C., 1842.Chauviérea. Traité de la culture des Géraniums, des calcéolaires, desverveines et descinéraires.Paris: Cousin, p.36.

[30] Atailia I., Djahoud A., 2015. Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *géranium rosat* (pelargonium *graveolens L'he*r.) cultivé en algérie .Lavoisier SAS. Article in Phytotherapie.

[31] Lis-balchin M., 2005.Aromatherapy science: A guide for healthcare professionals pharmaceutical Press, London , pp: 195-201.

[32] Sperenza A., calzoni GL., 2005. Atlas de la structure des plantes : Guide de l'anatomie microscopique des plantes vasculaires en 285 photos. Edition Belin, Paris (France), pp : 57-62.

[33] Lalli Jy., 2005. « In vitro pharmacological properties and composition of leaf essential oils and extracts of selected indigenous Pelargonium (Geraniaceae) species ». Thesis master of pharmacy, Faculty of Health Sciences, University of the Witwatersrand, Johannesburg (South Africa).

[34] Boukhatem M, Said Hamaidi M, Saidi F, Yahia H.,2010 « Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (Pelargonium graveolens L.) Cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). »*, Nature et Technologie*, n° 3.

[35] Burt S., 2004.Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in Foods.A review intern:J.Food.Microbiol. 94: 223-253.

[36] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008. Biological effects of essential oils.Rev: Food.Chem.Toxicol.46: 446–475.

[37] Van de Braak S, Leijten G.,1999: Essential oils and Oleoresins : Asurvey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union .CBI, Center for the promotion of imports fromdeveloping countries, Rotterdam :116.

[38] Bernard T. et Col.,1988.Extraction des huiles essentielles : chimie et technologie information chimie, N°298.

[39] Desmares C., Laurent A. and Delerme C., 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Cedex : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, pp.12.

[40] Garnero J.,1996.Huiles essentielles .Techniques de l'ingénieur .K 345 ,1-45 .

[41] Hurtel JM., 2006. Huiles essentielles et Médecine. Aromathérapie et santé. Consulter le02/09/2014sur:www.phytomania.com.

[42] Pourmortazavi SM., Hajimirsadeghi SS., 2007. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis.J. Chromatogr. A. 1163: 2-24.

[43] Robert S., 1994.Notes de cours .chimie organique 1, département –biologie , université de Québec.

[44] Seguin .E., Axel. G., Michel .p et Orecchioni .A,2001, le préparateur en pharmacie dossier 2, p : 108 ,143-206 .

[45] Bruneton J., 1993.Pharmacognosie: phytochimie , plantes médicinales. Paris:Tec. et Doc.Lavoisier, 1993, p.623.

[46] Marouf A., Tremblin G., 2009. Abrégé de biochimie appliquée. Paris : Collection Grenoble sciences, 2009, p.136-137.

[47] Mann J., 1987. Secondary metabolism. Clarendon Press, Oxford, p 374 .

[48] Fernandez et Cabrol-Bass., 2007. Analyse des arômes, Techniques-Ingénieur, Vol.10; pp. 32-33.

[49] Peyron L., 1992 : Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques. Chapitre 10, pp 217 – 238. Cité In : Les arômes alimentaires. Coordinateurs Richard H. et Multon J.-L. Ed. Tec & Doc-Lavoisier et Apria. 438 p.

[50] Hemandez Ocboa,L .,R.2005.Substitution de solvants et matiéres actives synthése par une combine solvant /actif d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytecnique de Toulose

[51] Meyer -wannd B,.1984,Natural essential oils.Extraction processes and application to some major oils perfumer.

[52] Kapetanovic .S, Djugumovic .S ., et Ramic R;(1984).Isolement de l'huile essentielles de rose par distillation séche .Perums ,cosmétique .

[53] Lemberg.S,.1982.Perfumer and flavorist ;7:58-63.

[54] Martini .M.C et Seiller .M.1999.Actifs et additifs en cosmétologie ,2éme éditions, TEC et DOC.Lavoisier, Paris.

[56] Basil. A, Jiimenez –Carmona .M.M et Clifford .A.A.,1998.Extraction of Rosemay super heated water .Journal of food chemistry ,vol.46,n°12,p:5205-5209.

[57] Vernin. G., 1982.Aromes alimentaires et développements récents .Ed.apria .

[58] Hesse et Zeitscel .J .Prakt Chemie ; 1901 et 1902, cité par guenther ;(1) vol 1, page 198, édition 1972.

[59] Chemat. F,Tomao. Vet Virot .M.2005.Ultrasound –assisted extraction in food (pp.85-103).Boca Raton,Florida ,USA : CRC press.

[60] Cheffer.J.J. ., 1996.Various methods for the isolation of essential oils .Phytother.Res, 10:S6-S7.

[61] Wichtel.M.et Anton.R., 1999.Plantes thérapeutiques : tradition ,pratiques officinales ,science et thérapeutiques .Ed.Tec et Doc.

[62] Rivera.L.L ., 2006.Etude de l'extraction de métabolites secondaire de différente matière végétales, these doctorat, Institut national polyphonique de toulouse,spécialité : sciences des Agro ressources.

[63] Bensouna A. Boubaa S. 2016, Cinétique d'extraction des huiles essentielles à partir de quelques plantes aromatique. Mémoire de master en génie des procédés pharmaceutique. Université de MEDEA. ALGERIE.

[64] Page web,''http://www.map Google .com ‘’

[65] Simpson W.T., 1999 Drying and cotrol of moisture content and dimensional changes, Gen. Tech. Rep. FPL-GTR-113. Madison, Forest products laboratory. 463 p.

[67] Rudnev V, 2003.‘’Handbook of induction heating’’, Ed CRS.

[68] Afnor. 2000« Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2.Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris, 661-663.

[69] Ganapaty S, Beknal AK., 2004. Chemical composition and antiinflammatory activity of Pelargonium graveolens oil (geranium). J Nat Prod 20(4): 18–20.

[70] Belaiche P., 1979, l’aromatogramme. Traité de phytothérapie et d’aromathérapie. M. S. A. Edition Pris, Tome 1. 204.

[71] Fauchère J.L et Avril J.L.2002. Bactériologie générale et médicale: Ellipses Editions Paris, 365.

[72] Moreira, M.R., Ponce, A.G., Del Valle, C.E., Roura, S.I., 2005 Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT. 38: 565-570.

[73] Oussalah M., Caillet S., Saucier L. et Lacroix M., 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: E. coli O157:H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food Control. 18 (5), 414-420.

[74] Guinoiseau E., 2011, Mol-ecules antibact-eriennes issus d’huiles essentielles : séparation, identification et mode d’action, page 66 .

[75] Youcef Ettoumi K., 2011. Extraction des pectines en utilisant le procédé de chauffage par induction électromagnétique. mémoire de magister, université de MEDEA. ALGERIE;

[76] Richard F., 1992. Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec. & Doc., p : 1228-1242.

[77] Multon J. L., 2002. Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés : Céréales, oléagineux, aliments pour animaux. Lavoisier Technique & Documentation, Paris Apria. Volume 1, 576 p.

[78] Madhavi D. L., Deshpande S. S. & Salunkhe D. K., 1996. Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. P: 65.

[79] C hen C.N., M.S. Weng., C.L. Wu & J.K. Lin, 2004.- Comparison of radical scavenging activity, cytotoxic effects and apoptosis induction in human melanoma cells by Tawanese propolis from different sources. et CAM., 1 (2), 175-185.

[80] Leitão G.G., S.G. Leitão & W. Vilegag, 2002.- Quick preparative separation of natural naphthopyronanes with antioxidant activity by high-speed counter-concurent chromatography. Z. Naturforsch., 57, 1051-1055.

[81] Wootton-Beard P., MoranA., Ryan., L.2011. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. Food Research International, 44, p.217–224.

[82] Osman. 2011. Multiple pathways of the reaction of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH•) with (+)-catechin: Evidence for the formation of a covalent adduct between DPPH •and the oxidized form of the polyphenol. Biochemical and Biophysical Research Communications, 412, p.473–478.

[83] Popovici C., Saykova I., Tylkowski., B. 2009.Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel, 4, p.25-39.

[84] WU H. 2007.Isolation and characterization of natural products from ginger and Allium Ursinum.Thèse de doctorate: Université de New Jersey, p.28.

[85] Dvaranauskaite A., Venskutonis P. R., Raynaud C., Talou T., Viskelisp., 2008, Dambrauskienee AMBR.,: Characterization of steam volatiles in the essential oil of black currant buds and the antioxidant properties of different bud extracts.J. Agric. Food Chem., 56, p.3279-3286.

[86] Demarne. FE.1989. « Le géranium rosat ». Parfums, Cosmétiques et Arômes, n°62.

Shwal AS, Kumar T, Chishti N, Shabir S. 2006.« Cultivation of rose-scented geranium (Pelargonium sp) as a cash crop in Kashmir valley ». Asian Journal of Plant Sciences 5(4): 673-675.

[87] Mosta N M. 2006. « Essential oil yield and composition of rosescented geranium (Pelargonium sp) as influenced by harvesting frequency and plant shoot age ». Thesis of doctorat MSC Agronomy, faculty of natural and agricultural sciences, university of Pretoria, South Africa,

[88] Boutarfaia A. et Benyahia I. 2015, Contribution à l'extraction et l'activité de l'huile essentielle du Pélargonium graveolens ''L'Hér'' de la région d'Ouargla, mémoire de Master Académique, Université Kasdi Merbah-Ouargla, algerie.

[89] Rajeswara R. 2006.« Biomass yield, essential oil yield and essential oil composition of rose-scented geranium (Pelargonium species) as influenced by row spacings and intercropping with cornmint (Mentha arvensis L.f. piperascens Malinv. ex Holmes) ». Industrial Crops and Products 16 .133–144.

[90] Ram M, RamM D, Roy SK. 2003.« Influence of an organic mulching on fertilizer nitrogen use efficiency and herb and essential oil yields in geranium (Pelargonium graveolens) ». Bioresource Technology 87.273–278.

[91] Rodolfo J, Koroch A, Simon J, Hitimana N.2006. « Quality of geranium oils: case studies in southern and eastern Africa ». Journal of essential oil research (JEOR).

[92] Gomes PB, Mata VG, Rodrigues AE. 2004. « Characterization of Portuguese grown geranium oil (Pelargonium sp.) ». J. Essent. Oil Res. 16.490–495.

[93] Azoug M. 1997. « Analyse par CG-SM des géraniums poussant en Algérie ». Mémoire de magister en Chimie, USTHB, Alger, p : 10-30.

[94] Colic M. ,Morse D.,1999, The elusive mechanism of the magnetic, Memory of water, Colloids Surf., A., Physicochem. Eng. Asp. 154 (1 – 2), 167 – 174.

[95] Bencheikh .SE, Goudjil.M, Zighmi.S et Ladjel.S, 2017 Effet du séchage sur le rendement des huiles essentielles de la plante Teucrium polium ssp. aurasianum Labiatae, Thèse de doctorat,

[96] Zrira, S.S. and B.B. Benjilali, 1992. The Essential Oil of the Leaves and the Fruits of E. camaldulensis. Journal of Essential Oil Research, 36, 443-444.

[97] Zrira, S.S. and B.B. Benjilali, 1991The Essential Oil of the Leaves and the Fruits of E. camaldulensis. Journal of Essential Oil Research.

[98] Eddaouri, M., 1992. La culture de verveine au Maroc : Effets des techniques culturales, du milieu et des procédés technologiques sur les rendements en aromates (feuilles séchées) et en huile essentielle ; Considérations économiques, Mémoire de 3° cycle agronomique option : Industries Agricoles et Alimentaires ; I. A. V. Hassan II , Rabat, Maroc.

[99] Edwardien, M., A. Belanger, and B. Benjilal, 1993.Les huiles essentielles de la verveine odorante (Lipia citriodora L.) du Maroc : effet de séchage sur le rendement en HE et sa composition chimique. Communication aux 12èmes journées mondiales HE. Dignes-Les Bains.

[100] Elamrani A., et al.1997. Effet du séchage sur le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle de romarin du Maroc (Rosmarinus officinalis L.). In Actes du colloque « Plantes aromatiques et médicinales et leurs huiles essentielles ».

[101] Amrani, A.E., 1999. Effets de la période de récolte, du niveau de coupe et de la région sur le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle, Doctorat en chimie organique, Université Hassan II ; Faculté des sciences Ben M'sik ; Casablanca Maroc .

[102] Megateli.S, 2010, Extraction de l'huile essentielle de Ruta Chalepensis par le procédé de chauffage par induction magnétique, mémoire de master, université yahia faress, Médea.

[103] Lagunez Rivera, L. 2006, Etude de l'extraction de metabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, institut national polytechnique de Toulouse .

[104] Downes H.R. 1955.Progress in essential oils .The chemistry of living cells,Longmans.

[105] Marshall T.J., Holmes J.W. 1979. Plants and soil water in soils physics.Cambridge University press, pp. 283-303. London.

[106] Kanko C, Sawaliho BE, Kone S, Koukoua G, N'guessan YT.2004. « Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de Lippia multiflora, Cymbopogon citratus, Cymbopogon nardus, Cymbopogon giganteus ». Comptes rendus Chimie 7-1039–1042.

[107] Kalemba, D.; Kunicka, A. 2003.Curr. Med. Chem, 10: 813-829.

[108] Ben Hsouna A. et Hamdi N.,, 2012, Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *pelargonium graveolens* growing in Tunisia,

[109] Ghannadi A, Bagherinejad MR, Abedi D., Jalali M. , Absalan B., Sadeghi N., 2012. Antibacterial activity and composition of essential oils from Pelargonium graveolens L'Her and Vitex agnus-castus L. iranian microbiology journal Volume 4 Number 4 - 171-176.

[110] Said O, Hassane S , Badr Satrani , Ghanmi M, Mansouri N, Hayria Mo ,Chaouch A,2011 Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle de Plectranthus aromaticus Roxb. de l'Ile de la Grande Comore, Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 15(2), 251-258 .

[111] Kalebra J, Mugiraneza J, Chalchat JC, Ugirinshuti V, 2013. Journal of Microbiology Research , 3(2): 87-91 DOI: 10.5923/ j. microbiology. 20130302.05. Chemical Composition and Antimicrobial Effect of the Essential Oil of Pelargonium graveolens (Geranium Rosat) Grown in Butare (Rwanda) Towards Formulation of Plant-based Antibiotics.

[112] Kalebra J, Mugiraneza J, 2012Chalchat Jean Claude, Ugirinshuti Viateur,. Journal of Microbiology Research ,. Chemical Composition and Antimicrobial Effect of the Essential Oil of Pelargonium graveolens (Geranium Rosat) Grown in Butare (Rwanda) Towards Formulation of Plant-based Antibiotics.

[113] Silva NCC, Fernandes AJ. 2010.Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases, ; 16: 402-413.

[114] Tantaoui Elarki A.,Errf A.Benjilali B et latTaoui N ,1992 .Antimicribial activity of four chemically différent essentials oils ,Rivista Italina EPPOS ,Marco ;N°6 :13-22.

[115] Ghalestori R,. Rokni N., Rafieian-KopaeiI M., Drees. F., and Salehi E., 2015. Antioxidant and Antibacterial Activity of Basil (Ocimum basilicum L.) Essential Oil in Beef Burger; J. Agr. Sci. Tech. Vol. 17: 817-826.

[116] Inouyes., Takazawa T. et YamaguchiH., 2001. Antimicrobial activity of the essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact; Journal of Antibacterial Chemotherapy; 47: 565-573.

[117] Lopez P, Sanchez C., Batlle R., Nerin C., 2005. Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains; J. Agric. Food Chem; 53: 6939- 6946.

[118] Bozin B., Mimica-Dukic N., Simin N., Anackov G., 2006. Characterization of the volatile composition of essential oil of some Lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils; J. Agric. Food Chem; 54: 1822-1828.

[119] Bouzouita N., et AL.,2008.Composition chimique et activités antioxydants, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de Juniperus phœnicea; Journal de la Société Chimique de Tunisie, 10, 119-125.

[120] Usman L.A., IsmaeelS R.O., Zubair M.F., Saliu B.K., Olawore N.O., ELELU N., 2013. Comparative studies of constituents and antibacterial activities of leaf and fruit essential oils of Ocimium basilicum grown in north central Nigeria; International Journal of Chemical and Biochemical Sciences. 3: 47-52.

[121] Adeola S.A., Folorunso O.S. et Amisu K.O., 2012. Antimicrobial Activity of Ocimum basilicum and its Inhibition on the Characterized and Partially Purified Extracellular Protease of Salmonella typhimurium; Research Journal of Biology. 02(05): 138-144

[122] Silou, T., F. Taty-Loumbou et J.-C. Chalchat.2002. Etude de l'effet du séchage solaire sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuille d'Eucalyptus citriodora. Ann. Fals. Exp.Chim., n° 960. 287-301.

[123] Roger, H., Ch. Nebie, A. Belanger et S. Sib.Faustin S. 2007. Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle de Ocimum basilicum L. Vol. 1, n° 2, juillet - décembre,Science et technique, Sciences appliquées et technologies.

[124] Rossi PG, Liu K, Ferrari B, Berti L, 2007.Composition, irregular terpenoids, chemical variability and antibacterial activity of the essential oil from *Santolina corsica*. Phytochemistry 68: 1698–1705.

[125] Ana M. Džamić 1*, Marina D. Soković 2 , Mihailo S. Ristić 3 , Slavica M. Grujić 1 , Ksenija S. Mileski 1 , Petar D. Marin 1, 2014.Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of Pelargonium graveolens essential oil, Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 4 (03), pp. 001-005, March.

[127] Verma D. et al., 1997 . A Rare antibacterial flavone glucoside from Lanta camara. Indian drugs,34 : 332-335.

[128] Franchomme P., 1981.- L'aromatologie à visée antiinfectieuse. Phytomédecine, 1 (2), 25-47.

[129] Kurita N. & S. Koik, 1982. - Synergetic antimocrobial effect of sodium chloride and essential oils components. Agric. Biol. Chem., 46, 159-165.

[130] Gueldener R.C., D.M. Wilson & A Heidt, 1985.- Volatile compounds inhibiting Aspergillus flavus. J. Agri. Food, 33, 413-419 Article .

[131] Inouy S, T. Takizawa, & H. Yawamagushi, 2000.- Antibacterial activity of essential oils and their majors constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. J Antimicrob. Chemother., 47, 565- 73.

[132] Vinda-Martos M., Y. Ruiz-Navaja, J. Fernandez-Lopez & A.J. Perez-Alvarez, 2008.- Antibacterial activity of different essential oils obtained from spicies widely used in Mediterranean diet. Intern. J. Food Sci. Technol., 43, 526-531.

[133] Sidhu, O.P., H. ndraCha, and H.M. Behl, 2009. Occurrence of aflatoxins in mahua (Madhuca indica Gmel.) seeds: synergistic effect of plant extracts on inhibition of Aspergillus flavus growth and aflatoxin production. Food Chem Toxicol, 47: pp.774–777.

[134] Faid M. et al., 1996 ; Sayed A. & M. Fayed, 2009.- Antioxidant and anticancer activities of Citrus reticulate (Petitgrain Mandarin) and Pelargonium graveolens (Geranium) essential oils. Research J. Agric. Biol. Sci., 5 (5), 740-747.

[135] Griffin S.G., S.G. Wyllie, J.L. Markham & D.N. Leach, 1999.- The role of structure and molecular proprieties of terpenoids in determining antimicrobial activity. Flav. Fragr. J., 14 (5), 322-332.

[136] Dorman H. & Deans S., 2000 ; Dorman H. & Deans S., 2000 Dorman H.J.D. & S.G. Deans, 2000.- Antimicrobial agent from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol., 88 (2), 308-316.

[137] Kamran S., M. Digrak. U. Ravid & A. Iicim, 2001.- Antibacterial and antifungical activity of essential oils of Thymus revolus Celak. from Turkey. J. Ethnopharm., 76, 163-186.

[138] Satrani B. et Faid M. et al., 1996 Effet de la distillation sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de myrte (Myrtus communis L.) du Maroc. Acta Bot. Gallica, 153 (2) 235-242.

[139] Lalli J.Y., R.L. Van Zyl, Vuuren & A.M. Viljoen, 2008.- In vitro biological activities of South African Pelargonium (Geraniaceae) species. South African J. Bot., 74, 153- 157.

[140] Sayed A. & M. Fayed, 2009.- Antioxidant and anticancer activities of Citrus reticulate (Petitgrain Mandarin) and Pelargonium graveolens (Geranium) essential oils. Research J. Agric. Biol. Sci., 5 (5), 740-747.

[141] Somava L.I., F.O. Shode, P. Ramnan & A. Nadat, 2003.- Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triteneoids isolated from Olea europaea subspecies African leaves. J. Ethnopharmacol., 84 (2- 3), 299-305.

[142] Li G. & Z. Liu, 2009.- Usual antioxidant behavior of αand γ-terpene in protecting methylinoate, DNA and erythrocyte. J. Agric. Food Chem., 57, 3943-3948.

[143] Zhuang S.R., S.L. Chen, J.H. Tsai, C.C. Huang, T.C. Wu, W.S. Liu, H.C. Tseng, H.S. Lee, M.C. Huang, G.T. Shane, C.H. Yang, Y. C. Shen, Y.Y. Yan & C.K. Wang, 2009.- Effect of citronellol and the Chinese medical herb complex on cellular immunity of cancer patients receiving chemotherapy/radiotherapy. Phytother. Res., 23 (6), 785

[144] Chaker H 2012. Régulation de l'adptation de la bactérie Pseudomonas aeruginosa a son hote : implication des métabolites du tryptophane

[145] Bridier A, Le Coq D, Dubois-Brissonnet F, Thomas V, Aymerich S, Briandet R. 2011.; The spatial architecture of Bacillus subtilis biofilms deciphered using a surface-associated model and in situ imaging.

[146] Bouvet (centre national de référence des streptocoques, Hôtel-Dieu, université Paris VI) ; de bactériologie générale ; « Streptocoques-entérocoques » consulté le 8 juin 2010

[147] Janda, J. M., & Abbott, S. L., 2006. The Genera Klebsiella and Raoultella. The interobacteria (2nd ed., pp. 115-129). Washington, USA: ASM Press.

[148] Pitt et Hocking, 2009.Fungi and food spoilage, New York, Springer-Verlag,(ISBN 9780387922072 et 038792207