

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique & Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

*Université Ahmed ZABANA de Relizane
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences Agronomiques*



**Mémoire de fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de master
En biochimie de la nutrition**

Thème

Application de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* comme conservateur d'un jus d'orange naturel

Présenté par :

- ★ BENTABET Yamina
- ★ BENMOHRA Bekhta

Les membres du jury :

Présidente : Mme BOUAMAR Sarah Maître de conférence (B) A (U.Relizane)

Encadreur : Mme BOUKHENNOUFA Asma Maître de conférence (B) A (U.Relizane)

Examinatrice: Mme GHEZIEL Chahira Maître de conférence (B) A (U.Relizane)

[Année universitaire: 2023/2024]

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu qui nous a donné la patience et la force d'accomplir cet humble travail.

Nous tenons à remercier notre encadrante **Mme BOUKHENNOUFA Asma**, pour ses conseils et son assistance tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Je tiens également à remercier tout le personnel du laboratoire universitaire pour leur aide et leur gentillesse.

Nous vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et l'enrichir par leurs propositions.

Nous remercions fin tous ceux qui n'ont pas été cités dans ces quelques lignes et qui ont contribués de près ou de lion par leur aide au bon déroulement de ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail avant tout à mes chers parents «Mohammed et Nacira» pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A mes très chères sœurs Fatima et Nora qui m'ont soutenu, m'ont encouragé, pour que ce travail aboutisse.

Dédicace spécial 0 mes frères M'hamed, Youcef et Mokhtar qui m'ont soutenu, m'ont encouragé pour leurs conseils et leur pressasse à tout mes difficiles moments.

A mes chères amies adorées Fatima et Zoulikha .

A notre encadreur madame «Boukhennoufa Asma » pour son précieux conseil et son aide.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

Tout qu'ont collaboré de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, à tous ceux que j'aime

Merci.

Yamina

DEDICACES

Je dédie ce travail :

À mes deux êtres les plus chers, mon père et ma mère, pour leur amour, leur soutien et leurs sacrifices. Un témoignage de mon profond respect et de mon amour pour eux.

À mes proches

À mes chers frères

À mes chères sœurs

À toute ma grande famille

À mes amies et collègues, et surtout à ma chère partenaire

Et tout particulièrement à mon enseignante estimée, qui nous a apporté tout son soutien et sa persévérance dans notre parcours

Et à tous ceux qui m'ont enseigné, ne serait-ce qu'une seule lettre, et qui ont contribué à ce que j'ai accompli aujourd'hui.

Bakhta

Résumé

L'objectif de notre travail consiste à extraire l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* par la méthode d'hydro-distillation afin de la valoriser en tant que conservateur alternatif aux substances chimiques synthétiques, d'un produit alimentaire, le cas de jus d'orange naturel

Après avoir authentifié la plante, les teneurs en eau et en cendre sont déterminées. Ensuite, le rendement d'extraction est calculé, suivi des paramètres physico-chimiques en matière d'indice d'acide, indice de peroxyde et indice de saponification. L'effet antimicrobien de cette huile est testé par la méthode de diffusion sur milieu MH.

Deux doses sont additionnées aux jus d'orange naturel face au témoin, ensuite la qualité organoleptique et microbiologique sont testées à savoir, les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les salmonelles, les levures et les moisissures.

La plante semble riche en eau ($82,33 \pm 1,53\%$), contre $17,67 \pm 1,53$ de la matière sèche et en cendre ($11,33 \pm 0,58 \%$). L'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* se caractérise par une couleur jaunâtre, un aspect visqueux et une odeur florale prononcée caractéristique de cette plante. Le rendement d'extraction, l'indice d'acide, l'indice de saponification, l'indice de peroxyde et le pH sont à l'ordre de $0,10 \pm 0,03 \%$, $13,09 \pm 1,21$, $69,5 \pm 2,35$ mg KOH/g, $4 \pm 0,50$ meq d'O₂/kg et $4,8 \pm 0,2$ respectivement.

L'huile essentielles du *geranium roast* a présenté une activité antifongique majeure sur *Candida albicans* avec un diamètre de la zone d'inhibition égal à 30 mm. Mais, elle semble inefficace contre *Staphylococcus aureus* (8mm) et *Pseudomonas aerogenosa* (7mm).

Une absence totale des germes fongiques dans le flacon portant la dose 100 µL de cette huile, et pour la dose 50 µL, un nombre de 8×10^2 UFC/ml est trouvé après 21 jours de conservation à une température ambiante. Les flacons du jus avec ou sans huiles ne contiennent aucune trace bactérienne durant les 21 jours d'analyse.

L'HE de *Pelargonium graveolens* peut être proposée comme un substitut des additifs utilisés dans la conservation des denrées alimentaires.

Mots clés : *Pelargonium graveolens*, huile essentielle, activité antibactérienne , conservateur.

Abstract

The objective of our work is to extract the essential oil of *Pelargonium graveolens* by the hydro-distillation method in order to valorize it as an alternative preservative to synthetic chemical substances, from a food product, the case of juice. natural orange.

After authenticating the plant, the water and ash contents are determined. Then, the extraction yield is calculated, followed by the physicochemical parameters in terms of acid index, peroxide index and saponification index. The antimicrobial effect of this oil is tested by the diffusion method on MH medium. Two doses are added to the natural orange juice against the control, then the organoleptic and microbiological quality are tested, namely total coliforms, fecal coliforms, salmonella, yeasts and molds.

The plant seems rich in water ($82.33 \pm 1.53\%$), compared to 17.67 ± 1.53 in dry matter and ash ($11.33 \pm 0.58\%$). The essential oil of *Pelargonium graveolens* is characterized by a yellowish color, a viscous appearance and a pronounced floral odor characteristic of this plant. The extraction yield, acid index, saponification index, peroxide index and pH are in the range of $0.10 \pm 0.03\%$, 13.09 ± 1.21 , 69.5 ± 2.35 mgKOH/g, 4 ± 0.50 meq of O₂/kg and 4.8 ± 0.2 respectively.

Geranium rostratum essential oil showed major antifungal activity against *Candida albicans* with a diameter of the inhibition zone equal to 30 mm. But, it seems ineffective against *Staphylococcus aureus* (8mm) and *Pseudomonas aeruginosa* (7mm).

A total absence of fungal germs in the bottle carrying the 100 μ L dose of this oil, and for the 50 μ L dose, a number of 8×10^2 CFU/ml is found after 21 days of storage at room temperature. The juice bottles with or without oils do not contain any bacterial traces during the 21 days of analysis.

Pelargonium graveolens EO can be offered as a substitute for additives used in the preservation of foodstuffs.

Key words: *Pelargonium graveolens*, essential oil, antibacterial activity, preservative.

ملخص:

هدفت هذه الدراسة الى استخلاص الزيت العطري لنبات *Pelargonium Gravolens* بطريقة التقطير المائي من أجل تثمينه كمادة حافظة بديلة للمواد الكيميائية الاصطناعية، من منتج غذائي، مثل عصير البرتقال الطبيعي.

بعد التأكد من صحة النبات تم تحديد محتوى الماء والرماد. بعد ذلك، تم حساب مردود الاستخلاص، متبوعاً بالعوامل الفيزيائية والكيميائية من حيث مؤشر الحمض ومؤشر البيروكسيد ومؤشر التصبن. تم اختبار التأثير المضاد للميكروبات لهذا الزيت بطريقة الانتشار على وسط زرع خاص. بعدها تم إضافة جرعتين إلى عصير البرتقال الطبيعي ضد المكافحة ثم يتم فحص الجودة الحسية والميكروبيولوجية وهي القولونيات الكلية والقولونيات البرازية والسالمونيلا والخمائر والعفن.

يبدو أن هذه النبتة غنية بالماء ($82.33 \pm 1.53\%$) مقارنة بـ 17.67 ± 1.53 في المادة الجافة والرماد ($11.33 \pm 0.58\%$). يتميز الزيت العطري بلون مصفر ومظهر لزج ورائحة زهرية واضحة مميزة لهذا النبات. يتراوح مردود الاستخلاص ومؤشر الحمض ومؤشر التصبن ومؤشر البيروكسيد ودرجة الحموضة بين $0.10 \pm 0.03\%$ و 13.09 ± 1.21 و 2 ± 69.5 و 35 مجم KoH/g و 0.50 ± 4 meq من kg/02 و 0.2 ± 4.8 على التوالي.

أظهر الزيت العطري نشاطاً مضاداً للفطريات بشكل كبير ضد *Candida albicans* بقطر تثبيطي يساوي 30 ملم. ولكن، يبدو أنه غير فعال ضد المكورات *Staphylococcus aureus* (8 ملم) و *Pseudomonas aeruginosa* (7 ملم).

غياب تام للجراثيم الفطرية في الزجاجات التي تحمل جرعة 100 ميكرو لتر من هذا الزيت، وبالنسبة للجرعة 50 ميكرو لتر، تم العثور على عدد 8×10^2 وحدة تشكيل مستعمرة / مل بعد 21 يوماً من التخزين في درجة حرارة الغرفة. لا تحتوي زجاجات العصير بالزيوت أو بدونها على أي آثار بكتيرية خلال 21 يوماً من التحليل. يمكن تقديم الزيت العطري *Pelargonium Gravolens* كبديل للمواد المضافة المستخدمة في حفظ المواد الغذائية.

الكلمات المفتاحية: *Pelargonium Gravolens* ، الزيت العطري، النشاط المضاد للبكتيريا، المادة الحافظة.

Liste de figures :

Figure 01 : culture de <i>Pelargonium graveolens</i> .	03
Figure 02 : Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de plantes .	11
Figure 03 : la formation des dérivés aromatiques: Exemple de l'acide cinnamique.	15
Figure 04 : Entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion.	17
Figure 05 : Montage d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation .	18
Figure 06 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	28
Figure 07 : Photo du matériel végétal (<i>Pelargonium graveolens</i>).	29
Figure 08 : Extraction des huiles essentielles. a: Montage d'hydrodistillation employé, b: séparation liquide liquide des huiles essentielles, c: élimination du solvant d'extraction ,cyclohexane.	32
Figure 09 : Schéma récapitulatif de l'utilisation de l'HE de <i>Pelargonium graveolens</i> en tant que conservateur de jus d'orange naturel.	37
Figure 10 : Aspect de l'huile essentielle <i>Pelargonium graveolens</i> .	41
Figure 11 : Effet antifongique de l'huile essentielle de <i>Pelargonium graveolens</i> vis-à-vis <i>Candida albicans</i> .	44
Figure 12 : Effet conservateur de l'HE contre la croissance des levures et des moisissures dans le jus.	46

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification botanique de la plante	04
Tableau 02 : Liste des composés détectés à partir d'extraits aqueux et méthanoliques dans <i>graveolens</i>	07
Tableau 03 : Paramètres physiques de l'HE de Géranium	07
Tableau 04 : Localisation géographique de la zone de récolte	29
Tableau 05 : Résultats d'antibiogramme des antibiotiques utilisées vis-à-vis les souches microbiennes.	36
Tableau 06 : Résultats de la teneur en eau et de la matière sèche de <i>Pelargonium graveolens</i>	40
Tableau 07 : Résultats de la teneur en cendre et de la matière organique de <i>Pelargonium graveolens</i>	40
Tableau 08 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles du <i>Pelargonium graveolens</i>	41
Tableau 09 : Activité antimicrobienne de HE de <i>Pelargonium graveolens</i> .	43

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

DMSO : Diméthylsulfoxyde

g : Gramme

Gram- : Gram négatif

Gram+ : **Gram positif**

h : Heure

H% : Teneur en eau

HE : Huile essentielle

IA : Indice d'acide

IP : Indice de peroxyde

IS : Indice de Saponification

J : Jours

MC : Mac Concky

MH : Muller Hinton

ml : Mililitre

mm : Milimètre

MO : Matière Organique

MS : Matière sèche

N° : Numéro

NaCl : Chlorure de sodium

PH :	Potentiel Hydrogène
R :	Rendement
SS :	Samonelle Schigella
T° :	Température
UFC :	Unité Formant colonie
USA :	United States of America
V :	Volume
% :	Pourcentage
µl :	Microlitre
µm :	Micromètre
° :	Degré
°C :	Degré Celsius

Table des matières

Remerciements

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1-2

Partie I: Synthèse bibliographique

Chapitre I: *Pelargonium graveolens*

I.1. Historique	03
I.2. Présentation de la famille des Géraniacées	03
I.3. Caractérisation botanique	05
I.3.1. Morphologie de la plante	05
I.3.2. Mode de culture	05
I.3.2.1. Milieu naturel	05
I.3.2.2. Multiplication et culture	06
I.3.2.3. Récolte	06
I.4. Composition chimique de l'extrait de <i>Pelargonium graveolens</i>	06
I.4.1. Propriétés physiques	07
I.5. Huile essentielle de <i>Pelargonium graveolens</i>	08
I.6. Intérêts économiques et thérapeutique de <i>Pelargonium graveolens</i>	08
I.7. Toxicité et pouvoir allergisant	09

Chapitre II: Les huiles essentielles

II.1. Définition	10
II.2. Historique des huiles essentielles	10
II.3. Répartition et localisation de l'huile essentielle	11
II.4. Rôle des huiles essentielles	12
II.5. Composition chimique des huiles essentielles	12
II.5.1. Terpènes et terpénoïdes	12
II.5.2. Les composés aromatiques	13
II.5.3. Les composés d'origines diverses	13
II.6. Biosynthèse des huiles essentielles	14
II.6.1. Voie des terpenoïdes	14
II.6.2. La voie des phénylpropanoïdes (composés aromatiques)	14
II.7. Facteurs de variabilité des huiles essentielles	15
II.7.1. Les facteurs d'origine géographique	15
II.7.2. Les conditions environnementales	15
II.8. Obtention des huiles essentielles	16
II.8.1. Principales méthodes d'extraction	16
II.8.1.1. L'entraînement à la vapeur d'eau	16
II.8.1.2. L'hydrodiffusion	17
II.8.1.3. L'hydrodistillation	17
II.8.1.4. La distillation à vapeur saturée (La méthode de Parnas-Wagner)	18
II.8.1.5. Expression à froid	18
II.8.1.6. Extraction par les solvants et les graisses	19

II.8.1.7.Extraction assistée par micro-ondes	19
II.9. Méthodes d'analyse des huiles essentielles	20
II.9.1.Techniques d'analyse par la chromatographie en phase gazeuse	20
II.10.Toxicité des huiles essentielles	21

Chapitre III: Application des huiles essentielles

III.1.Domaines d'application des huiles essentielles	22
III.1.1 Industrie de la parfumerie et de la cosmétique	22
III.1.2 En pharmacologie	22
III.1.3 les huiles essentielles en chimie verte	22
III.2.Utilisations	23
III.2.1 Voie olfactive	23
III.2.1.1. Diffusion atmosphérique	23
III.2.1.2. Inhalation	24
III.2.2.La voie orale	24
III.2.3. La voie cutanée	24
III.3. Utilisation de <i>Pelargonium graveolens</i> dans les divers domaines	26
III.3.1.Les propriétés thérapeutiques	26
III.3.2. Emploi de l'huile essentielle en médecine traditionnelle et aromathérapie	26
III.3.3..Agroalimentaire	26
III.3.4. Parfumerie et cosmétiques	27

Partie II: Etude expérimentale

IV. Matériel et méthodes

IV.1. Objectif	28
IV.2. Matériel végétal	29
IV.3. Souches microbiennes	29
IV.4. Caractérisation biochimique de la plante	30
IV.4.1. Teneur en eau	30
IV.4.2. TENEUR EN CENDRE (NF V05-113, 1972)	31
IV.5. Extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation	31
IV.6. Détermination des paramètres chimiques de l'huile	32
IV.6.1. Indice d'acide	33
IV.6.2. Indice de Saponification	33
IV.6. 6.3. Indice de peroxyde	34
IV.7. Aromatogramme	35
IV.8. Utilisation de l'huile essentielle dans la conservation de jus d'orange frais	36
IV.8.1. Analyse microbiologique de jus	37
IV.8.1.1. Préparation des dilutions décimales	37
IV.8.1.2. Dénombrement des coliformes	38
IV.8.1. 3. Dénombrement des salmonelles	38
IV.8.1. 4. Dénombrement des levures et des moisissures	39
IV.9. Etude statistique	39

V . Résultats et discussion

V.1. Caractérisation biochimique de la plante	40
V.1.1. Teneur en eau	40
V.1.2. Teneur en cendre	40
V.2. Paramètres physico-chimiques des huiles essentielles	41
V.3.Aromatogramme	43
V.4. Utilisation de l'huile essentielle dans la conservation de jus d'orange	45
Conclusion	47

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction générale

Introduction

Au cours des dernières années, les plantes médicinales et aromatiques ont fait l'objet d'une attention particulière et sont appliquées dans les divers domaines, que ce soit par les chercheurs ou par les utilisateurs. Cela est dû, d'une part, à la facilité et l'efficacité d'extraction de leurs principes actifs, la potentialité de leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes et d'autre part, aux périls posés par de nombreuses substances chimiques de synthèse (**Ben El Hadj, 2020**)

L'Algérie regorge d'énormes potentialités en matière de plantes aromatiques et médicinales en raison de son vaste territoire, de la diversité, de son climat et de la nature de ses sols (**Hadj salem, 2009**). Les gains que peut procurer la valorisation de ces plantes sont énormes mais leur exploitation n'a pas été entreprise de façon sérieuse jusqu'à présent et pourtant, l'industrie pharmaceutique est à la recherche de composés bioactifs intéressants, qui pourraient compléter ou remplacer les produits chimiques déjà utilisés (**Atailia, 2016**).

Les Géraniacées sont une famille planétaire de plantes à fleurs avec plus de 830 espèces réparties dans cinq genres (**Bremer et al., 2009**). Le genre *pélargonium* comprend environ 283 espèces (**Röschenbleck et al., 2014**), le *Pélargonium graveolens*, appelé également *Géranium rosat*, *Géranium odorant*, *Pelargonium xasperum Ehrh*, est une plante aromatique de la famille *Geraniaceae*. Cette dernière est cultivée pour son huile essentielle qui fait partie des vingt meilleures huiles essentielles au monde en raison de leurs propriétés pharmacologiques, utilisée dans plusieurs traitements, notamment de la fièvre, la diarrhée, la toux et d'autres affections respiratoires (**Nabhi, 2013**). Cette plante fut introduite en Algérie et plus précisément au 19^{ème} siècle pour ses conditions climatiques favorables et sa situation stratégique (La plaine de Mitidja). Aujourd'hui, sa culture est pratiquée sur de petites parcelles dans des conditions de production difficiles est menacée d'abandon malgré les immenses opportunités qu'elle offrait autrefois, à savoir, sa notoriété sur le marché mondial, son cycle de production rapide (**Boukhatem et al., 2010**)

L'huile essentielle de ce *pélargonium*, classée « Généralement reconnue comme saine » (GRAS) et approuvée pour usage alimentaire par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (Food and Drug Administration), est connue pour ses propriétés anti-inflammatoires, spasmolytiques, hémostatiques et cicatrisantes. Cependant, peu de travaux ont été consacrés à ses qualités antibactériennes, notamment en Algérie (**Lis-Balchin, 2004; Moro Buronzo, 2008; Omar et al., 2012**).

Le présent travail vise à trouver un nouveau conservateur alternatif aux substances synthétiques largement utilisées en industrie agroalimentaire. Notre choix est tombé sur l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens*, en raison de sa richesse en métabolites secondaires antioxydants et antimicrobiens.

Le document est structuré en deux principales parties : Une partie théorique regroupant trois chapitres, Un aperçu sur la matière végétale étudiée, les huiles essentielles, et les applications de ces substances bioactives. En revanche, une partie pratique qui s'articule autour du matériel et des méthodes. Ensuite les résultats constatés sont discutés et comparés par rapport travaux récents du même domaine. En fin ce travail est clôturé par une conclusion générale assortie de perspectives.

PARTIE I

Synthèse bibliographique

Chapitre I: *Pelargonium gaveolens*

I.1. Historique

Le *Pelargonium graveolens* provient du Cap de Bonne Espérance en Afrique du Sud. Il a été introduit en Europe à la fin du 17^{ème} siècle dans les jardins botaniques. Au milieu du 19^{ème} siècle, la véritable Rose du Levant devenant rare et le prix de son huile essentielle très élevé, contraignit les parfumeurs de l'époque à rechercher de nouvelles sources d'essences à odeur de rose, d'où les essais de culture de *Géranium rosat* par D'Emerson et les premières plantations dans la région de Grasse en France pour la production d'huile essentielle (Peyron, 2013).

Cependant, la culture s'accommodait mal aux contraintes climatiques et économiques du Sud de la France. Très rapidement, de nouvelles plantations furent développées en Algérie (Simpson, 2010). Dès le début du 20^{ème} siècle, la culture du *Géranium rosat* est apparue dans d'autres régions : Corse (France), Italie, Espagne, Portugal, Maroc, Tunisie, Egypte, Russie, Comores, Afrique du Sud, Congo, Inde, Brésil, Chine (Ghedira et Goetz, 2015; Peyron, 2013).



Figure (01): *Pelargonium graveolens* (Relizane 2024)

I.2. Présentation de la famille des Géraniacées

La famille des *Geraniaceae* est une famille de plantes dicotylédones vraies qui comprennent de 5 à 7 genres et de 650 à 800 espèces (Simpson, 2010). Cette famille est constituée d'arbustes, parfois à tiges lignées (Kubitzki, 2007). Les genres *Geranium* et *Pelargonium* sont classés dans la famille des *Geraniaceae* et possèdent un fruit allongé similaire, composé de 5 méricarpes, chacun contenant une seule graine (Miller, 2002).

La classification de *Pelargonium graveolens* selon Miller, 2002, les premiers Pélarгонiums ont été regroupés avec des Géraniums. Plus de quarante ans plus tard, le botaniste français Charles-Louis L'Héritiera clairement distingué entre le *Pelargonium* et les deux genres *Erodium* et *Geranium*. Vers la fin du dix-huitième siècle, le nombre de nouvelles espèces de *Pelargonium* et ces hybrides a tellement augmenté que leur classification est devenue nécessaire. La première tentative sérieuse a été faite par Sweet en 1820, dans le premier de ses cinq volumes de *Geraniaceae*. Il a séparé plusieurs espèces parmi les plus distinctes en créant dix nouveaux genres (Miller, 2002).

Un botaniste irlandais produisit son « Flora Capensis » en 1860, où il sépara le genre en 15 sections, dont beaucoup étaient des combinaisons de ceux proposés par Sweet et de Candolle. La division du genre par Harvey en sections a été suivie par des botanistes de plusieurs régions du monde qui ont étudié tous les aspects de la taxonomie, y compris l'emplacement, l'habitat, la taille et le nombre de chromosomes, les caractéristiques du pollen, la teneur en alcaloïdes et en protéines, la morphologie externe et l'anatomie interne (Miller, 2002).

Le tableau suivant représente la position systématique de *Pelargonium graveolens* d'après le service de conservation des ressources naturelles (Natural Resource Conservation Service – NRCS), agence du département de l'agriculture des États-Unis (United States Département of Agriculture, USDA) Classification classique du *P. graveolens* (Ghedira et Goetz, 2015).

Tableau (01): Classification botanique de la plante

Règne	<i>Plantae</i> (Plantes)
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i> (Trachéophytes)
Super division	<i>Spermatophyta</i> (plantes à graines)
Division	<i>Magnoliophyta</i> (ou angiospermes), plantes à fleurs
Classe	<i>Magnoliopsida</i> (ou dicotylédones)
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Geraniales</i>
Famille	<i>Geraniaceae</i>
Genre	<i>Pelargonium</i>
Espèce	<i>Pelargonium graveolens</i>

I.3.Caractérisation botanique

Arbrisseau buissonnant, allant de 50 cm à 1,40 m de haut pour environ 1 m de diamètre, le *Géranium rosat* est très ramifié et plus ou moins érigé, La totalité de ses parties aériennes dégagent un parfum de rose prononcé. Sous la surface du sol, son système racinaire est étalé et s'étend généralement sans s'enfoncer à plus de 30 cm de profondeur. Les jeunes tiges sont teintées d'un gris-vert qui s'assombrit en vieillissant, et sont toujours velues. Ses feuilles palmatifides, disposées de manière opposées ou alternes, sont molles, hirsutes et très odorantes, car recouvertes de poils protecteurs et de poils sécréteurs dont les cellules chargées d'essence sont superficielles et très fragile. Ses inflorescences terminales sont formées de petits groupes de cinq à dix fleurs rose pâle, regroupées en pseudo-ombelles. Les fleurs zygomorphes, caractéristiques du genre *Pelargonium*, possèdent cinq pétales dont deux pétales postérieurs plus larges que les trois pétales antérieurs. Elles possèdent dix étamines stériles et un style filiforme qui se termine par un stigmate en forme d'étoile à cinq branches recourbées (**Anonyme, 2021**).

I.3.1.Morphologie de la plante

Sous arbrisseau à port érigé, très ramifiant formant une touffe arrondie. Il peut atteindre jusqu'à 1m30 de hauteur et 1 mètre de diamètre. Les tiges sont vertes et tendres, elles se lignifient et deviennent plus foncées avec l'âge. Les feuilles sont opposées, persistantes, odorantes, douces et découpées en 5 à 7 lobes. L'inflorescence est terminale et constituée de 3 à 10 semi-ombelles de couleur rose. Ses fleurs roses, à cinq pétales sont souvent veinées d'une coloration plus foncée (**Boukhatem,2011; Peyron,2013; Ghedira et Goetz, 2015**)

I.3.2. Mode de culture

I.3.2.1.Milieu naturel

Les conditions climatiques ont une forte influence sur le développement du *Geranium rosat* qui demande un climat chaud, sec et sans vent nuisible. La température doit rester supérieure ou égale à 3/5°C. Des précipitations de l'ordre de 1 000 à 1 500 mm d'eau par an sont recommandées(**Kubitzki, 2007**).

Les faibles gelées sont à craindre d'autant que les plants sont plus jeunes. En revanche, des conditions trop sèches entraînent un retard de croissance. Le *Geranium rosat* n'est guère exigeant au point de vue du sol; toutefois, il prospère particulièrement bien dans les terres légères, fertiles, fraîches, saines, silico-argileuses, perméables, présentant une certaine richesse en calcaire (Kubitzki, 2007).

I.3.2.2. Multiplication et culture

Pour éviter la compaction du sol, et notamment en fin de saison des pluies, il peut être important d'effectuer un labourage profond de celui-ci. En ce qui concerne sa multiplication, la stérilité des étamines de ce cultivar rend quasiment obligatoire la technique par bouture de tige. On prélève sur des plantes saines des boutures de tiges feuillées d'une quinzaine de centimètres, comprenant environ cinq nœuds et un bourgeon terminal. Ces boutures peuvent être plantées directement dans le sol humide ou plantées en pépinière, ces deux techniques montrent de très bons taux de reprise et font de cette voie de multiplication végétale, la technique la plus utilisée (Protalu, 2022).

I.3.2.3-Récolte

En Algérie, les plantations durent plusieurs années et donnent trois coupes par an, la première au mois de Mai, lorsque les tiges portent trois ou quatre fleurs. Les tiges subissent le minimum de manipulations pour éviter un détachement des feuilles qui contiennent la plus grande quantité de l'huile essentielle (Ghedira et Goetz, 2015).

I.4. Composition chimique de l'extrait de *Pelargonium graveolens*

Il existe plusieurs variétés d'origines différentes qui se distinguent par la teneur en constituants chimiques de leurs huiles essentielles et leurs extraits (Ghedira et Goetz, 2015). Les études sur les espèces de *P. graveolens* se sont concentrées sur la composition chimique des huiles essentielles. Les trichomes des feuilles de *Pelargonium* contiennent d'autres composés chimiques, notamment des flavonoïdes (Boukhris et al., 2012).

Tableau (02): Liste des composés détectés à partir d'extraits aqueux et méthanoliques dans *graveolens* (Boukhris et al., 2012).

Solvant	Composés
Méthanol	Myrisetine 3-O-glu-rha
	Quercetine 3-O-pent-glu
	Quercetine 3-O-rha-glu (Rutin)
	Kaempferol 3-O-glu
L'eau	Kaempferol 3,7-di-O-glu
	Isorhamnetine aglycone
	Quercetine 3-O-glu
	Quercetine 3-O-pent
	Kaempferol 3-O-rha-glu

I.4.1. Propriétés physiques

L'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* est liquide à température et à pression ambiantes. Elle est de couleur allant du jaune clair au vert jaunâtre et elle est vert brunâtre pour celle de type Bourbon. Son odeur est rosée citronnée, caractéristique de la plante (Atilia 2016). Les paramètres physiques de cette HE selon la norme ISO 4731 sont résumés sur le tableau 3 ci-dessous:

Tableau (03): Paramètres physiques de l'HE de Géranium

	Afrique du Nord	Bourbon	Chine	Madagascar
Densité	0.885-0.905	0.885-0.897	0.882-0.899	0.887-0.897
Indice de réfraction	1.461-1.475	1.460-1.470	1.460-1.472	1.462-1.471
Pouvoir rotatoire	-14°/-8°	-17°/-9°	-14°/-7°	-17°/-9°

I.5. Huile essentielle de *Pelargonium graveolens*

Lors de la première année de la cueillette de *Geranium rosat*, son rendement en HE n'est souvent que de 10kg d'essence/ha, mais pouvant s'élever jusqu'à 25 ou 30kg les années suivantes si la plantation est bien entretenue (**Atailia, 2016**). La Chine est devenue aujourd'hui le principal producteur. Les autres grands producteurs sont l'Égypte, le Maroc, l'Inde et l'ex Union Soviétique. La production annuelle mondiale est d'environ 300 t, alors que la demande est estimée à 500 t. Les principaux importateurs sont les États-Unis, l'Europe et le Japon. La production de l'Inde et des pays de l'ex Union Soviétique est utilisée entièrement sur place (**Atailia, 2016**).

I.6. Intérêts économiques et thérapeutique de *Pelargonium graveolens*

La plante *Pelargonium graveolens* a été utilisée en médecine traditionnelle depuis longtemps pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. A titre d'exemple, elle a été utilisée pour le traitement des plaies et les brûlures superficielles, pour les massages, en cas de grande fatigue ou de stress et pour le soulagement des hémorroïdes, de la dysenterie, de l'inflammation et du cancer. Elle a été également utilisée dans les industries de la parfumerie, de la cosmétique et de l'aromathérapie. Les extraits de cette plante présentent des activités antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et des effets acaricides. C'est donc une source potentielle d'ingrédients actifs pour l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Saraswathi et al, 2011; Ben Hsouna et Hamdi, 2012 ; Lis-Balchin, 2002 ; Asgarpanah et Ramezanloo, 2015**).

Selon Asgarpanah et Ramezanloo, 2015, les aspects thérapeutiques précieux de *Pelargonium graveolens* sont principalement liés à l'existence des constituants volatils, de terpénoïdes et de flavonoïdes. El Ouadi *et al*, 2017 ont trouvé que la fraction acétate d'éthyle et la fraction éther diéthylique de l'extrait aqueux de *Pelargonium graveolens* présentent une bonne activité antioxydante à une concentration de 2 µg/ml, jusqu'à 53% et 51,84% respectivement.

I.7. Toxicité et pouvoir allergisant

Le *Pelargonium graveolens* n'est pas classé comme plante toxique. Une sensibilisation évoluant vers une véritable allergie est possible. Les réactions allergiques à cette plante sont néanmoins rares. Une étude danoise réalisée sur 253 jardiniers et travailleurs exposés à la plante n'a retrouvé que 7 tests cutanés positifs témoignant de phénomènes allergiques soit moins de 3% sur une population non représentative de la population générale puisqu'exposés à la plante régulièrement dans le cadre de leurs activités professionnelles. On dispose de peu d'informations concernant la toxicité de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens*. Aucune étude publiée ne rapporte de cas d'intoxication par ingestion de ce produit. Les cas répertoriés concernent exclusivement des affections bénignes de nature dermatologique: Une irritation cutanée, fissuration et assèchement. Néanmoins, deux cas d'empoisonnement ont été répertoriés chez des enfants après ingestion d'huile essentielle de citronnelle (*Cymbopogon winterianus*) dont la composition chimique est proche de celle de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* avec la présence de citronellol (10 à 35%) et de géraniol (18 à 21%) (Atilia, 2016).

Chapitre II: Les huiles essentielles

II.1. Définition

Les huiles essentielles sont : «des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation.». Les huiles essentielles sont des mélanges de composés aromatiques des plantes, qui sont extraites par distillation par la vapeur ou par des solvants, les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois, elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal. Elles sont odorantes et très volatiles (**Chekoual, 2019**).

Selon l'Association Française de la Normalisation « AFNOR » en 1987 une huile essentielle est définie par : «Un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques» (**Slougui et Mahfoud, 2017**).

II.2. Historique des huiles essentielles

Les huiles essentielles semblent avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère de la civilisation arabo-musulmane, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique musulman, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques. Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur compositions

chimiques. en 1928, René-Maurice Gatte fossé crée le terme de l'aromathérapie et il mène de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés; ses résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (**Bouchemella, 2020**).

II.3.Répartition et localisation de l'huile essentielle

Les huiles essentielles sont produites par des cellules végétales spécialisées et peuvent être stockées dans tous les organes végétaux (Figure 02).

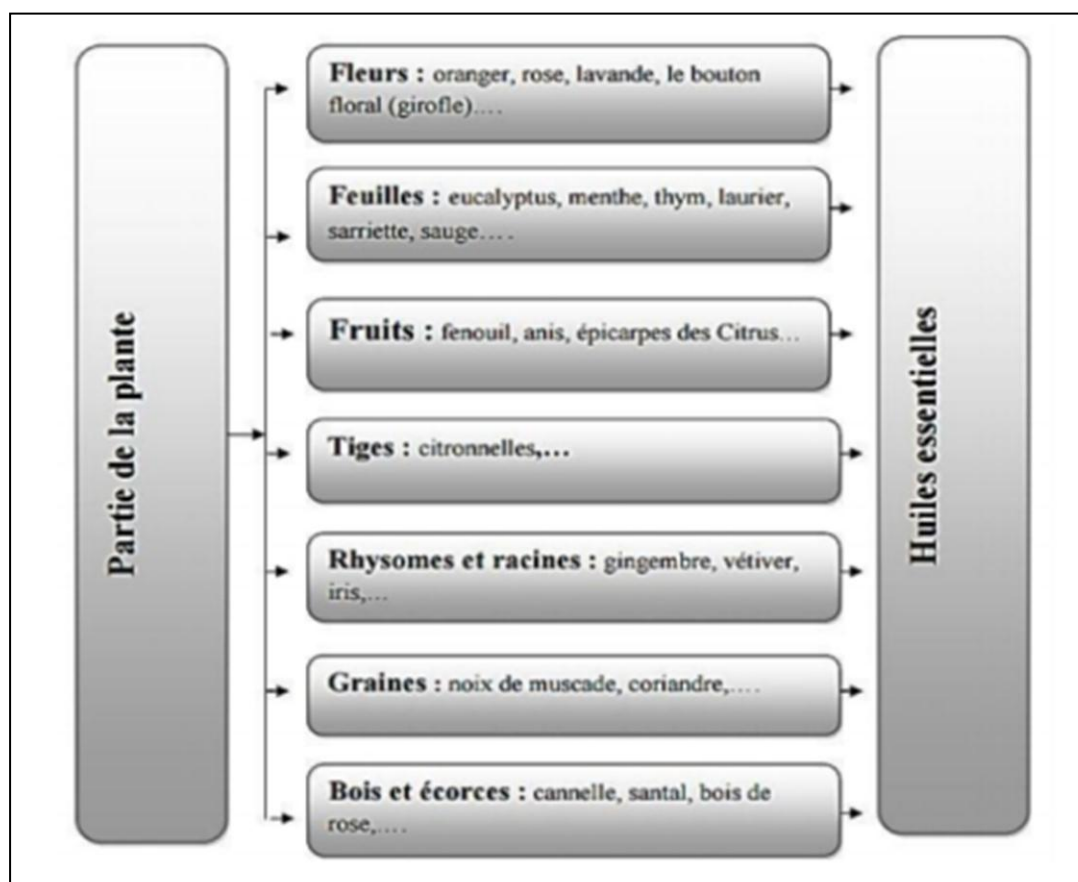


Figure (02): Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de plantes
(Ben Cheikh, 2017)

La synthèse et l'accumulation des HE sont généralement associées à la présence de structures histologiquement spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. On retrouve par exemple :

- les cellules à huiles essentielles : chez les Lauracées et les Zingiberacées
- les poils sécréteurs : chez les Lamiacées

- les poches sécrétrices : chez les Myrtacées et les Rutacées
- les canaux sécréteurs : chez les Apiacées et les Astéracées (**Laurent, 2017**)

II.4. Rôle des huiles essentielles

Les plantes les utilisent pour se protéger contre les virus et tous pensent qu'il s'agit d'hormones végétales. D'autres considèrent que les huiles sont des messagers entre sorte de parasites et de microbes; des travaux ont montré que les monoterpènes et les sesquiterpènes peuvent jouer des rôles importants dans la relation des plantes avec leur environnement. Par exemple, le 1,8-cinéole et le camphre inhibent la germination des organes infectés ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes (**Ben Cheikh, 2017**).

II.5. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges variables et complexes de différents composés chimiques, dissous l'un dans l'autre, formant des solutions homogènes. Les principaux constituants des huiles essentielles appartiennent à deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée: celui des composés terpéniques (mono et sesquiterpènes) et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Touhami, 2017**)

II.5.1. Terpènes et terpénoïdes

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base : isoprène ; Hémiterpène (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20). Ils représentent le groupe le plus important .(Brunton J. 1999)

a. Monoterpènes: Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurelles : les monoterpènes acycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90 % d'HE. Dans cette catégorie de composés, il existe de nombreuses molécules fonctionnalisées, à savoir, par exemple:

- **Alcools:** acyclique (géraniol, citronellol), monocycliques (menthol), bicycliques (bornéol).
- **Aldéhydes :** le plus souvent acycliques (géraniol, néral, citronellal)

- **Cétones** : acycliques (tagétone), monocyclique (menthone, isomenthone, carvone, pulégone), bicycliques (camphre, fenchone).
- **Esters** : acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle), bicycliques (acétate d'isobomyle)
- **Ethers** : 1,8-cinéole eucalyptol) mais aussi les éthers cycliques tétrahydrofuraniques ou di- et tétrahydropyraniques qui pour certains jouent un rôle majeur dans l'arôme des fruits (oxyde de linalol ou de rose).
- **Peroxydes** : ascaridole.
- **Phénols** : thymol, carvacrol Brunton J.1999.

b. Les sesquiterpènes

Ces composés sont souvent représentés en faibles quantités dans les huiles essentielles et n'apportent pas ou peu d'effets toxiques. On trouvera quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles : carbures mono ou polycycliques (β -bisobolène, β -caryophyllène), les alcools (farnésol, carotol), les cétones (cis-longipinane-2,7-dione), les aldéhydes (sininsals) et les esters (acétate de cedryle) (Aous, 2015).

II.5.2. Les composés aromatiques

Les composés de cette série sont beaucoup moins fréquents que les monoterpènes et les sesquiterpènes. Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane (C3-C6) sont très souvent des allyles et propenylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'*Apiaceae* telle que l'eugénol et l'apiol (Aous, 2015).

II.5.3. Les composés d'origines diverses

De faibles quantités de composés acycliques non terpéniques et de poids moléculaires peu élevés peuvent se retrouver dans certaines HEs (alcools, aldéhydes, cétones, etc) La série de ces composants peut être regroupée en six classes selon leur structure chimique:

- a) Les hydrocarbures, tel que le limonène dans l'huile de citron;
- b) Les alcools, tel que le bornéol dans le camphrier de Bornéo;
- c) Les esters, tel que le salicylate de méthyle dans l'huile de wintergreen;
- d) Les aldéhydes, tel que l'aldéhyde benzoïque dans l'huile d'amandes amères;
- e) Les cétones, telle que la menthone dans l'huile de menthe poivrée;
- f) Les lactones et oxydes, telle que la coumarine des haricots de Tonka.

Parmi les essences naturelles, on peut distinguer des essences qu'on pourrait qualifier de simples (riches en un composé prépondérant ou majoritaire), de complexes (ne possédant aucun composé prépondérant) et tous les cas intermédiaires sont possibles. L'un des exemples typiques d'une essence simple est celui de l'essence de girofle qui contient au moins 80 % d'eugénol et de petites quantités d'autres produits. Le cas extrême de complexité peut être illustré par l'essence de vétiver qui contient une centaine de composants dont les vétivones (alpha et bêta) et le khusimol (Henniche, 2018)

II.6. Biosynthèse des huiles essentielles :

La biosynthèse des huiles essentielles se fait suivant deux principales voies :

II.6.1. Voie des terpenoïdes

Le matériau de base est l'IPP (isopentylpyrophosphate), molécule à cinq atomes de carbones ayant une structure semi- alvéolaire. Il est dérivé de l'Acétyl CoA (carrefour important), lui-même issu du PEP (phosphoenolpyruvate) provenant directement du fructose. La construction des squelettes hydrocarbonés a lieu de la même manière par la juxtaposition "tête à queue" d'unités isopréniques, unités pentacarbonés ramifiées assemblées enzymatiquement. Ainsi on trouve des squelettes hydrocarbonés à dix carbones (monoterpènes), puis à quinze carbones (sesquiterpènes) et plus rarement, à vingt carbones (diterpènes). Le processus peut se poursuivre mais dans d'autres buts que la synthèse des essences (Bencheikh, 2017).

II.6.2. La voie des phénylpropanoïdes (composés aromatiques)

La biosynthèse des dérivés du phénylpropane se fait par l'intermédiaire de l'acide shikimique qui représente le principal mode d'accumulation des phénols dans les plantes. Cette voie fait intervenir une série de réactions et représente le chemin biosynthétique des acides aminés aromatiques (phénylalanine, tryptophane...). L'acide est obtenu par condensation de l'acide pyruvique activé par phosphorylation sur un sucre phosphorylé. L'addition d'une deuxième molécule d'acide pyruvique activé fournit l'acide préphénique qui par déshydratation et décarboxylation donne l'acide phénylpyruvique. Cet acide aromatique se transforme en phénylalanine, acide aminé aromatique, qui est à l'origine du métabolisme des composés aromatiques. La figure 03 illustre les principales étapes de la formation des dérivés aromatiques: Exemple de l'acide cinnamique (Ouis, 2015).

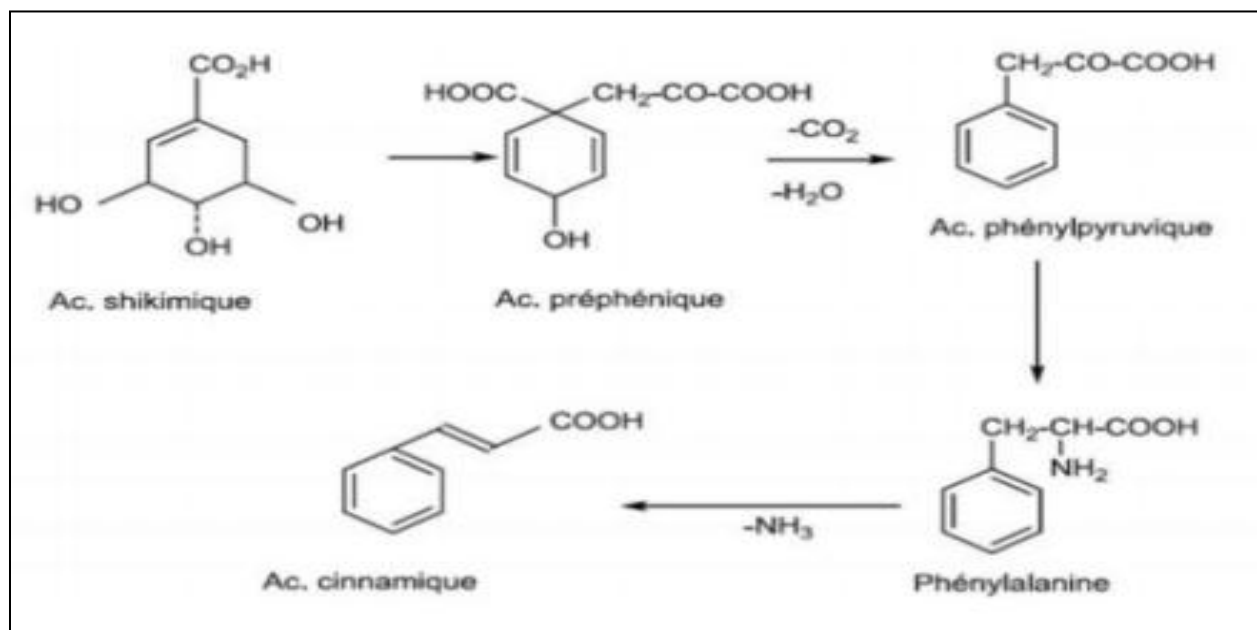


Figure (03). la formation des dérivés aromatiques: Exemple de l'acide cinnamique

II.7. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

Des travaux de recherche ont prouvés que la composition chimique des huiles essentielles est très différente quantitativement et qualitativement. En effet, elle dépend des variations d'ordre naturel (Génétique, localisation, maturité, sol, climat, etc...) ou technologique (Mode de culture ou d'extraction d'huile essentielle de la plante) (**Bounab, 2020**).

II.7.1. Les facteurs d'origine géographique

Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'huile essentielle obtenue. Il y a des différences de composition chimique selon le pays d'origine. La composition chimique des huiles essentielles d'une même plante grandissant dans des lieux différents avec changement de situation géographique (Altitude et latitude), avec variation de la nature du sol peut être différente. Par exemple, le thym vulgaire à géraniol ne produit cette molécule de géraniol qu'en hiver alors que l'acétate de géranyl la remplacera en été (**Bounab, 2020**).

II.7.2. Les conditions environnementales

Selon les conditions environnementales, le profil chimique peut également être modifié. La qualité et la quantité de lumière, la température, l'indice de pluviométrie, les facteurs édaphiques et le stress, par exemple la contamination par des microorganismes

conduisant à la synthèse de phytoalexines, sont autant de facteurs influençant la composition chimique d'une plante donnée (**Bounab, 2020**).

II.8.Obtention des huiles essentielles

Plusieurs méthodes existent pour extraire les huiles essentielles. Elles sont basées principalement sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de plusieurs paramètres tel que la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, et l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (**Ben Cheikh, 2017**).

II.8.1.Principales méthodes d'extraction

Il existe plusieurs méthodes de distillation dont voici les principales :

II.8.1.1.L'entraînement à la vapeur d'eau

À la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. L'entraînement à la vapeur d'eau consiste à récupérer l'huile essentielle des végétaux en faisant passer à travers ces derniers un courant de vapeur d'eau, qui traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « vapeur d'eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier, avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Figure 04). (**Chekoual, 2019**)

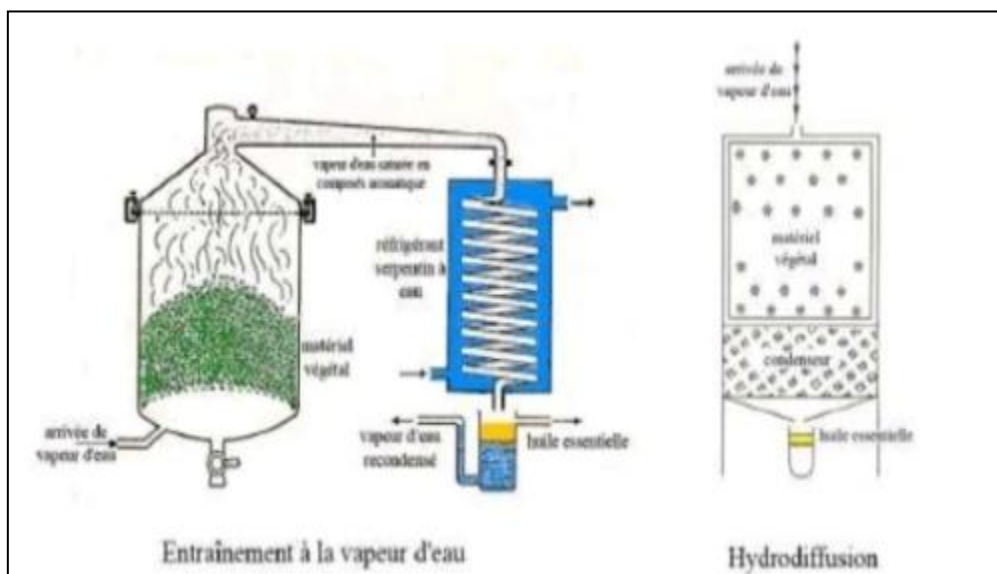


Figure (04): Entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion (Lucchesie, 2005).

II.8.1.2. L'hydrodiffusion

La vapeur d'eau est pulsée du haut vers le bas à travers la plante aromatique. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau - huile essentielle » dispersé dans la matière végétale. Comme l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques (Chekoual, 2019)

II.8.1.3. L'hydro-distillation

Le principe de l'hydro-distillation (La méthode de Moritz) est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle surnageant. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat) (Ben Cheikh, 2017).

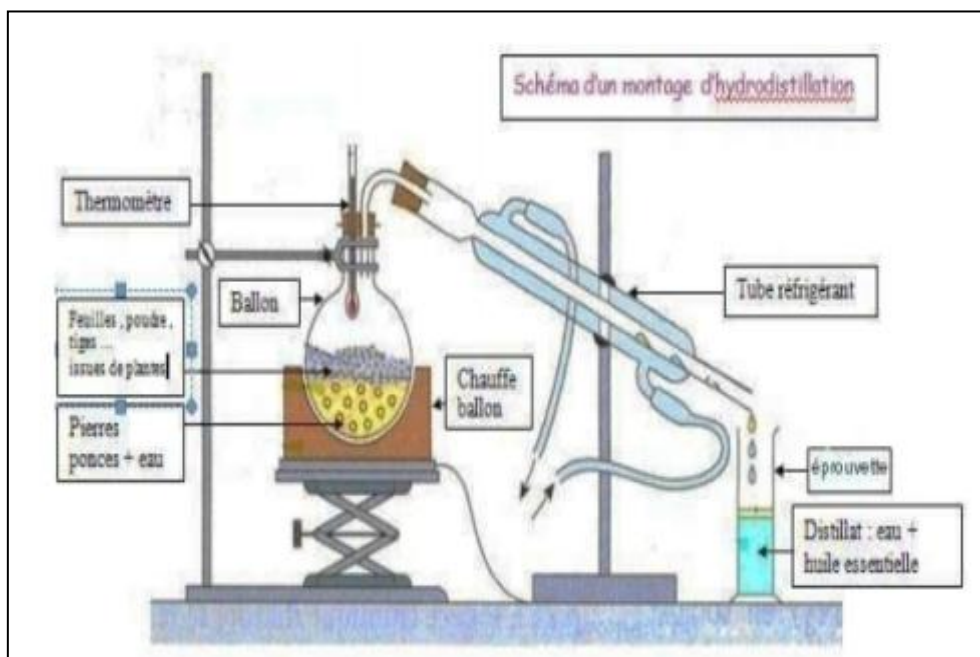


Figure 05 . Montage d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (**Ben Cheikh, 2017**).

II.8.1.4. La distillation à vapeur saturée (La méthode de Parnas-Wagner)

La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales. Dans cette méthode, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées. En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition d'eau. Les principes volatils sont entraînés par les vapeurs d'eau puis refroidis et enfin séparés de la phase par décantation (**Ben Cheikh, 2017**)

II.8.1.5. Expression à froid

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification. Les essences de Citrus ont longtemps été extraites manuellement, la mécanisation et l'industrialisation de la technique d'expression à froid ne s'étant effectuées qu'au début du XXe siècle, afin de diminuer les coûts de production et d'améliorer les rendements pour faire face à l'augmentation de la demande. Les systèmes récents, comme la «

Food Machinery Corporation-in-line » (FMC), permettent d'extraire le jus de fruit et l'essence de manière quasi-simultanée sans contact des deux. C'est pourquoi l'expression à froid est la méthode de choix pour extraire ces essences, d'autant que la distillation n'est plus une technique très appropriée. En effet, la distillation produit des huiles aromatiques de moindre qualité principalement due à une présence importante d'aldéhydes, composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur (**Boukhatem et al., 2019**).

II.8.1.6. Extraction par les solvants et les graisses

Il s'agit d'extraits de plantes obtenus au moyen de solvants non aqueux. Ces derniers peuvent être des solvants usuels utilisés en chimie organique tels que : l'hexane, éther de pétrole, mais aussi des graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par des corps gras). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres. Dans le cas des extraits à l'aide de corps gras, un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. La solution alcoolique ainsi récoltée est refroidie jusqu'à -10°C, pour séparer les cires végétales qui se solidifient. Après distillation de l'alcool le produit obtenu est appelé « absolu » et sa composition se rapproche de celle d'une huile essentielle. L'extraction à l'aide de solvants organiques pose des problèmes de toxicité (**Touhami, 2017**).

II.8.1.7.Extraction assistée par micro-ondes

L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et incrémenter le rendement. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées. L'emploi des micro-ondes constitue, par ailleurs, une méthode d'extraction à part entière en plein développement. A titre d'exemple, La SFME (Solvent Free Microwave Extraction) est une combinaison originale des techniques de chauffage par micro-ondes et de distillation sèche. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant. Le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante permet d'en dilater ses cellules et conduit à la rupture des glandes et des réceptacles oléifères. L'HE ainsi libérée est évaporée avec l'eau de la plante (**Boukhatem et al., 2019**).

II.9. Méthodes d'analyse des huiles essentielles

Vu l'importance industrielle des HEs, une analyse de leurs propriétés physiques et composition chimique est nécessaire pour les caractériser et les décrire. Les HEs sont généralement liquides à température ambiante et ont une odeur aromatique souvent due à un ou plusieurs composés. Les HEs sont rarement colorées quand elles sont fraîches. Leur densité est le plus souvent inférieure à celle de l'eau (à l'exception de quelques essences comme celles du saffran, du girofle et de la cannelle). Elles ont un indice de réfraction élevé et sont généralement douées de pouvoir rotatoire. Les HEs sont très peu solubles dans l'eau mais solubles dans l'alcool, l'éther, la plupart des solvants organiques et les huiles fixes (Chekoul, 2019).

II.9.1. Techniques d'analyse par la chromatographie en phase gazeuse

La CPG est basée sur le principe de la chromatographie de partage. La phase stationnaire étant un liquide non volatil réparti ou greffé sur un support inerte. La phase mobile est constituée d'un gaz inerte (H_2 , N_2 , He). La solution est injectée au moyen d'une seringue soit, manuellement soit, manuellement, soit avec un injecteur automatique qui permet d'obtenir une meilleure reproductibilité. La chambre d'injection est maintenue à une température telle que la vaporisation de l'échantillon se fasse dans un temps le plus court possible. La séparation des composés dépend du type de colonne utilisée et de la polarité de la phase stationnaire contenue. Après avoir choisi le type de colonne appropriée et un programme de température adéquat, la détection des composés élués est obtenue par un détecteur FID (détecteur à ionisation de flamme). Dans le cas des HEs, le FID est le détecteur le plus cité dans la littérature (Henniche, 2018).

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine la séparation et l'identification afin d'identifier et / ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par la spectrométrie de masse (Bounab, 2020).

Le couplage de la CPG avec un spectromètre infrarouge par transformée de Fourier (CPG/IRFT), est une technique d'analyse des composés fonctionnalisés permettant d'identifier des molécules dont les spectres de masse ne sont pas suffisamment différenciés, comme pour l'exemple des quatre isomères du farnésol, ceux du menthol, des acétates de

bornyle et d'isobornyle, du nérol et du géraniol qu'on peut distinguer sur la base de leurs spectres infrarouge. Le développement d'appareils permettant d'atteindre des seuils de sensibilité comparables à ceux de la CPG/MS font du couplage CPG/IRFT une technique de plus en plus intéressante dans l'analyse des arômes (**Touhami, 2017**).

II.10.Toxicité des huiles essentielles

Dans le monde actuel des produits naturels, il convient de ne pas utiliser ces substances de façon abusive. Les huiles essentielles doivent être prises à doses adaptées afin d'éviter les effets secondaires, parce que l'efficacité et la toxicité ce n'est souvent qu'une question de dose. La toxicité provient de la présence de certaines molécules aromatiques pour lesquelles des risques ont été identifiés suite à des tests. Une famille biochimique particulière, celle des cétones, est ici particulièrement visée : elle présente une neurotoxicité et un risque abortif. D'autres familles de composés s'avèrent être également toxiques. Les aldéhydes et quelques esters. Les conséquences sur notre santé vont de la photosensibilisation et aux risques d'avortement, dans les cas les plus graves (**Touil, 2018**).

Également les huiles essentielles des plantes aromatique de la famille des Lamiacées celles du thym, de la lavande, de la menthe, du basilic etc.; peuvent se révéler dangereuses lorsqu'elles sont ingérées à de fortes doses. Les intoxications décrites dans la littérature sont généralement causées par un usage incontrôlé. Les symptômes de ce type d'intoxication sont marqués par des crises de convulsions de type épileptique, parfois accompagnée de cyanose et interrompue par des phases hypotoniques et hyporéflexique. Elle peut aussi causer une perte de conscience (**Tabet Zatla, 2017**). Le caractère lipophile de ces huiles essentielles fait que même leurs utilisations par voie orale que par voie rectale ou par voie transcutanée est aussi toxique, par exemple des préparations pour des bains. Le menthol également n'est pas sans danger la dose mortelle pour l'homme est estimée à 2g et même leur administration pour instillation nasale ou d'autres produits à base de menthol utilisées pour les petits enfants peuvent déclencher un spasme létal de la glotte (**Tabet Zatla, 2017**).

Chapitre III: Application des huiles essentielles

III.1. Domaines d'application des huiles essentielles

En raison de leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière d'importance économique considérable. Elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels allant du domaine des arômes et parfums, en pharmacie par leurs pouvoirs antispasmodique, antidiabétique, analgésique, apéritif, antiseptique, en alimentation par leur activité antioxydante et leur effet aromatisant, comme bio-insecticides ou encore des ingrédients pour la chimie verte, de nombreuses publications prouvent leur efficacité anti-tumorale **(Bouchemella, 2020)**.

III.1.1 Industrie de la parfumerie et de la cosmétique

Les huiles essentielles sont fréquemment utilisées dans la cosmétique et dans le secteur des produits d'hygiène naturels et synthétiques. Elles sont intégrées dans des analgésiques pour la peau, les produits solaires. On les retrouve aussi dans la préparation pour bains intégrées aux huiles de massage, leur teneur ne doit pas dépasser 3 à 4%. Ainsi le menthol est utilisé dans les dentifrices, mousses nettoyantes, aliments, cigarettes et des préparations pharmaceutiques solaires. L'huile de menthe poivrée est la troisième saveur mondiale, derrière les saveurs de vanille et citron **(Bouchemella, 2020)**.

III.1.2 En pharmacologie

Depuis l'antiquité l'Homme utilise les huiles essentielles ou plutôt les plantes aromatiques pour se soigner. Il est important de différencier l'usage traditionnel des huiles essentielles, où elles sont utilisées telles quelles des applications qu'on fait l'industrie pharmaceutique ou encore l'aromathérapie qui gagne du terrain à mesure que l'intérêt de l'utilisation des huiles essentielles est reconnu **(Bouchemella, 2020)**.

III.1.3 les huiles essentielles en chimie verte

En 1998 Paul Anastas et John Warner de l'agence américaine de l'environnement ont édicté les douze principes de la chimie verte, le septième principe a pour objet l'emploi de matières premières renouvelables, les HE seraient de bonnes alternatives bio-sourcée au sens de durabilité et biodisponibilité **(Bouchemella, 2020)**.

Ainsi les HE sont une source inépuisable aussi bien pour la chimie en gros volume que pour la chimie fine. Pour la première catégorie on cite l'exemple de l'essence de térébenthine qui constitue 30% de la résine des pins sachant que c'est un sous-produit de

l'industrie papetière, avec une production mondiale annuelle en 1995 de 330 000 tonnes. Aussi le limonène est un terpène qu'on trouve abondamment dans l'huile de peau d'orange ou de citron et qui est un sous-produit de l'industrie des jus d'agrumes. Pour leurs applications dans la deuxième catégorie c'est-à-dire en chimie fine on cite l'exemple du citral ($C_{10}H_{16}O$) qu'on trouve abondamment dans l'HE de citronnelle qui grâce à sa fonction aldéhyde et ses insaturations offre la possibilité de nombreuses réactions conduisant à la vitamine A. Les HE sont aussi utilisés comme solvants industriels, vu que les solvants classiques; dérivés de pétrole présentent une nocivité certaine pour leur utilisateur ainsi que les risques d'inflammation. Ainsi le d-limonène est une source renouvelable vu sa biodégradabilité, son abondance et son faible coût pour son utilisation nettoyante et dégraissante (**Bouchemella, 2020**).

III.2.Utilisations

En aromathérapie, il existe 4 manières principales d'utiliser les HE : la voie olfactive, cutanée, orale ou rectale. Selon la composition chimique et les applications thérapeutiques de chaque HE, il est possible d'en déterminer les moyens d'absorption idéaux et ceux qui doivent être proscrits. Il faut savoir que certains composants sont irritants ou toxiques pour les muqueuses cutanées et respiratoires, ce qui proscrit les voies cutanée et olfactive. D'autres sont toxiques pour le foie ou le système nerveux. Ces constatations montrent l'importance de connaître la composition chimique de chaque HE, afin de les utiliser en toute sécurité (**Laurent, 2017**).

III.2.1 Voie olfactive

III.2.1.1. Diffusion atmosphérique

Les HE s'utilisent purs dans un diffuseur électrique par nébulisation à froid. Cette technique est la plus efficace pour assurer la diffusion des HE. Sans être chauffées, les HE sont projetées en minuscules gouttelettes et se dispersent dans l'atmosphère. La diffusion ne se fait jamais en continu. Pour éviter de saturer l'air en molécules aromatiques et de risquer des irritations, il est recommandé de diffuser les HE, à raison de 15 minutes toutes les heures au maximum pour un adulte et de 5 minutes/heure pour les enfants de 6 à 12 ans et en dehors de leur présence pour les plus petits. La quantité pour 24 h est de 20 à 30 gouttes en fonction du débit du nébuliseur. Il est conseillé de ne pas laisser une HE plusieurs jours dans le diffuseur d'arômes, car elle pourrait s'oxyder au contact de l'air et donc altérer son odeur et

ses propriétés. Il est également contre indiqué d'utiliser la diffusion pour les patients asthmatiques et allergiques (**Laurent, 2017**).

III.2.1.2. Inhalation

Deux types d'utilisation :

- **Inhalation humide** : L'inhalation humide s'utilise notamment pour le confort de voies aériennes supérieures. Cette voie est déconseillée pour les enfants de moins de 12 ans, ainsi qu'en cas d'asthme, de couperose et d'irritation du visage. Mode d'emploi : Verser de l'eau bouillante dans un bol ou un inhalateur et ajouter 1 à 2 gouttes d'HE. Attendre 1 à 2 minutes avant de commencer l'inhalation, car les vapeurs trop chaudes peuvent brûler les voies respiratoires. Enfermer le visage au-dessus des vapeurs à l'aide d'une serviette. Respirer la vapeur pendant 5 minutes en fermant les yeux. On peut utiliser un bol et une serviette, mais le mieux est d'employer un inhalateur, car cela permet d'éviter le contact des vapeurs avec les yeux. Il est fortement conseillé de procéder aux inhalations humides le soir, car il ne faut pas sortir juste après ni s'exposer au froid ou à la pollution. En effet, les vapeurs d'eau vont dilater les muqueuses et les rendre perméables à n'importe quel microbe. De plus le froid peut les irriter. Pour augmenter l'efficacité de l'inhalation, il faut au préalable nettoyer la muqueuse nasale avec un spray d'eau de mer. Les inhalations humides sont contre-indiquées chez les personnes allergiques ou asthmatiques et déconseillées chez les enfants de moins de 12 ans (**Laurent, 2017**).

- **Inhalation sèche** : Elle est plus facile d'utilisation. Elle consiste simplement à imprégner un mouchoir ou l'oreiller, de 2-3 gouttes pures d'HE et le respirer à fond, plusieurs fois dans la journée. De même, pour améliorer l'efficacité il faudra nettoyer les muqueuses avant utilisation (**Laurent, 2017**).

III.2.2. La voie orale

Elle doit être utilisée uniquement sur conseils du médecin d'aromathérapie. Il faut jamais prendre une huile pure dans la bouche peut se produire des brûlures. Aussi, nous conseillons de ne jamais prendre plus de trois gouttes (**Ben cheikh, 2017**).

III.2.3. La voie cutanée

En friction (l'HE d'Hélichryse italienne pour faire disparaître les ecchymoses), en compresse (l'HE de Géranium bourbon et d'arbre à thé pour les peaux grasses), en massage

(HE de camomille, de jasmin et de rose pour un effet relaxant), dans le bain (HE de citronnelle ou de pamplemousse pour un bain énergisant) **(Ben cheikh, 2017)**.

a) Application cutanée simple

Cette voie est très utilisée pour les HE, elle est peu toxique et facile d'emploi. La volatilité des HE lors d'une application cutanée, permet également d'explorer la voie pulmonaire par inhalation. Ce mode d'action est très puissant, car les HE sont lipophiles et traversent facilement les couches cutanées pour rejoindre la circulation sanguine. La pénétration cutanée se fait de façon rapide, en dix minutes environ, du fait de la faible masse molaire des composants et de leur affinité pour le stratum corneum. Ce passage se fait également de manière progressive et permet une rémanence importante **(Laurent, 2017)**.

b) En compresse

Cette forme est employée pour prolonger le contact de l'HE avec la peau. On s'en sert surtout dans les cas d'entorse, de mal de tête ou de migraine.

-En compresse fraîche : avec de l'eau à 20°C que l'on applique sur une compresse de gaz, qu'on essore, puis on ajoute les HE. C'est une utilisation intéressante en cas d'inflammation et de douleurs inflammatoires, douleurs intenses (car le froid anesthésie), brûlures, urticaire, piquûre d'insecte ou herpès.

-En compresse chaude : De la même manière, on applique de l'eau chaude du robinet (maximum 45°C pour éviter les brûlures) et on ajoute des HE selon les besoins. On entoure la compresse d'une serviette pour maintenir au chaud plus longtemps. La chaleur est indiquée pour traiter une douleur type « contracture », douleurs de règle ou musculaire, névralgies **(Laurent, 2017)**.

c) En massage

L'intérêt de l'application cutanée simple est renforcé par le massage, car cela favorise la circulation sanguine et donc la diffusion des HE. Les massages sont surtout employés dans les cas de :

- -Troubles de la circulation et cellulite
- -Douleurs et fatigue musculaires
- -Troubles nerveux (stress, angoisse, difficultés d'endormissement...) **(Laurent, 2017)**.

III.3. Utilisation de *Pelargonium graveolens* dans les divers domaines

III.3.1. Les propriétés thérapeutiques

Les tiges de *Pelargonium* sont utilisées en médecine traditionnelle pour soigner les plaies et les brûlures superficielles en cas de grande fatigue ou de stress et pour le soulagement des hémorroïdes, de la dysenterie, de l'inflammation et du cancer. Elle a été également utilisée dans les industries de la parfumerie, de la cosmétique et de l'aromathérapie. Les extraits de cette plante présentent des activités antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et des effets acaricides. C'est donc une source potentielle d'ingrédients actifs pour l'industrie alimentaire et pharmaceutique (Saraswathi *et al.*, 2011; Ben Hsouna et Hamdi, 2012 ; Asgarpanah et Ramezanloo, 2015).

III.3.2. Emploi de l'huile essentielle en médecine traditionnelle et aromathérapie

Le *Pelargonium graveolens* employé traditionnellement contre diabétique, cette plante a été aussi utilisée pour traiter une variété de symptômes, notamment : néphrite, plaies, fièvre, rhumes et maux de gorge, inflammation, au fil du temps il a fait ses preuves pour aider à gérer ces maladies. Il est utilisé en médecine moderne, d'après sa composition chimique riche en alcools terpéniques, cela a prouvé que HE de *Pelargonium graveolens* a des propriétés thérapeutiques importantes. Les aromathérapies distinguent par différents modes d'administration des huiles essentielles. Le conditionnement habituel est sous forme de flacon de verre brun de 5ml, le prix est variable de 5 à 15 euros, le volume de commande est illimité. La disponibilité du produit est assez importante. On la trouve sur les marchés itinérants, en parapharmacie et via le commerce électronique ou on note une abondance des sites (David, 2009).

III.3.3. Agroalimentaire

Les HEs de Géranium de Bourbon, d'Algérie et du Maroc ont été reconnues GRAS par la FEMA (Flavor and Extract Manufacturers Association) et approuvées par la FDA pour l'usage alimentaire. Cette HE est également enregistrée par le Conseil de l'Europe dans la liste des épices et des condiments jugés acceptables pour usage alimentaire avec une éventuelle limitation du principe actif dans le produit final 5 (Atailia, 2016)

III.3.4. Parfumerie et cosmétiques

L'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* est depuis la moitié du 19^{ème} siècle une importante matière première de qualité pour l'industrie de la parfumerie. Ses propriétés cutanées ainsi que son odeur suave, puissante et rappelant la rose lui valent une place non négligeable dans nombre de parfums, crèmes et produits cosmétiques (**Atailia, 2016**).

PARTIE II

Etude expérimentale

Chapitre

IV. Matériel et méthodes

IV.1. Objectif

Le présent travail vise à trouver un nouveau conservateur alternatif aux substances synthétiques largement utilisées en industrie agroalimentaire. Notre choix est tombé sur l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens*, en raison de sa richesse en métabolites secondaires antioxydants et antimicrobiens.

La partie expérimentale est réalisée au niveau des laboratoires pédagogiques de la faculté des sciences et de la technologie de l'université de Relizane dans une période allant de 08/02/2024 jusqu'à 21/04/2024.

Plusieurs axes sont évoqués dans cette partie et qui sont comme suit:

1. Caractérisation biochimique de la plante.
2. Extraction des huiles essentielles et détermination des différents indices biochimiques.
3. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile extraite.
4. Application de l'huile en tant que conservateur d'un jus d'orange naturel (Figure 06).

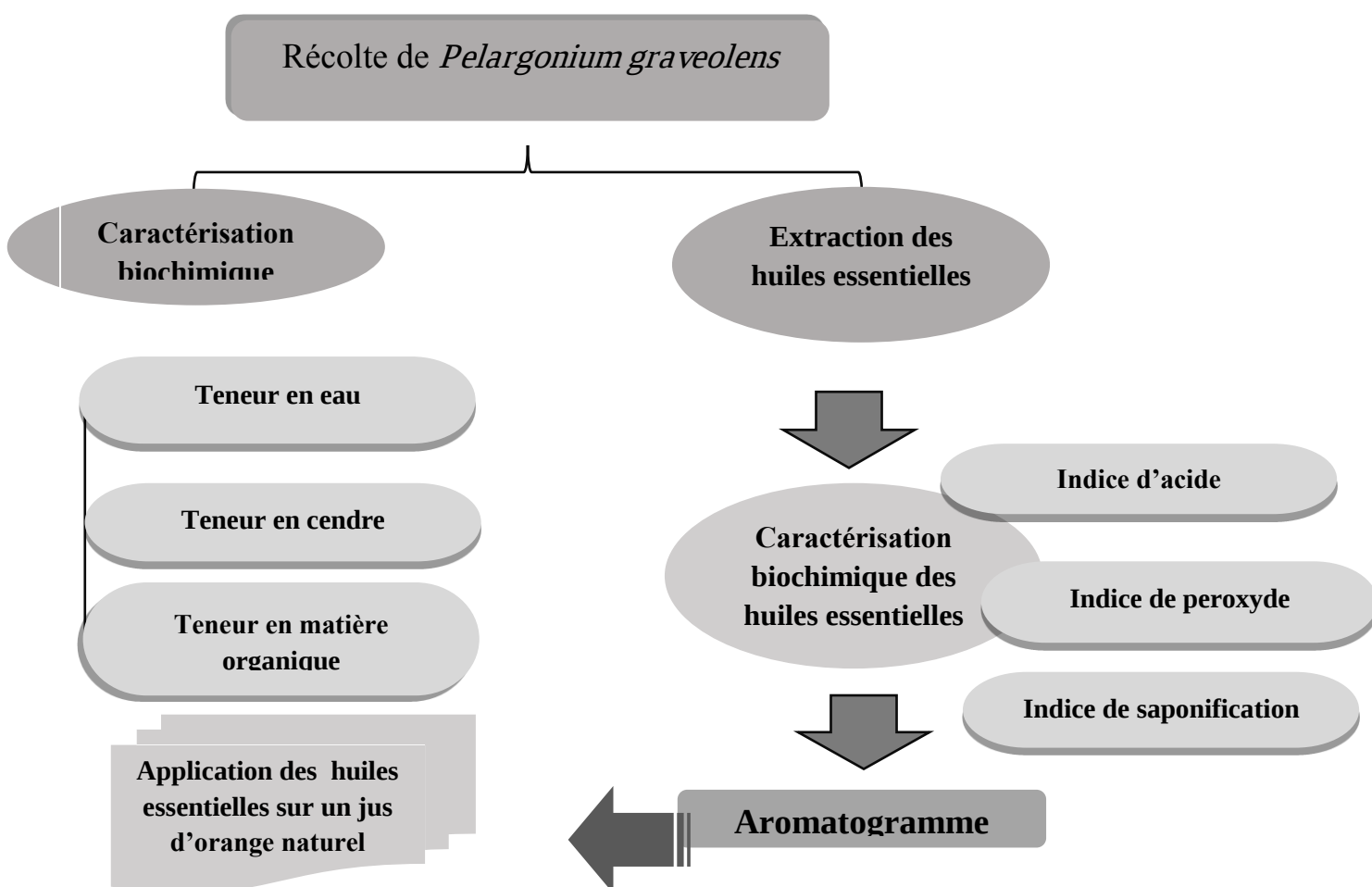


Figure (06): Schéma récapitulatif du protocole expérimental

IV.2. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué du *Pelargonium graveolens*, cette plante est récoltée dans la wilaya de Relizane en mois de Février 2024 (Figure 07).



Figure (07): Photo du matériel végétal (*Pelargonium graveolens*)

la localisation géographique de cette région est récapitulée dans le tableau suivant:

Tableau (04): Localisation géographique de la zone de récolte

Plante	Région de récolte	Longitude	Altitude	Latitude
<i>Pelargonium graveolens</i>	Relizane	0°33'21" Est	98 m	35°44'14" Nord

L'authentification de la plante a été faite par un botaniste de la faculté des sciences et de la technologie de l'université de Relizane.

IV.3. Souches microbiennes

Trois souches microbiennes (*Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aerogenosa*) sont utilisées pour tester l'activité antimicrobienne de l'huile

essentielle extraite à partir *Pelargonium graveolens*. Les souches sont isolées et identifiées dans le laboratoire Ecchifa situé à Chlef.

IV.4. Caractérisation biochimique de la plante

La caractérisation biochimique constitue une identification préliminaire des plantes avant toute analyse, en effet, trois paramètres sont déterminés:

IV.4.1. Teneur en eau

IV.4.1.1.Principe

La teneur en eau d'un échantillon est déterminée soit par la perte de poids lorsque celui-ci est séché, soit par la quantité d'eau obtenue par distillation. Elle est exprimée en pourcentage du poids de l'échantillon initial (**Chavagnat, 1984**).

IV.4.1.2.Mode opératoire

Un gramme de la plante fraîche est placé dans une boîte de pétri, l'ensemble est mis dans une étuve réglée à $100 \pm 3^{\circ}\text{C}$. Après trois heures, les boîtes sont retirées de l'étuve et laissées refroidir dans un dessiccateur. Après refroidissement les boîtes sont pesées. Ces dernières sont remises à l'étuve puis pesées encore une fois, l'opération est répétée plusieurs fois puis s'arrête dès qu'on obtient une masse constante. La teneur en eau est calculée selon la formule suivante:

$$H\% = \frac{(M1-M2)}{P} \times 100$$

M1 : Masse initiale en g avant dessiccation

M2 : Masse finale en g après dessiccation

P : Poids de la prise d'essai

Le taux de la matière sèche exprimé selon l'équation suivante :

$$MS\% = 100 - H \%$$

IV.4.2. TENEUR EN CENDRE (NF V05-113, 1972)**IV.4.2.1. Principe**

La plante est calcinée à 550 °C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant.

IV.4.2.2. Mode opératoire

Dans des creusets, une prise d'essai de 2 g de la plante est placée. Ensuite l'ensemble est porté à une incinération dans un four à moufle réglé à 550 ± 15 °C pendant 5 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise claire ou blanchâtre. Les creusets sont retirés du four, placés dans un dessiccateur, puis pesés.

Le pourcentage de la matière organique (MO) est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{MO}\% = \frac{(M1-M2)}{P} \times 100$$

M1 : Masse initiale en g avant incinération

M2 : Masse finale en g après incinération

P : poids de la prise d'essai

Donc la teneur en cendre est calculée selon la relation suivante :

$$\% \text{ de cendre} = 100 - \% \text{ MO}$$

IV.5. Extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation**IV.5.1. Principe**

Le principe de cette méthode d'extraction est basé sur l'ébullition du matériel végétal. La vapeur d'eau et l'essence se condensent dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'eau par différence de densité (El Hamdouni, 2013).

IV.5. 2. Mode opératoire

Cinq grammes de *Pelargonium graveolens* sont introduits dans un ballon. L'ensemble est placé dans un montage d'hydrodistillation puis porté à l'ébullition pendant environ 3h. La vapeur issue de la distillation est condensée dans un réfrigérant puis récupérée. L'hydrolat est soumis par la suite à une étape d'extraction (liquide/liquide) dans une ampoule à décanter, en

utilisant le cyclohexane et un relargateur, le chlorure de sodium (NaCl)(Boukhanoufa et al., 2019). La phase aqueuse est éliminée. Ensuite, les huiles sont récupérées de la phase organique suite à l'utilisation d'un rotavapor (Figure 08). Le rendement d'extraction est calculé selon l'équation suivante:

$$\% R = \frac{\text{Poids de l'huile essentielle en gramme}}{\text{Poids de la plante fraîche utilisé en gramme}} \times 100$$



Figure (08): Extraction des huiles essentielles. a: Montage d'hydrodistillation employé, b: séparation liquide liquide des huiles essentielles, c: élimination du solvant d'extraction, cyclohexane.

IV.6. Détermination des paramètres chimiques de l'huile

Les caractéristiques chimiques (Indice d'acide, indice de saponification, et indice de peroxyde) sont déterminées par la méthode volumétrique(Kouamé et al., 2015).

IV.6.1. Indice d'acide (IA)**IV.6.1.1.Principe**

L'indice d'acide dépend essentiellement des conditions de conservation et surtout des conditions d'extraction, il est défini comme étant le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielles(AFNOR-NFT-60-2000).

IV.6.1.2.Mode opératoire

Un gramme d'huile essentielle est introduit dans une fiole, ou on ajoute 5 ml d'éthanol l'ensemble est agité vigoureuse suivi d'un titrage par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (CKOH=0.1 mol/L). En présence de 5 gouttes de phénolphthaléine. Le volume de KOH qui a servi à la neutralisation est lu directement sur la burette (Goudjil, 2016). L'indice d'acide est exprimé selon la formule suivante :

$$IA = (56,11 \times N \times V) / m$$

N : Normalité de KOH

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

m : Masse en gramme de l'huile essentielle

IV.6.2. Indice de saponification (Is)**IV.6.2.1. Principe**

L'indice de saponification correspond à la masse de potasse (KOH) - en mg - nécessaire pour saponifier les esters d'acides gras et neutraliser les acides gras non estérifiés dans un gramme de matière grasse/corps gras (Norme NF ISO 365).

IV.6.2.2. Mode opératoire

Un gramme de matière grasse a été pesé dans un ballon à fond plat auxquels ont été ajoutés 10 ml de potasse alcoolique 0,5 N. L'ensemble adapté à un réfrigérant ascendant a été porté au bainmarie bouillant pendant une heure en agitant de temps en temps. Pour s'assurer que les acides libres contenus dans la matière grasse ont été neutralisés, on y a ajouté 5 ml d'eau distillée et 3 gouttes dephénolphthaléine. L'excès de potasse a été titré avec l'acide chlorhydrique 0,5 N jusqu'à la décoloration totale.

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

$$IS = \frac{V_0 - V}{P} \times N \times 56,11 = V_0 - V / P \times N \times 56,11$$

Soit :

V_0 : volume en ml de HCl utilisé pour l'essai à blanc.

V : volume en ml de HCl utilisé pour l'échantillon à analyser.

P : prise d'essai en grammes.

N : normalité de KOH(0,5). 56,11 : poids moléculaire de KOH.

IV.6.3. Indice de peroxyde

IV.6.3.1. Principe

Il est basé sur le traitement de l'huile en solution dans de l'iode acétique et du chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI), c'est le titrage de l'iode libéré par une solution titrée de thiosulfate de sodium, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Lion, 1955).

IV.6.3.2. Mode opératoire

Un gramme de matière grasse a été pesé dans un erlenmeyer de 250 ml auquel ont été ajoutés 25 ml de solvant d'acide acétique et de 25 ml chloroforme. L'agitation est faite de manière régulière jusqu'à ce que la matière grasse soit dissoute dans le solvant. Le mélange a été laissé au repos pendant 15 minutes avec une agitation d'une minute par intervalle de 5 minutes, ensuite il y a un ajout de 35 ml d'eau distillée et 3 gouttes d'empois d'amidon 1 %. Enfin ce mélange a été dosé avec le thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,01 N jusqu'à la disparition de la couleur jaunâtre (Kouaméet *al.*, 2015). L'indice de peroxyde est déterminée selon la formule suivante :

$$IP = (VE - V_0) \times N \times 1000 / P$$

Avec :

V_0 = Volume de Thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) versé dans le blanc (ml)

VE = Volume de Thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) versé dans l'échantillon (ml)

N = Normalité de Thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)

P = prise d'essai (g)

IV.7. Aromatogramme

IV.7.1.Principe

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode d'aromatogramme qui permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis à vis de l'huile essentielle donnée. La méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier buvard de 6mm de diamètre, préalablement imprégnés de quantités connues d'huile essentielle (07µl), sont alors placés en surface de la gélose. Généralement, les microorganismes seront classés susceptibles, intermédiaires ou résistants, selon le diamètre de la zone d'inhibition (**Wilkinson, 2006**).

IV.7.2. Mode opératoire

Un volume de 15 ml approximativement du milieu Muller Hinton (MH) est versé dans chaque boîte de pétri sous la zone stérile du bec bunsen. Après solidification, les souches microbiennes sontensemencées par écouvillonnage de la surface avec un charge de 10^6 UFC/ml, sachant que les souches jeunes âgées de 18 h sont placées à raison de trois colonies par 5 ml d'eau physiologique et l'ajustement de la densité est fait à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 600 nm. Ensuite un disque du papier watman stérile est imprégné d'un volume de 7µL de l'huile essentielle. En parallèle, l'eau physiologique stérile est utilisé comme un témoin positif.

Les souches microbiennes ont été testées de la même façon par les antibiotiques indiqués dans le tableau suivant:

Tableau (05): Résultats d'antibiogramme des antibiotiques utilisées vis-à-vis les souches microbiennes.

	Diamètre d'inhibition de <i>Candida albicans</i> (mm)	Diamètre d'inhibition de <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> (mm)	Diamètre d'inhibition de <i>Pseudomonas</i> <i>aerogenosa</i> (mm)
PRL	11	0	0
AX	15	0	0
L	9	0	0
AU	9	0	0
TEC	9	0	0
TC	0	0	0
NA	0	0	0
TR	18	0	0
CXN	14	0	0

La sensibilité aux différentes huiles essentielles est organisée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit:

- non sensible (-) pour le diamètre moins sensible de 6 mm;
- sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm ;
- très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15-19 mm
- extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm (**Ponce *et al.*,2003**).

IV.8. Utilisation de l'huile essentielle dans la conservation de jus d'orange frais

Après avoir obtenu un litre de jus d'orange pressé, l'ajout de l'huile essentielle stérile est effectué dans des conditions stériles. Alors que l'huile essentielle ajoutée a été stérilisée par filtration à l'aide d'un filtre stérile de 0,22 µm. Trois flacons d'un volume de 100 ml de jus sont préparés. Ensuite chaque flacon est additionné 0 µL, 50 µL et 100 µL de l'HE (Figure 09).

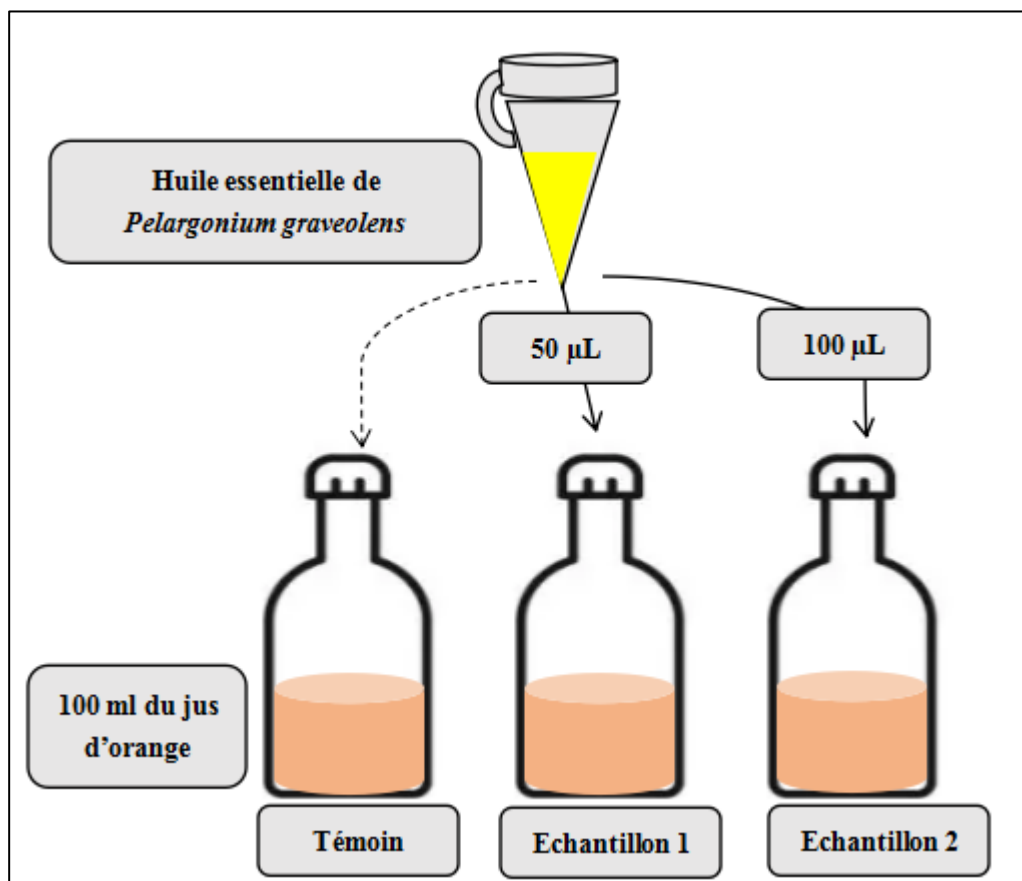


Figure (09): Schéma récapitulatif de l'utilisation de l'HE de *Pelargonium graveolens* en tant que conservateur de jus d'orange naturel.

IV.8.1. Analyse microbiologique de jus

Selon le journal officiel de la république algérienne N° 39, Correspondant au 2 juillet 2017, les germes recherchés et dénombrés dans le jus sont: Coliformes totaux, coliformes fécaux, *Salomonella sp*, levure et moisissure. L'analyse a été faite le jour de la préparation du jus, puis répété sur les mêmes échantillons le 10^{ème} et le 21^{ème} jours.

IV.8.1.1. Préparation des dilutions décimales

Pour chaque échantillon, 1 ml du jus à analyser a été introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique, ainsi la solution mère qui correspond à la dilution 10^{-1} a été obtenue, à partir de laquelle des dilutions décimales jusqu'à 10^{-6} ont été préparées (**Guiraud, 2003**).

IV.8.1.2. Dénombrement des coliformes

Le principe consiste à compter les colonies caractéristiques des coliformes totaux qui se développent en 24 h à 37°C et les coliformes fécaux qui se développent en 24 h à 44°C, sur la gélose Mac Concky puis à confirmer le nombre de colonies par fermentation du lactose, il s'agit d'un dénombrement de coliformes **(NF ISO 4832)**. Dans deux séries des boîtes de pétri, 1 ml d'échantillon est transféré suivi de 10 à 15 ml de milieu en surfusion, puis l'ensemble est mélangé avec précaution par rotation lente en forme de huit et laissé se solidifier. La première série a été incubée à une température de 37°C pendant 24/48 heures pour la recherche de coliformes totaux et la deuxième série est incubée à 44°C pendant 24 heures pour la recherche de coliformes fécaux. Après incubation, les colonies rouges sont comptées, ayant un diamètre d'au moins de 0,5 mm. Le nombre de coliformes par gramme est donné par la formule suivante:

$$N = C \times \frac{1}{d}$$

C : nombre de colonies ; d : facteur de dilution.

IV.8.1.3. Dénombrement des salmonelles

La recherche des salmonelles se fait en suivant trois étapes qui sont : le pré-enrichissement, l'enrichissement et l'isolement sur un milieu sélectif. □

- **Pré-enrichissement**

Le pré-enrichissement s'effectue en bouillon de sélénite, l'intérêt de cette étape pour la plupart des produits analysés. Elle permet la récupération des bactéries stressées **(Geldel, 1996)**. Une quantité de 25 g du produit ont été prélevés et additionnés aux 225 ml d'eau peptonée puis mélangés jusqu'à dissolution complète du produit. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 heures. □

- **Enrichissement**

Un volume de 1ml de la solution de pré-enrichissement de chaque produit a été introduit dans des tubes à essai contenant 10ml de sélénite cystéine. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 heures □

- **Isolement sur gélose Salmonelle- Schigella ou milieu (SS)**

Un volume de 0,1ml de contenant des tubes positifs a été ensemencé à la surface des boîtes de pétri préalablement coulées par le milieu SS. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 heures. Les salmonelles se présentent sous formes des colonies translucides avec un centre noir.

IV.8.1. 3. Dénombrement des levures et des moisissures

L'isolement des levures et des moisissures nécessite des milieux sélectifs contenant des substances antibactériennes (**Guiraud, 2003**). Le milieu OGA est le milieu le plus utilisé, auquel un antibactérien est ajouté afin d'inhiber tout développement bactérien. La gélose OGA préalablement fondue et refroidie a été répartie dans des boîtes de pétri vides. De l'oxytétracycline (1mg/ml) lui a été ajoutée et l'ensemble et homogénéisée. Après solidification, 0,1 de la dilution 10^{-1} ml a été ensemencé en surface. L'incubation a été faite à une température de 25°C pendant 3 à 5 jours. Les levures et les moisissures sont de formes, de couleur, d'aspect et de taille variables (**Sina, 1992**).

IV.9. Etude statistique

Les résultats de l'activité antimicrobiennessont traités par l'analyse de variance (ANOVA) à l'aide d'un logiciel statistique SPSSversion 19 pour déterminer la signification des différences des paramètres au seuil de signification de 0,0

Chapitre V:

Résultats et discussion

V.1. Caractérisation biochimique de la plante

V.1.1. Teneur en eau

Après avoir déterminé la teneur en eau, les résultats sont regroupés dans le tableau suivant:

Tableau (06): Résultats de la teneur en eau et de la matière sèche de *Pelargonium graveolens*

	Poids avant séchage (g)	Poids après séchage (g)	H (%)	MS (%)
<i>Pelargonium graveolens</i>	82,41 ± 16,58	81,60 ± 16,58	82,33 ± 1,53	17,67 ± 1,53

A propos des résultats du tableau, la plante semble riche en eau 82,33 ± 1,53%, contre 17,67 ± 1,53 de la matière sèche.

La teneur en humidité de l'extrait de *P. graveolens* était de 5,783 ± 0,067 % et la teneur en matières solides était de 94,217 ± 0,067 %. Le pourcentage d'humidité des feuilles de *P. graveolens* se situe dans la plage acceptable (5 % à 8 %), ce qui suggère que la formulation peut être conservée longtemps et ne sera pas facilement infectée par des bactéries (Boukhatem et al., 2010).

Cette teneur diffère d'une plante à une autre, par exemple, le figue de barbarie possède une fraction humide égale à 93,63 ± 0,36 % (Bourihane et Boutaleb, 2022). La variation de la teneur en eau peut être attribuée au facteur variétal, au degré de maturation, aux caractéristiques pédoclimatiques et aux conditions de stockage.

V.1.2. Teneur en cendre

Tableau (07): Résultats de la teneur en cendre et de la matière organique de *Pelargonium graveolens*

	Poids avant séchage (g)	Poids après séchage (g)	Cendre (%)	MO (%)
<i>Pelargonium graveolens</i>	60,02 ± 0,32	59,13 ± 0,32	11,33 ± 0,58	88,67 ± 0,58

La teneur en cendre de cette plante (11,33 ± 0,58 %) est proche aux travaux de Abba et al. (2008), ou, les paramètres physiques de *P. graveolens* ont montré des valeurs des cendres

totales égales à $11,919 \pm 0,15$ % (Jawzal, 2024). Par contre, les résultats de la teneur en cendre des résidus d'orange montre une valeur égale à 5.6%. (Khalfa et Hamrouche, 2021). le taux des cendres se diffère à cause de l'âge de l'organe incinéré, les conditions climatiques du lieu de croissance de la plante et la composition du sol.

V.2. Paramètres physico-chimiques des huiles essentielles

Les caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle obtenu son regroupées dans le tableau suivant.

Tableau (08) :Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles du *Pelargonium graveolens*

	Rendement d'extraction (%)	Indice d'acide	Indice de saponification mg KOH/g	Indice de peroxyde meq d'O ₂ /Kg	pH
Huile essentielle de <i>Pelargonium graveolens</i>	0.10 ± 0.03	$13,09 \pm 1,21$	$69.5 \pm 2,35$	4 ± 0.50	$4,8 \pm 0.2$

L'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* se caractérise par une couleur jaunâtre, un aspect visqueux et une odeur florale prononcée caractéristique de cette plante (Figure 10). Les mêmes caractéristiques sont trouvées avec une couleur jaune verdâtre et une odeur prononcée de rose citronnée (Boukhatem et al., 2010). Les paramètres organoleptiques de notre HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR.



Figure (10): Aspect de l'huile essentielle *Pelargonium graveolens*

Le rendement d'extraction obtenu est inférieur à celui enregistré dans les travaux de **Boukhatem et al. (2010)**, ou, ils ont constaté une valeur de 0,25% par rapport à une simple décantation (0,2%). Même, l'AFNOR a fixé un pourcentage de 15% de l'huile extraite.

Le rendement obtenu dans notre travail est inférieur par rapport aux résultats de plusieurs auteurs dont les rendements varient entre 0.12 et 0.16% (**Andriamanalina, 2003; Shawl et al., 2006; Gomes et al., 2007; Saxenaa et al., 2008**).

Selon Bruneton, 1999, la période estivale reste la mieux propice pour extraire des quantités appréciables en HE de cette plante avec un rendement satisfaisant. Ce rendement a montré aussi une variation selon l'origine de la plante en France (0,15%), Portugal (0,2), USA (0,18%), et au Maroc (0,1%).

Il est à noter aussi que, la séparation de l'huile essentielle après condensation est en fait l'étape déterminante pour recueillir le maximum d'huile essentielle (**Lagunez, 2006**). La méthode d'extraction est une opération importante qu'il faut mener avec soin. Par ailleurs, la collecte, le séchage, le stockage à l'extraction-influencent largement sur le rendement ainsi que la qualité des extraits (**Benjilali, 2005**).

Aussi, ce rendement est tributaire de plusieurs facteurs. 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 les pélargoniums (**Demarne, 1985**).

Concernant l'indice d'acide, Notre valeur ($13,09 \pm 1,21$) est proche aux normes mais demeure relativement élevé. Cela peut trouver une explication dans la dégradation de l'HE (hydrolyse des esters) durant sa conservation, ce qui est à terme préjudiciable. Inversement, un IA inférieur à 2 est une preuve de bonne conservation de l'essence (faible quantité d'acides libres)(**Kanko et al., 2004**).

Un indice de saponification correspond à des acides gras comportant une chaîne de carbone plus longue. Dans notre étude, l'indice de saponification de l'HE du géranium est de $69.5 \pm 2,35$ mg KOH/g.

L'indice de peroxyde est un critère de qualité, il permet de voir l'état d'oxydation des huiles et de contrôler les premières étapes de l'altération oxydative (**Chimi, 2005**). L'oxydabilité d'une huile dépend en grande partie de la nature des acides gras constitutifs. De plus une huile est riche en acides gras insaturés, plus elle devient sensible à l'oxydation.

Les peroxydes sont des intermédiaires dans la réaction d'oxydation conduisant à la détérioration des lipides. Par conséquent, un indice de peroxyde élevé est une indication de la sensibilité d'une huile au rancissement (Belewu et al., 2010).

Après introduction de l'électrode de pH-mètre dans l'huile et la lecture d'une valeur de 4,8, est indiquée sur l'écran digital. Donc, la nature de cette huile est acide.

V.3.Aromatogramme

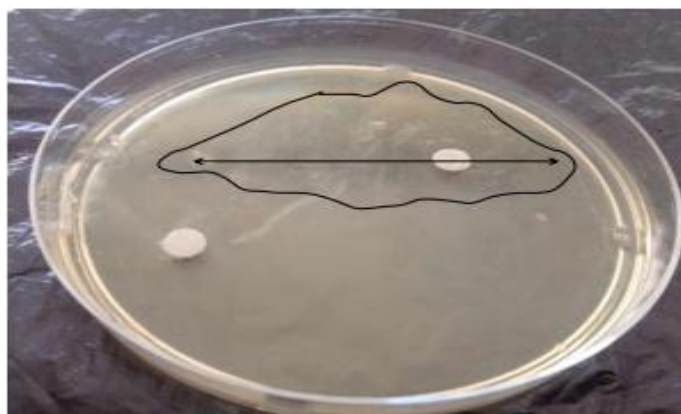
Les résultats de l'aromatogramme sont évoqués dans le tableau N°09

Tableau 09 : Activité antimicrobienne de HE de *Pelargonium graveolens*.

	Dimètre la zone d'inhibition(mm)		
	Huile essentielle de <i>Pelargonium graveolens</i>		L'eau physiologie stérile
<i>Candida albicans</i>	30	+++	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	+	-
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	7	+	-

D'après les résultats obtenus, on a pu observer que l'HE de *Pelargonium graveolens* semble antifongique, suite au diamètre de la zone d'inhibition enregistré vis-à-vis *Candida albicans* (30 mm) ce qui indique que cette souche est hautement sensible à cette substance bioactive (Figure 11). En parallèle, les deux souches bactériennes, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aerogenosa* étaient résistantes aux huiles étudiées avec des diamètres d'inhibition de 8 mm et 7 mm respectivement.

En se référant, aux résultats de l'antibiogramme, cette huile semble puissante en matière de son activité antifongique, par rapport aux antibiotiques testés.



.Figure (11): Effet antifongique de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* vis-à-vis *Candida albicans*

Par contre, le screening de l'activité antimicrobienne de l'HE du *Geranium odorant*, a révélé que les bactéries Gram + sont plus sensibles à l'action inhibitrice de cette HE que les Gram -. En fait, ces dernières possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides, qui est en relation avec la nature de leur paroi bactérienne (Nikaido, 1996; Tepe et al., 2005; Gille, 2010). Selon Farag et al. (1989); Marino et al.(1999), les bactéries Gram (+) sont généralement plus sensibles aux HE que les bactéries Gram(-).

l'HE de *Pelargonium asperum* présente une forte activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) et d'*Escherichia coli* d'origine clinique.

Selon Poole, 2001; Burt, 2004; Busatta et al., 2008, la grande résistance des bactéries à Gram (-) aux H.Es est liée en partie à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui contient une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries à Gram (+).

D'après les résultats, on note que l'extrait obtenu de l'huile essentielle n'est pas efficace contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats semblent contradictoires avec de nombreuses études qui confirment l'efficacité de ce composé (huile essentielle de *Pelargonium graveolens*) contre de nombreuses bactéries, y compris *Staphylococcus aureus* mais il était plus active sur *Candida albicans* (Ghannadi et al., 2012; Marmar, 2013; Nabhi, 2014; Atilia, 2016; Echaima, 2018).

Hammer et *al.*,1999 ont mené une étude exhaustive sur l'activité antimicrobienne d'une dizaine d'huiles essentielles et de leurs composés majoritaires. Leur étude a révélé que l'huile essentielle de Géranium possède un fort pouvoir inhibiteur contre *Candida albicans*.

L'activité antifongique des huiles essentielles fait l'objet de nombreuses études scientifiques *in vitro* depuis plusieurs années. Cependant, les méthodes utilisées pour évaluer cette activité sont variées et peuvent parfois donner des résultats différents en fonction des conditions expérimentales spécifiques à chaque manipulation.

De plus, l'activité antibactérienne des extraits de plantes dépend de plusieurs facteurs tel que, la période de récolte, les conditions climatique, la méthode d'extraction, la composition chimique, ainsi que les types de micro-organismes testés et les conditions de réalisation des tests (Al-Reza et *al.*,2010; Obeide et *al.*,2012).

V.4. Utilisation de l'huile essentielle dans la conservation de jus d'orange frais

L'analyse microbiologique des jus préparés à T=0, T= 10 jours et T= 21 jours montrent une puissante activité antifongique de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* contre les levures et les moisissures, ou nous avons constaté une absence totale des germes fongiques dans le flacon portant la dose 100 µL de cette huile, et pour la dose 50 µL, un nombre de 8×10^2 UFC/ml est trouvé après 21 jours de conservation du jus à une température ambiante(Figure12).En revanche, un tapi microbien est observé dans le flacon témoin après le même nombre du jour.

Cependant les jus avec ou sans huiles ne contiennent aucune trace bactérienne en matière de présence des coliformes totaux, des coliformes fécaux et des salmonelles durant les 21 jours d'analyse.

Selon Burt, 2004, pour obtenir un effet antimicrobien significatif dans une matrice alimentaire, des concentrations plus élevées d'huiles essentielles, généralement de 5 à 20 µL/g sont nécessaires.

Il est connu que la charge microbienne “normale” de la plupart des aliments est de l’ordre de 10^4 à 10^6 UFC/g. La présence massive de microorganismes dans le produit alimentaire conduit parfois des répercussions très graves sur la santé du consommateur.

L’utilisation d’une dose de 15 μ L de l’huile essentielle de *Citrus aurantium* en tant que conservateur des échantillons de viande hachée a donné une meilleure conservation à la température ambiante en matière d’aspect, de couleur et d’odeur (Benmohamed et Bahloul, 2020).

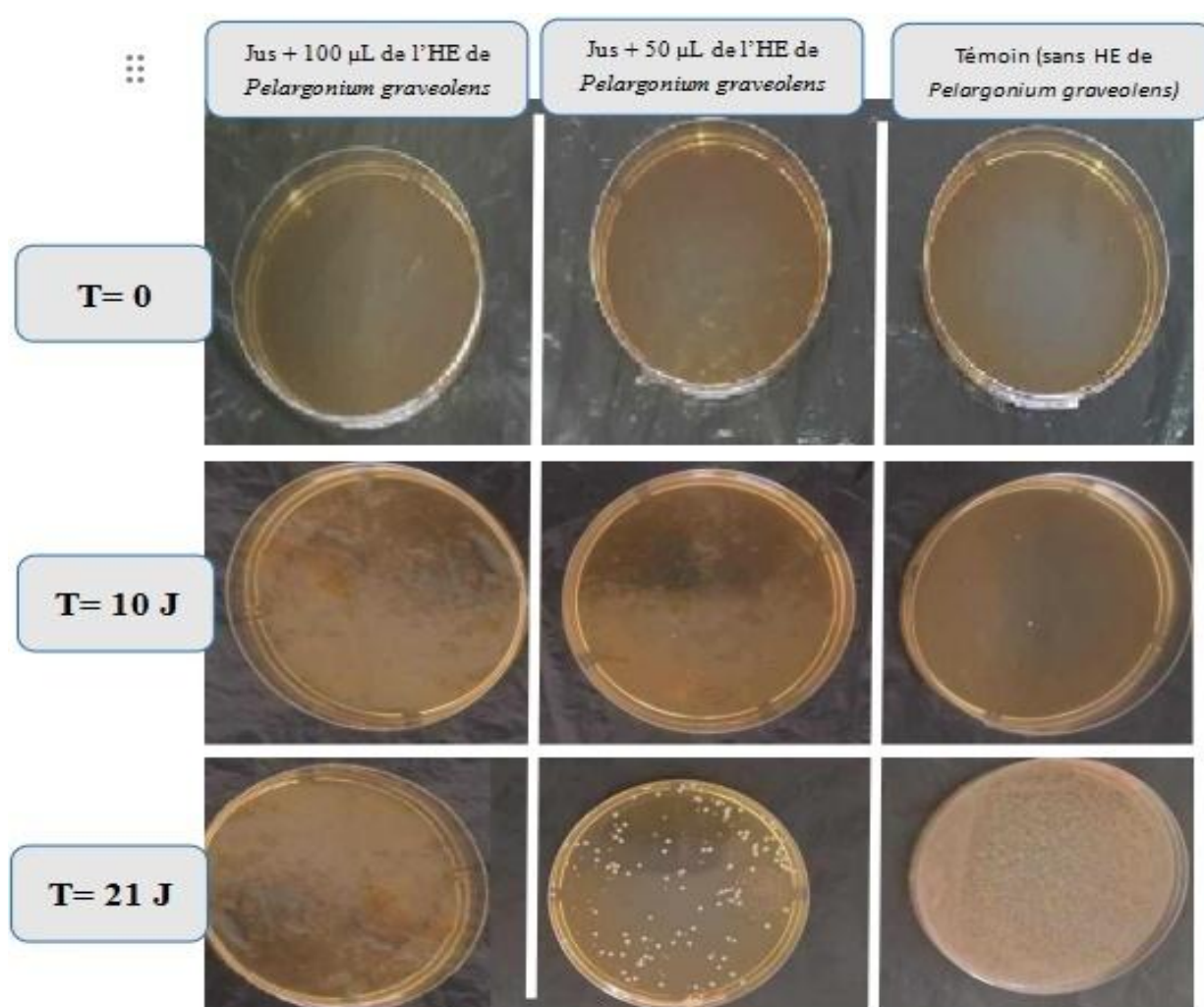
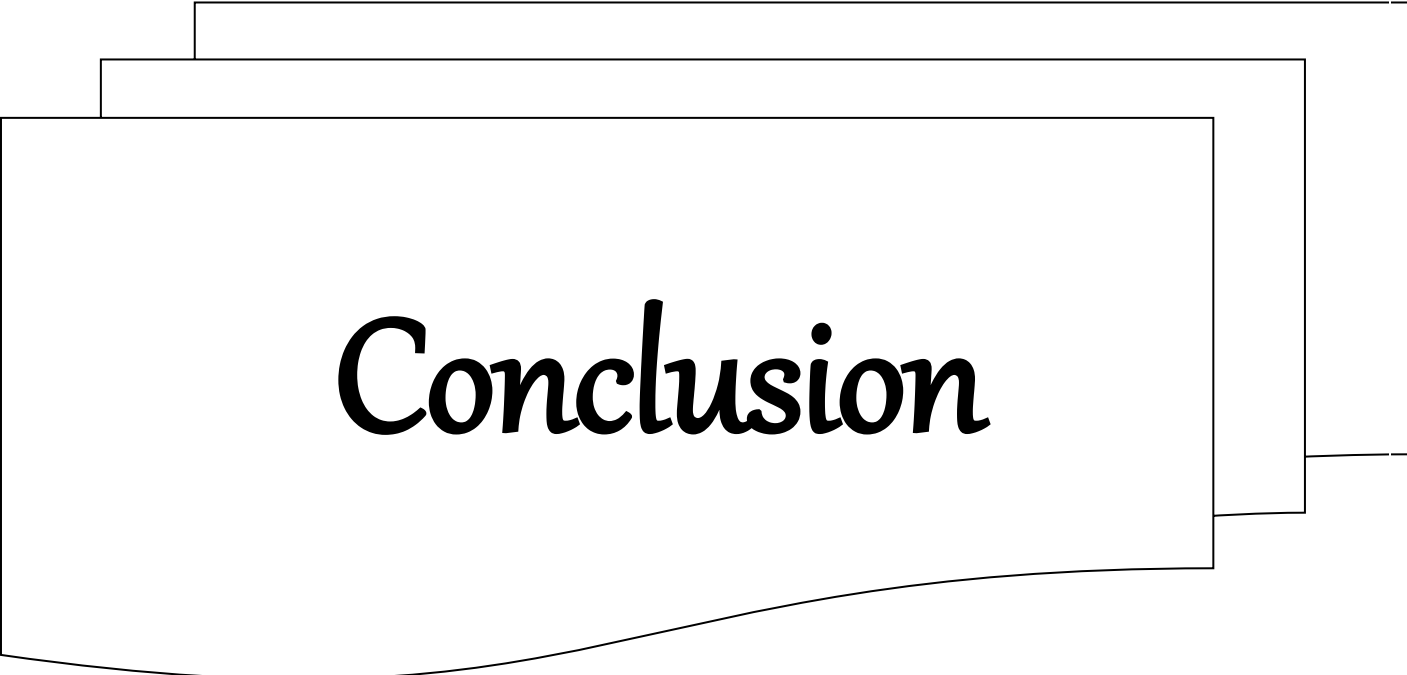


Figure (12) : Effet conservateur de l’HE contre la croissance des levures et des moisissures dans le jus



Conclusion

Conclusion

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques d'une composition chimique complexe, ce qui leur confère des propriétés antimicrobiennes incontournables.

L'objectif de ce travail vise à trouver un nouveau conservateur alternatif aux substances synthétiques largement utilisées en industrie agroalimentaire.

L'HE obtenue par hydrodistillation est liquide, de couleur jaune, un aspect visqueux et une odeur florale. Le rendement d'extraction et les indices physico-chimiques de l'essence sont conformes aux normes.

L'activité antimicrobienne de l'HE de *Pelargonium graveolens*, a été testée sur trois souches microbiennes. Les résultats obtenus ont montré une intense activité antifongique vis-à-vis *Candida albicans* mais de faible pouvoir antibactérien contre *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'HE a préservé la qualité microbiologique de jus d'orange naturel en matière de croissance des levures et des moisissures puisqu'il s'agit d'un milieu favorable de leur croissance. Même, sa couleur, son odeur et son aspect sont restés intacts après 21 jours de conservation à une température ambiante.

Pour continuer et approfondir ce travail, il est également nécessaire de :

- Analyser l'huile essentielle par CPG-SM
- Étudier sa toxicité *in vivo*
- Appliquer cette huile à l'échelle industrielle

Références bibliographiques

A

Abba, D., Inabo, H.I., Yakubu, S.E., Olonitola, O.S. (2008). Contamination of herbal medicinal products marketed in Kaduna metropolis with selected pathogenic bacteria. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 6(177): 70.

Anonyme, (2021). Dictionnaire botanique médicale [Internet]. [cité 10 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.dictionnaire-botanique.com/s.html>

AFNOR. (2000). « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR: Paris.

Andriamanailna F, 2003. L'extraction d'huile essentielle d'Ylang-ylang. *Agridoc* pp1-7.

Aous, W.(2015).Variabilité chimique et activités biologiques d'extraits de citronnelle (*Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng) du Sahara Algérien. THÈSE de doctorat. Institut national agronomique – EL Harrach. Algérie.

Asgarpanah. J, Ramezanloo.F (2015). An overview of Phytopharmacology of *Pelargonium graveolens*L. *Indian Journal of drĀĖšŒŽnĀŭKnowledge.* 14: 558-563.

Atailia, I.(2016).Sensibilité bactérienne aux extraits bio-actifs de *Pelargonium graveolens* (Géranium rosat).Thèse de doctorat.Université Badji Mokhtar - Annaba. Algérie.

B

Berthier, F. (1943). Histoire des plantes à parfum de l'île de la Réunion : géraniumvanille vétyver-ylang-ylang (Nouvelle éd. refondue et augmentée).

Ben El Hadj, I. (2020). Cultures et produits industriels Composés bioactifs de Tunisie *Pelargonium graveolens*. *Industrial Crops and Products.* 158(11).

Benjilali B. (2005). Le matériel végétal et l'extraction. In : Huiles essentielles, de la plante à l'extraction. Manuel pratique. Edition université de Québec à Chicoutimi, 61-78.

Ben Hsouna, A., Hamdi, N. (2012).Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium*.Lipids in Health and Disease.11(167):1-7.

Ben Cheikh, S.E. (2017). Etude de L'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium Poliumssp Aurasianum Labiatae* (D'UNE PLANTE AROMATIQUE MEDICINALE). Thèse De Doctorat, Faculté des sciences Appliquées, Université Kasbi Merbah,Ouarguela. Algérie.

Bouchemella, H. (2020) .Etude par modélisation moléculaire des interactions dans le système supramoléculaire : α -Terpinéol/ β -Cyclodextrine.Thèse de doctorat.Université 8 Mai 1945 Guelma.Algérie.

Bounab, S.(2020).Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila) : étude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales.Thèse de doctorat.Université Ferhat Abbas Sétif. Algérie.

Belewu, M.A., Adekola, F.A., Adebayo, G.B., Ameen, O.M., Muhammed, N.O., Olaniyan, A.M., Adekola, O.F., Musa, A.K. (2010). Physico-chemical characteristics of oil and biodiesel from Nigerian and Indian *Jatropha curcas* seeds. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4(2): 524-529.

Bonnemort, C., Chabalier, P.F., Chastel, J.M., Demarne, F.E., Hebert, A., Michellon, R., et al.(1992).Le Géranium rosat à la Réunion: GRAPHICA.

Boukhris, M., Simmonds, M.S.J., Sayadi, S., & Bouaziz, M. (2012). Chemical Composition and Biological Activities of Polar Extracts and Essential Oil of *Rosescented Geranium, Pelargonium graveolens*. *Phytotherapy Research* article. 27(8): 1206–1213.

Boukhatem, M.N., Saidi, F., Hamaidi, M.S., Hakim, Y., Mekarnia, M.(2011).Culture et exploitation industrielle du *Geranium rosat (Pelargonium graveolens)* en Algérie: état des lieux et perspectives. *Phytothérapie*. 5 : 304-309.

Boukhatem, M.N., Hamaidi, M.S., Saidi, F., Hakim, Y. (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat, cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technologie*.

Boukhatem, M.N., Ferhat, M.A., Kameli, A. (2019) .Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue De Littérature. *Revue Agrobiologia* www.Agrobiologia.Net.

Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., et Chefrou, A. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 85:174 - 189.

Boukhennoufa, A., Tir Touil Meddah, A., Meddah, B., Gabaldón, J.A., Sonnet, P (2019). Comparative study of *Artemisia herba alba* asso and *Citrus aurantium* essential oils. *j microbiol biotech food sci*. 9 (3): 622-627.

Bourihane, K et Boutaleb, L. (2022). Valorisation des cladodes de figuier de barbarie par l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques avec une méthode innovante. Département de génie des procédés, Département de Génie pharmaceutique. Université a. Mira de Bejaia. Algérie.

Bremer, B., Bremer, K., Chase, M.W., Fay, M.F., Révéler, J.L., Soltis, D.E. (2009). Phylogeny Of The Rubiaceae (Chiococceae) Based On Molecular And Morphological Data useful Approaches For Classification And Comparative Ecology. *J. Linn. Soc., Bot.*

Brunton J. (1999). Pharmacognosie photochimie plantes médicinales 3ème édition. Paris

C

Chekoual, L. (2019). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. du Nord de l'Algérie extraites par Hydrodistillation et Ultrasons.

Chimi, H. (2005) : Conservations comparées de l'huile d'argan et de l'huile d'olive. *Cahiers Agricultures*. 14(5): 467-471.

Chavagnat, A (1984). Importance et détermination de la valeur technologique des semences : application aux plantes médicinales, aromatiques et épices. *Acta Horticulturae*. 144: 85–90.

D

David vjioletan, (2009).Création d'une unité d'extraction et decommercialisation d'huiles essentielles de Géranium dans la région de Haute Matsitra,mémoire de maitrise et sciences de gestion, Université de Toamasina.

Dictionnaire botanique médicale [Internet]. [cité 10 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.dictionnaire-botanique.com/s.html>.

Džamić, A.M., Soković, M.D., Ristić, M.S., Grujić, S.M. Mileski, K.S. (2014). Marin.Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens*essential oil.*Journal. App. Pharm. Sci.* 4: 01-05.

Demarne, F.E.(1985). « Le géranium rosat ». Parfums, Cosmétiques et Arômes, n°62.

G

Ghedira, K., et Goetz, P. (2015). Géranium rosat : *Pelargonium graveolens* (Géraniaceae).*Phytothérapie*.article. 13(3):197–201.

Gomes, P.B., Vera, G., Mata Al'iro, E., Rodrigues A.F. (2007). Production of rose géranium oil using supercritical fluid extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, 41 : 50-60

Geldel, (1996). Les salmonelles In Bourgeois CM.,MESCLE JF.,ZUCCA J. microbiologie alimentaire.Ed. Technique et Dcumentation,Lavoisier: Paris.

Goudjil, B (2016). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. Thèse de doctorat. Spécialité : Génie des procédés et environnement. Université Kasdi Merbah – Ouargla, Algérie.

Guiraud, J.P (2003). Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod: Paris.

H

Hamdouni, B. (2013). Evaluation de l'activité antibactérienne anti-oxydante et insecticide des huiles essentielles : *d'Origanum Compactum* ; *Cedurs Atlantica* et *Citrus aurantium*. Mémoire de fin d'études. Spécialité : Chimie des molécules bio actives. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah.

Hadj salem,J. (2009). Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique, thèse de doctorat ; université de Lorraine. France.

Henniche, H.(2018).Extraction et valorisation des huiles essentielles du Romarin (Algérie) obtenues par différents procédés.Diplôme de Magister.Universitédes sciences et de la technologie Houari Boumediene.Algérie

J

K.H., Mohammed, L.Y., Idrees, S.A. (2024). Antioxidant Activity, Mineral Absorptivity and Chemical Analysis of *P. Graveolens*. *Baghdad Sci.J.*;21(10)

K

Khalfa, R., Hamrouche, N.I. (2021). Etude des résidus d'orange (écorce) par la combinaison de deux approches, chimique et biologique. Département : biochimie. Université des frères Mentouri Constantine 1. Algérie.

Kanko, C., Sawaliho, B.E., Kone, S., Koukoua, G., N'Guessan, Y.T.(2004) « Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus* ». *Comptes rendus Chimie* 7. 1039–1042.

Kubitzki, K. (2007). The Families and Genera of Vascular Plants. IX FloweringPlants. Eudicots. Springer: Berlin. **Kanko, C., Sawaliho, B.E., Kone, S., Koukoua, G., N'Guessan, Y.T.(2004)** « Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus* ». *Comptes rendus Chimie* 7. 1039–1042.

Kouamé, N.M.T ., Soro, K , Mangara, A., Diarrassouba, N., Koulibaly, A.V., Boraud, N.K.M. (2015). Étude physico-chimique de sept (7) plantes spontanées alimentaires du centre-ouest de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*. 90:8450 – 8463.

L

Laurent, J.(2017).Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine.Thèse de docteur en pharmacie. UniversitéPaul Sabatier Toulouse III. France.

Lis-Balchin, M. (2002). Geranium and Pelargonium. The genera Geranium and Pelargonium (Ed) Taylor & Francis :London.

Lis-Balchin, M.T. (2004). Handbook of herbs and spices. Vol. 2, Ed. K.V. Pete; South Bank University,,: Royaume-Uni.

Lion, P.H. (1955). Travaux pratiques de chimie organique. Dunod: Paris.

M

Miller ,M.(2002). Géranium et Pélargonium : La taxonomie des espèces et des cultivars de géranium, leurs origines et leur croissance à l'état sauvage (Ed) Taylor&Francis: Londres.

Moro Buronzo, A. (2008). Grand guide des huiles essentielles. Ed. Hachette pratique: France.

Marino M., Bersani C., Comi G. (1999). Antimicrobial activity of essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. J. Food Protect, 62 :pp 1017-1023

N

Nikaido H. 1996. Outer membrane. In: F. C. Neidhardt, (Ed.), *Escherichia coli* and *Salmonella*: Cellular and molecular biology, 1: pp 9–47.

Nabhi, O., (2013). Composition chimique et effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* : mémoire de master de l'université sidi mohammed ben abdellah. Maroc.

O

Omar, S., Hassane, S., Ghanmi,M ., Satrani, B., Farah, A., Mansouri,N., Chaouch, A. (2012).Activité antifongique contre la pourriture du bois de l'huile essentielle.

Ouis, N. (2015). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil, thèse de doctorat, Université d'Oran. Algérie.

P

Peyron, L. (2013). Histoire du « Géranium rosat pour parfumerie » dans le pays de Grasse. Association historique du pays de Grasse: France

Ponce, A.G., Fritz R., del Valle, C.E. & Roura, S.I (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microfora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*. 36: 679-684.

Prora4u. Pelargonium roast Group [Internet].[cite 7 mai 2022]. Disponible sur :<https://www.prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&g=pe&p=Pelargonium+Rosat+Group>

R

Röschenbleck, J., Albers, F., Muller, K., Weinl, S. Kudla, J. (2014). Phylogenetics, character evolution and a subgeneric revision of the genus *Pelargonium* (Geraniaceae). *Phytotaxa* 159(2): 31–76.

S

Saraswathi, J., Venkatesh, K., Baburao, N., Hill, M.H., Roja, R.A, et al (2011) Phytopharmacological importance of *Pelargonium* species. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5: 2587-2598.

Shawl A.S., 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): pp 673-675

Saxenaa G., Rahmanb L., Chandra Vermac P., Banerjeed S., Kumare S., 2008. Field performance of somaclones of rose scented géranium (*Pelargonium graveolens* L'Her Ex Ait) for evaluation of their essential oil yield and composition. *Industrial Crop and Products*, 27 : pp 86-90.

Sina, L. (1992). Contrôle de qualité du lait et des produits laitiers fabriqués par la SOCA. Thèse de doctorat : Ecole inter-etats des sciences et médecine vétérinaires E.I.S.M.V. Université cheikh Anta Diop de Dakar.Sénégal.

Simpson, M.G. (2010). Plant Systematics, Second Edition, Academic Presslivre

Slougui, N., Mahfoud, H.M. (2017). Etude analytique comparative des huiles essentielles de quelques variétés de basilic cultivées pour la première fois dans diverses régions d'Algérie,Thèse de doctorat. UniversitéKasdiMerbah-Ouargla.Algérie.

T

Tabet Zatla, A.(2017).Caractérisations chimiques et étude biologiques d'extraits de quatre plantes aromatiques "*Daucus. carota* ssp. sativus, *Marrubium vulgare*, *Ballota nigra* et *Cynoglossum cheirifolium*" de la région de Tlemcen.Thèse de doctorat. Université Abou-Bekr Belkaid - Tlemcen.Algérie.

Touhami, A.(2017).Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie.

Touil, S. (2018).Variation de la composition chimique et laBioactivité des huiles essentielles et des Polyphénols d'*Artemisiaherba alba* Et d'*Artemisia campestris* De La région de Djelfa .Thèse dedoctorat.Université Saad Dahlab de Blida.Algérie.

W

Wilkinson, J.M (2006). Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. Chapitre VIII.pp.157-165. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M. Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs. . WILEY-VCH Verlag GmbH & Co: Weinheim.

Annexes

Annexe

Annexe 01: Appareillage et matériel.



Annexe 3 : Composition de principaux milieux de culture utilisés

Milieu de Mac concky:

Peptone pancréatique de gelatin	17g
Peptone pancréatique de caséine	1.5g
Peptone peptique de vande	1.5g
Lactose	10g
Chlorure de sodium	5g
Sels biliaires	1.5g
Rouge neutre	30mg
Violet de gentiane	1mg
Agar	13.5g
pH: 7.1	

Milieu de Mueller Hinton (MH)

Infusion de viande de bœuf	300ml
Peptone de caséine	17.5g
Amidon	1.5g
Agar	17g
pH: 7.4	

Milieu de Salmonelle- Schigella (SS)

Peptone	5g
Extrait de viande	5g
Sels biliaires	8.5g
Vert brillant	0.33mg
Lactose	10g
Rouge neutre	25mg

Thiosulfate de sodium	8.5g
Citrate ferrique ammoniacal	1g
Citrate de sodium	8.5g
Agar	15g
pH:7.3	

Milieu de YPG

eau distillé	500 ml
Glucose	10 g
Agar	10 g
Peptone	5g
Extrait de levure	5g
PH:5.8	

Eau physiologique

9g de NaCl
1L l'eau distillé