

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana



Faculté des sciences et de la technologie

Département de la technologie

Mémoire de fin d'Etudes

Pour l'obtention du diplôme de master

EN GÉNIE DES PROCÉDES

SPÉCIALITÉ : GÉNIE PHARMACEUTIQUE

Thème:

Etude phytochimique et activité biologique du géranium rosat
(*pélargonium graveolens*)

Présenté par :

OUMAR ERITEIRO HORINE

MOHAMED SAIDZOUAOUI

Promoteur: MR. K. HACHAMA

Les membres du jury :

PRESIDENT : B. MEKHANEG

EXANIMATRICE : Z. ALICHE

SEPTEMBRE 2021

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier le tout puissant, Allah, le miséricordieux, qui nous a offert la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances et nos sincères remerciements à notre encadreur **Mr. K. Hachama**. Pour ses précieux conseils, pour son orientation, sa confiance et son aide durant toute la période du travail.

Nos vifs remerciements s'adressent également aux membres du jury, président : **Mr B. Mekhaneg**, Examinatrice : **Mme Z. Aliche** pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre mémoire en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nos sincères remerciements vont également à **Mme Harzallah** professeur de l'université de Khemis, département de la technologie pour tous les efforts déployés pour nous soutenir et qui ont été bénéfique pour la réalisation de ce mémoire.

On remercie aussi l'ensemble du personnel, les responsables du laboratoire de Génie des procédés, chimie et laboratoire d'analyse (**Mr. Chaouchi**) pour leur aide et leurs conseils qui nous ont facilité le travail.

Nous profitons également de cette occasion pour adresser remerciements à nos chers parents pour leurs sacrifices et toutes les familles qui nous ont toujours encouragés et soutenu tout au long des années études.

En fin nous remercions tous ceux qui n'ont pas été cité dans ces quelques paragraphes et qui ont contribué de près ou de loin par leur aide au bon déroulement de ce mémoire.

Dédicaces

Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail :

A Mes chers parents, l'être le plus cher de mon existence, ma mère que Dieu le tout puissant puisse vous accorder santé, bonheur, longévité et faire en sorte que je ne te déçoive pas ;

A celui qui m'a fait de moi un homme, mon père qu'Allah le tout puissant puisse vous accueillir dans son vaste paradis ;

Toutes leurs prières, leurs sacrifices, leur soutien, leurs encouragements permanents et leur amour tout au long de mes études ;

A tous mes grands frères qui se sont sacrifiés corps et âme pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui et qu'Allah le tout puissant, le très miséricordieux puisse vous faire des places d'office dans son éternel paradis.

Je dédie ce travail à toute ma famille et plus particulièrement à mes cher parents, mon cher grand frère Abakar Mahamat Horine, à tous mes frères et mes sœurs et à tous mes oncles pour leur soutien moral.

A mon aimable binôme Saidzouaoui et sa toute famille, à tous mes chers professeurs, *K. Hachama, Z. Aliche, A. Harzallah...et tout personnel de la faculté FST-DBKM* ainsi que toutes personnes qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Je vous dédie ce modeste travail. Oumar E. H.

Dédicaces

Je tiens c'est avec grande plaisir que je dédie ce modeste travail :

*A ma grand-mère l'être le plus chère de ma vie qui m'a tout donné durant ma période
d'étude, qu'Allah le tout puissant puisse l'accueillir dans son vaste paradis ;*

A mes chers parents, ma mère et mon père Allah yerahmou

Mon cher oncle Lebouzzi Ahmed Allah yerahmou

A ma tante, et mes chers frères

A mes chers amis et chers cousins pour son aide et son

précieux encouragement

*A mon binôme, mon ami monsieur 'Oumar Eriteiro Horine', le meilleur tchadien,
que dieu le bénisse dans sa vie*

A mes chers professeur, K. HACHAMA et A. HARZELLAH

Et tout personnel de la faculté FST-DBKM

M. Saidzouaoui

Résumé

Le but de ce travail consiste à faire l'étude phytochimique de l'huile essentielle et des extraits phénoliques du *Pelargonium graveolens*, valoriser les extraits de cette plante en évaluant leur activité antibactérienne et antioxydante.

L'extraction de l'huile essentielle et des polyphénols de *pélargonium graveolens* ont été réalisés respectivement à l'aide d'un appareil hydrodistillation de type Clevenger et de l'appareil de Soxhlet.

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* par la méthode de chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, nous a permis d'identifier 150 constituants de cette huile dont 23 sont majoritaires avec un pourcentage de 72.04%, parmi les composants majeurs sont : le citronellole (10.38%), *Y-eudesmol* (9.64%), Nerol (5.59%), *Acétate de (S)-citronellole* (5.55%). La composition chimique de cette huile est similaire aux études bibliographiques.

La mise en évidence de l'activité antioxydante de l'huile essentielle par le test de piégeage des radicaux DPPH a donné des résultats significatifs, une valeur de 8 µg/mL a été obtenue pour le IC₅₀, qui représente un effet moins élevé que celui de l'acide ascorbique (IC₅₀ = 5.34µg/ml).

L'analyse qualitative par CCM a montré la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les différents extraits du *pélargonium graveolens* étudié.

L'étude de la composition de l'extrait éthanolique de *Pélargonium graveolens* évaluée par la méthode de chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC), nous a permis de déterminer 82 constituants dont six sont identifiés : α -tocophérol, catéchine, hespéridine, Quercétine, acide vanillique et l'acide tannique.

Le pouvoir antibactérien de ces extraits a été évalué par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique et l'extrait butanolique présentent un pouvoir antibactérien, contre les bactéries testées par rapport à celui des autres extraits.

Mots de clé : *pélargonium graveolens*, l'huile essentielle ; polyphénols, activité biologique, activité antioxydante.

الملخص

الهدف من هذا العمل هو إجراء دراسة كيميائية نباتية للزيت العطري والمستخلصات الفينولية من *Pelargonium Gravolens* ، لتعزيز مستخلصات هذا النبات من خلال تقييم نشاطها المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة ، تم استخراج الزيت العطري والبوليفينول من *pelargonium Gravolens* باستخدام جهاز تقطير مائي من نوع Clevenger وجهاز Soxhlet، على التوالي.

سمحت لنا دراسة التركيب الكيميائي للزيت العطري للبيلارجونيوم جبرولين باستخدام طريقة كروماتوغرافيا الغاز إلى جانب قياس الطيف الكتلي، بتحديد 150 مكوناً من هذا الزيت، 23 منها في الأغلبية بنسبة 72.04%. المكونات الرئيسية هي: citronellol (10.38%)، Y-eudesmol (9.64%)، Nerol (5.59%)، (S) -citronellol acetate (5.55%). التركيب الكيميائي لهذا الزيت مشابه للدراسات الأدبية.

أعطى عرض النشاط المضاد للأكسدة للزيت عن طريق اختبار الكسح الأساسي لجذور DPPH نتائج معنوية، حيث تم الحصول على قيمة 8 ميكروغرام / مل لـ IC50، والتي تمثل تأثيراً أقل من حمض الأسكوربيك (IC50 = 5.34 ميكروغرام / مل). أظهر التحليل النوعي بواسطة TLC وجود المركبات الفينولية والفلافونويد في المستخلصات المختلفة من *pelargonium Gravolens* التي تمت دراستها.

سمحت لنا دراسة تركيبية المستخلص ic من *Pelargonium Gravolens* التي تم تقييمها بطريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) بتحديد 82 مكوناً تم تحديد ستة منها: α -tocopherol و catechin و hesperetin و Quercetin و vannilic acid و حمض التانيك.

تم تقييم القوة المضادة للبكتيريا لهذه المستخلصات بطريقة الأجار المتوسطة الانتشار. أظهرت النتائج أن المستخلص الإيثانولي وخالصة البوتانول لهما قوة مضادة للبكتيريا مقارنة مع المستخلصات الأخرى.

الكلمات المفتاحية: زيت أساسي ، زيت أساسي ، جبرولينز بيلارجونيوم بوليفينول ، سيترونيلول ، جيرانيول

Abstract

The aim of this work is to carry the phytochemical study of the essential oil and phenolic extracts of *Pelargonium graveolens*, enhance the extracts of this plant by evaluating their antibacterial and antioxidant activity.

The extraction of the essential oil and of the *pelargonium graveolens* polyphenols were carried out respectively using a Clevenger type hydrodistillation apparatus and the Soxhlet apparatus.

The study of the chemical composition of the essential oil of *Pelargonium graveolens* by gas chromatography method coupled with mass spectrometry, allowed us to identify 150 constituents of this oil, 23 of which are predominant with a percentage of 72.04%, among the major components are : citronellol (10.38% °), Y-eudesmol (9.64%), Nerol (5.59%), (S) - citronellol acetate (5.55%). The chemical composition of this oil is similar to literature studies.

The demonstration of the antioxidant activity of the essential oil by the DPPH radical scavenging test gave significant results, a value of 8 µg / mL was obtained for the IC₅₀, which represents a lower effect than that ascorbic acid (IC₅₀ = 5.34µg / ml).

Qualitative analysis by CCM showed the presence of phenolic compounds and flavonoids in the various extracts of *pelargonium graveolens* studied.

The study of the composition of the ethanolic extract of *Pelargonium graveolens* evaluated by the high performance liquid chromatography (HPLC) method, allowed us to determine 82 constituents, six of which are identified: α- tocopherol, catechin, hesperidin, Quercetin, vanillic acid and tannic acid.

The antibacterial power of these extracts was evaluated by the agar medium diffusion method. The results showed that the ethanolic extract and the butanolic extract exhibit antibacterial power, against the bacteria tested compared to that of the other extracts.

Keywords: *graveolens pelargonium*, essential oil; polyphenols, biological activity, antioxydant activity

Liste des abréviations

| | |
|--------------------------|--|
| ADN : | acide désoxyribonucléique. |
| AFNOR : | Association française de normalisation. |
| ATP : | adenosine triphosphate |
| CCM : | chromatographie sur couche mince. |
| CMI : | concentration minimale inhibitrice |
| CBM : | concentration bactéricide minimale |
| CPG/SM : | Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. |
| °C : | Celsius |
| DPPH | 2,2-Diphényl 1-picrylhydrazyle |
| EEth : | extrait éthanolique |
| EBut : | extrait de butanol |
| FEMA : | Federal Emergency Management Agency. |
| FDA : | Food and Drug Administration. |
| HE : | huile essentielle |
| HPLC : | Chromatographie en phase liquide à haute performance |
| IC₅₀ : | concentration inhibitrice 50% |
| ISO : | Organisation internationale de normalisation. |
| IR : | spectroscopie infrarouge |
| mg : | Milligramme |
| Min : | Minute |
| Nm : | nano mètre |
| OMS : | Organisation mondiale de la santé |
| SNV : | science de la nature et de la vie |
| URSS : | Union des républiques socialistes soviétiques. |
| UV : | ultraviolet |
| µl : | micro litre |

Table des matières

Liste des figures

| | | |
|----------------------|--|----|
| Figure I.1. | différents flavonoides extraits de pélagonium..... | 6 |
| Figure I.2 | Schéma de l'appareil de Soxhlet..... | 7 |
| Figure I.3. | quelques structures chimiques des composés contenus dans les HE..... | 9 |
| Figure I.4. | Montage d'hydrodistillation..... | 10 |
| Figure I.5. | Alambic en cuivre de l'huile essentielle..... | 10 |
| Figure I.6. | Entrainement à la vapeur d'eau..... | 11 |
| Figure I.7. | Schéma d'extraction assistée par micro-onde sous vide..... | 12 |
| Figure I.8. | Fleurs de <i>pélagonium graveolens</i> | 13 |
| | | |
| Figure II.1. | Feuilles Pélagonium graveolens séchées..... | 25 |
| Figure II.2. | Montage appareil d'hydrodistillation de type Clevenger..... | 26 |
| Figure II.3. | Procédé d'extraction par Soxhlet..... | 31 |
| Figure II.4. | Cuve de chromatographie CCM..... | 34 |
| Figure II.5. | Méthode de préparation de souches..... | 35 |
| Figure II.6. | L'appareil HPLC..... | 35 |
| Figure III.1 | Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle..... | 40 |
| Figure III.2 | Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration de l'acide ascorbique..... | 40 |
| Figure III.3. | Courbes d'étalonnage de polyphénols..... | 43 |
| Figure III.4 | Révélation chimique..... | 46 |
| Figure III.5. | Souche bactérienne de S. Aureus (bactérie gram +)..... | 48 |
| Figure III.6. | Souche bactérienne de E. Coli (bactérie gram -)..... | 48 |

Table des matières

Liste des tableaux

| | | |
|----------------------|---|----|
| Tableau.I.1. | Principales classes des composés phénoliques | 5 |
| Tableau.I.2 | Comparaisons entre <i>P. graveolens</i> et autres espèces plus connues de <i>P.</i> | 15 |
| Tableau.I.3 | Classification de <i>Pélargonium graveolens</i> | 16 |
| Tableau.I.4 | Paramètres physico-chimiques de HE | 20 |
| Tableau.I.5 | Caractéristiques organoleptiques de HE de <i>P. graveolens</i> | 21 |
| Tableau.II.1 | Produits chimiques utilisés | 25 |
| Tableau.II.2 | Bactéries Gram-négatives et Gram positives | 35 |
| Tableau.III.1 | Rendements de certaines HES avec celui de l'échantillon | 37 |
| Tableau.III.2 | Composition relative de l'huile essentielle de <i>P. graveolens</i> | 38 |
| Tableau.III.3 | Concentration de HE et de l'acide ascorbique | 41 |
| Tableau.III.4 | Rendements d'extraits obtenus par extractions par Soxhlet | 42 |
| Tableau.III.5 | Noms de composés identifiés par l'analyse HPLC | 43 |
| Tableau.III.6 | Rapport frontal et les espèces chimiques | 46 |
| Tableau.III.7 | L'inhibition de la croissance des bactéries par les extraits | 47 |
| Tableau.III.8 | Diamètre de la zone d'inhibition des extraits sur des souches | 48 |

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| Résumé | |
| Introduction générale..... | 1 |
| Chapitre I : Etude bibliographique | 3 |
| I.1. Aperçu historique des plantes médicinales et aromatiques..... | 3 |
| I.2. Notion de la phytochimie | 4 |
| I.3. Les métabolites secondaires des plantes | 4 |
| I.3.1. Polyphénols | 5 |
| I.3.1.1. Flavonoïdes..... | 5 |
| I.3.1.2. Quelques structures chimiques de Flavonoïdes..... | 6 |
| I.3.2. Méthodes extraction des polyphénols..... | 6 |
| I.3.2.1. L'appareil de Soxhlet..... | 6 |
| I.3.3. Effets pharmacologiques des polyphénols | 7 |
| I.3.4. L'huiles essentielles..... | 8 |
| I.3.4.1. Structure chimique des huiles essentielles..... | 8 |
| I.3.5. Méthodes d'extraction de HE..... | 9 |
| I.3.5.1. Extraction par Hydrodistillation | 9 |
| I.3.5.2. Extraction de HE par alambic..... | 10 |
| I.3.5.3. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau | 11 |
| I.3.5.4. Extraction assistée par micro-ondes | 11 |
| I.3.5.5. Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous vide | 11 |
| I.4. Description générale de la plante <i>pélargonium</i> | 12 |
| I.4.1. La description botanique du <i>P. graveolens</i> | 12 |
| I.4.2. Les caractéristiques morphologiques | 13 |
| I.4.3. Taxonomie | 16 |
| I.4.4. Cultivation du <i>pélargonium graveolens</i> | 17 |
| I.4.5. Valorisation du <i>pélargonium graveolens</i> | 17 |
| I.4.6. Utilisation de <i>pélargonium graveolens</i> dans les divers domaines | 18 |
| A. Les propriétés thérapeutiques..... | 18 |
| B. Emploi de l'huile essentielle en médecine traditionnelle et aromathérapie | 18 |
| C. Dans le domaine Agroalimentaire..... | 18 |
| D. Cosmétique et parfumerie | 19 |

Table des matières

| | |
|--|----|
| I.7. Propriétés physico-chimiques de HE de P. graveolens | 20 |
| I.5.1. Propriétés organoleptiques de HE de P. graveolens | 21 |
| I.5.2. Toxicité de l'huile essentielle P. graveolens | 21 |
| Chapitre II : Matériels et méthodes | 24 |
| II.1. Matériel végétal | 24 |
| II.1.1. L'identification de l'échantillon..... | 24 |
| II.2. Préparation et conservation des plantes | 24 |
| II.2.1 Produits chimiques et matériels utilisés | 25 |
| II.3. Extraction de HE de P. graveolens | 26 |
| II.3.1. Conservation de HE P. graveolens extraite..... | 27 |
| II.3.2. Détermination du rendement de H E de P. graveolens..... | 27 |
| II.3.3. Évaluation de l'activité antioxydante..... | 28 |
| A. Analyse chromatographique de HE de P. graveolens | 28 |
| B. Evaluation de l'activité antioxydante de HE | 28 |
| II.4. Extraction de polyphénols de P graveolens par l'appareil de Soxhlet..... | 30 |
| II.4.1. Mode opératoire | 30 |
| II.4.2. Dosage des composés phénoliques présents dans P. graveolens | 32 |
| II.4.3. Séparation de composés phénols par Chromatographie sur couche mince (CCM)..... | 32 |
| A. Détermination de rapport frontal | 33 |
| B. Révélation de la plaque CCM..... | 34 |
| II.4.4. Evaluation de l'activité antibactérienne | 34 |
| II.4.4.1. Préparation de Souches bactériennes | 35 |
| CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS..... | 36 |
| Chapitre III : Résultats et discussions | 37 |
| III.1. Déterminations du rendement de H E de P. graveolens | 37 |
| III.2. Identification de HE de P. graveolens par GCMS..... | 37 |
| III.3. Évaluation de l'activité antioxydante | 39 |
| III.3.1. Évaluation de l'extrait éthanolique par l'analyse HPLC | 42 |
| III.4. Évaluation des extraits de P. graveolens par CCM | 44 |
| A. Elucidation d'espèces chimiques présentes dans les extraits analysés..... | 46 |
| B. Détermination de rapport frontal..... | 46 |
| III.5. Tests antibactériens..... | 47 |
| Conclusion générale | |
| Les références bibliographiques | |
| Annexe | |

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Au cours des dernières années, les plantes médicinales et aromatiques sont intensément criblées et appliquées dans les divers domaines, parmi ces substances naturelles telles que les huiles essentielles et les composés phénoliques ont fait l'objet d'une attention particulière. 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 [1].

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 [2]. Cependant, leur exploitation n'a pas été bien entreprise de façon durable jusqu'à présent et pourtant, l'industrie pharmaceutique est à la recherche de ces composés intéressants, qui pourraient compléter ou remplacer les produits chimiques déjà utilisés [3].

Les Géraniacées sont une famille planétaire de plantes à fleurs [4] avec plus de 830 espèces réparties dans cinq genres [5]. Le genre *pélargonium* comprend environ 283 espèces [6], le *Pélargonium graveolens*, appelé également géranium rosat, géranium odorant, *pélargonium x asperum* Ehrh, est une plante aromatique de la famille Geraniaceae. Cette dernière est cultivée pour son huile essentielle qui fait partie des vingt meilleures HE 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 [7]. 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 [8].

Cette présente étude consiste à améliorer et porter des contributions en complétant les recherches manquantes, des extraits (huile essentielle et des polyphénols) du *pélargonium graveolens* et avec des techniques d'extraction simples et moins coûteuses. Etudier la composition chimique de ces extraits, faire l'identification de ces dernières et analyser l'efficacité de leur activité biologique, notamment leur activité contre les micro-organismes contaminants et l'activité antioxydante. Les polyphénols de cette plante aromatique, sont des extraits importants, qui sont particulièrement utilisés dans la médecine traditionnelle (en tant que médicaments naturels), dans l'industrie du cosmétique, dans l'industrie des agroalimentaires, et dans la lutte contre les insectes nuisibles

Le présent travail est constitué de trois chapitres :

- Dans le chapitre I de ce travail, nous abordons d'abord la synthèse bibliographique, qui subdivisée en trois sous parties portant sur les caractéristiques botaniques du *pélargonium* en général et *pélargonium graveolens* en particulier, les propriétés pharmacologiques d'huiles essentielles et des polyphénols de ce dernier.
- Dans le deuxième, nous nous intéressons sur les méthodes c'est plus rigoureux et les techniques d'extractions de l'huile essentielle et des polyphénols
- Dans le troisième chapitre, nous tenterons alors d'interpréter et d'en rendre explicite les résultats de ces derniers et comparer avec les travaux antérieurs : la composition chimique des extraits obtenus par analyse chromatographie sur la couche mince (CCM), chromatographie en phase liquide haute pression (HPLC) et Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (GC-MS) et évaluations de leurs activités antioxydantes et antibactériennes.

Chapitre I : Etude bibliographique**I.1. Aperçu historique des plantes médicinales et aromatiques**

Les plantes médicinales ayant toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), environ 65- 80% de la population mondiale dans les pays en voie de développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, utilisaient essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire [9].

L'aromathérapie est une science de la phytothérapie, une discipline des médecines naturelles qui emploie généralement les huiles essentielles seules ou en les associant entre elles sous le terme à des fins thérapeutiques [10].

L'accent mis sur la recherche sur les plantes, partout dans le monde et un grand nombre d'échantillons ont été récoltés pour montrer l'immense potentiel des plantes médicinales et aromatiques utilisées dans divers systèmes traditionnels. De telles études scientifiques ont conduit à l'isolement de substances chimiques ayant des propriétés thérapeutiques et de nombreux isolats ont trouvé leur utilisation comme médicaments modernes tandis que d'autres ont servi de substrats pour la synthèse de médicaments [11].

Et malgré les remarquables progrès scientifiques (en chimie organique de synthèse) du vingtième siècle, plus de 25% des remèdes prescrits dans les pays développés tirent directement ou indirectement leurs origines des plantes [12, 13].

Dans ce contexte, et compte tenu de la disparition accélérée des plusieurs forêts tropicales et d'autres domaines essentiels de la végétation due aux aléas climatiques, en effet il y a lieu de poursuivre la recherche dans le domaine des plantes et faire des cultivations. Il y a aussi des plantes qui n'ont pas été identifiées leur composition chimique :

Une attention urgente doit être faite au plus grand nombre possible des espèces environ 350.000 plantes sur terre, qui n'ont pas encore été étudiées pour déterminer scientifiquement non seulement leurs propriétés phytochimiques et pharmacologiques potentielles mais aussi évaluer leurs qualités, leurs innocuités et leurs efficacités [6].

I.2. Notion de la phytothérapie

La phytochimie a une histoire importante qui est liée avec celle de l'humanité, en effet dans chacun des cultures passées les gens ont toujours bénéficié sur les valeurs curatives et préventives des plantes pour soigner et guérir les Hommes [11].

Depuis l'antiquité, Les plantes médicinales et aromatiques ont été utilisées en phytothérapie comme des substances thérapeutiques contre plusieurs maladies, donc la phytothérapie est une science traditionnelle basée sur l'utilisation des propriétés pharmacologiques des molécules contenues dans les plantes et elle est utilisée pour des fins médicales pour soulager certaines maladies. Donc on peut définir la phytothérapie comme l'utilisation de plantes ou d'herbes comme médicament pour traiter ou prévenir les maladies chez l'homme et les animaux. Un certain nombre de rapports ont dévoilé les effets positifs des extraits de plantes en tant qu'agent antiviral utilisé dans l'alimentation animale ou comme prophylaxie et remède [14].

Vue leur intérêt économique et leur large spectre d'action, voir en milliers de composants ayant des vertus thérapeutiques. A l'heure actuelle, plusieurs travaux ont envisagé l'utilisation de l'huile essentielle et métabolites secondaires comme alternatives aux multiples substances synthétiques. Car l'engouement suscité pour les plantes médicinales et aromatiques qui sont capables d'offrir des soins plus efficaces et moins agressifs pour l'organisme [26].

I.3. Les métabolites secondaires des plantes

Les métabolites secondaires sont des composés organiques complexes synthétisés par la plante, ne sont pas impliqués directement aux processus vitaux de la plante, par contre les métabolites primaires participent directement dans la croissance et la reproduction des cellules végétales. Ce sont des acides aminés, les glucides et les lipides.

Les métabolites secondaires permettent à la plante de s'adapter à l'environnement, de moyens de défense contre les herbivores et les pathogènes, ils sont distingués généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux [16].

Ils constituent une source importante de produits pharmaceutiques. On peut les classer en plusieurs grands groupes dont les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les alcaloïdes [17].

I.3.1. Polyphénols

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans toutes parties de la plante, dans tous les organes de la plante, ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles [18].

Ils jouent un rôle important dans la structure et la protection des plantes, les polyphénols ont également une protection contre certaines maladies, les cancers et les maladies cardiovasculaires [19]. Les composés phénols présentent de nombreux avantages : antioxydante, antiinflammatoires, inhibitrices d'enzymes [22].

Tableau I.1. Principales classes des composés phénoliques [20]

| Squelette carbone | classe | exemple | origine |
|--|--|---|---------------------------|
| C ₆ | Phénols simples | Catéchol | Nombreuses espèces |
| C ₆ -C ₁ | Acide hydroxy benzoïques | P-hydroxy benzoïque | Epices, frais |
| C ₆ -C ₃ | Acide hydroxy cinnamiques coumarine | Acide caféique Scopolétin | Pomme de terre, citrus |
| C ₆ -C ₄ | Naphtoquinones | Juglone | Noix |
| C ₆ -C ₂ -C ₆ | Stilbénes | Resvératon | Vigne |
| C ₆ -C ₃ -C ₆ | Flavonoïdes | <i>Quercétine, cyanidine, daïdzéine</i> | Fleurs, légumes |

I.3.1.2. Flavonoïdes

Ce sont des substances naturelles, ayant une structure phénolique qui n'est pas stable, présentes dans les plantes : les fruits, les légumes, les céréales, l'écorce, les racines, les tiges et les fleurs. Ils jouent un rôle primordial dans la croissance des plantes, la floraison, la fructification et la défense contre les maladies et les microorganismes. [22]

Les flavonoïdes contribuent également un rôle très important dans la santé humaine, ils sont efficaces contre l'inflammation chronique, les maladies allergiques et les maladies coronariennes [23].

La structure de base de flavonoïde est le noyau flavane, qui se constitue de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles (C₆-C₃-C₆).

I.3.1.2. Quelques structures chimiques de Flavonoïdes

En outre de l'huile essentielle, les feuilles de pélagonium graveolens possèdent d'autres composés chimiques, notamment des flavonoïdes, certains travaux antérieurs ont montré qu'elles contiennent majoritairement des composés tels que :

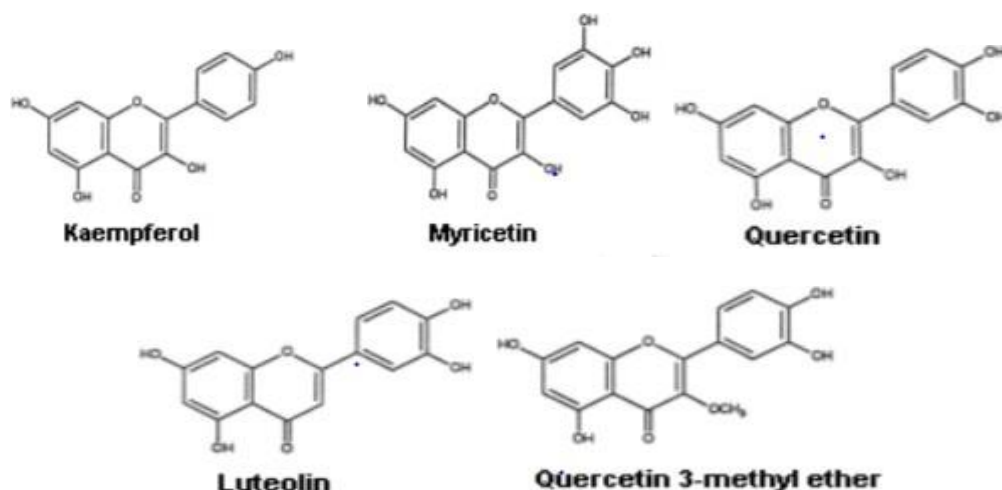


Figure I.1. Différents flavonoïdes extraits de pélagonium [24]

I.3.2. Méthodes extraction des polyphénols

- ❖ **Par macération** : La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans un solvant aqueux, pour extraire les principes actifs (composés phénoliques...)

Le procédé d'extraction, consiste à placer un solvant volatil et la matière végétale à traiter dans un Soxhlet ou un extracteur, par des lavages successifs, à travers le solvant on obtient un produit appelé « concrète ». Cette concrète mélangée avec le solvant est chauffée et refroidie, de cette manière que le solvant contenu dans la concrète s'évapore et produit ainsi obtenu, appelé absolue [33].

- ❖ **Les solvants les plus utilisés**

L'hexane, l'éthanol, l'éther de pétrole ou encore le dichlorométhane, l'acétone ; [34].

I.3.2.1. L'appareil de Soxhlet

L'extracteur **Soxhlet** est un ingénieux dispositif en verre permettant l'**extraction** d'une substance, il est constitué d'un ballon monocol, d'un réfrigérant et d'un extracteur. Ce dernier présente un système de tube permettant la vidange du réservoir dont le volume

varie d'un modèle à l'autre. Le système doit être complété à l'aide d'une cartouche en cellulose, placée dans le réservoir, destinée à recevoir le composé à extraire [35].

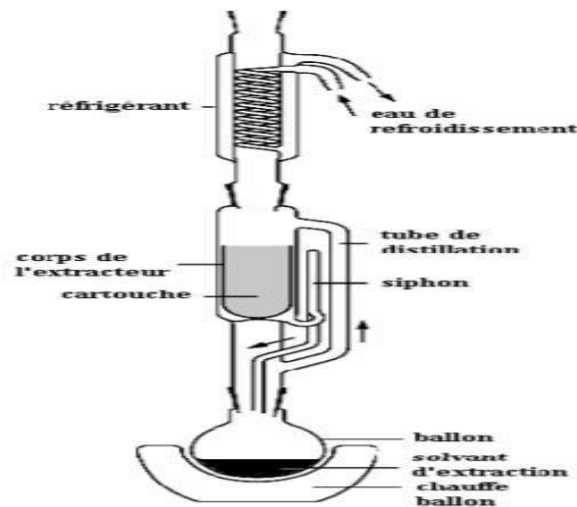


Figure I.2. Schéma de l'appareil de Soxhlet

I.3.3. Effets pharmacologiques des polyphénols

Les effets sur la santé des composés phénoliques ne dépendent pas seulement de leurs niveaux de consommation mais aussi de leur biodisponibilité (taux et la mesure dans laquelle un médicament atteint son site d'action). En effet, peu d'études ont été menées sur la pharmacocinétique de ces composés chez l'homme, toutefois, d'après des expériences menées sur des flavonoïdes provenant de l'alimentation, il apparaît que seuls les flavonoïdes sous forme de génines (ou aglycones) sont susceptibles d'être absorbés [36].

Les composés possèdent une activité antibactérienne très vaste et variée. Ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel ils se trouvent [38].

I.3.4. L'huiles essentielles

L'huile essentielle est un mélange de composés lipophiles, volatils et liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés, obtenue par les différentes méthodes d'extraction. Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [25].

Les huiles essentielles, communément sont aussi appelées « essence » sont des mélanges de substances chimiques volatiles extraites à partir des diverses parties de plantes telles que :

fleurs, feuilles, racines, tiges, écorces ou graines.

Aujourd'hui, de plus en plus sur le marché mondial, les huiles essentielles occupent davantage de la place. En effet, suite à l'émergence actuelle de l'aromathérapie, les domaines d'utilisation des huiles essentielles augmentent aussi. On constate une régression de l'usage des produits synthétiques au profit des produits naturels [10].

I.3.4.1. Structure chimique des huiles essentielles

Il y a un grand nombre de molécules pouvant entrer dans la composition des huiles essentielles, en proportion très variable. Ces molécules sont classées selon la famille chimique à laquelle elles appartiennent. Les huiles essentielles sont issues de deux types de structures chimiques à savoir : Les composés terpéniques (monoterpènes C10, sesquiterpènes C15, diterpènes C20, triterpènes C30) et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane [27].

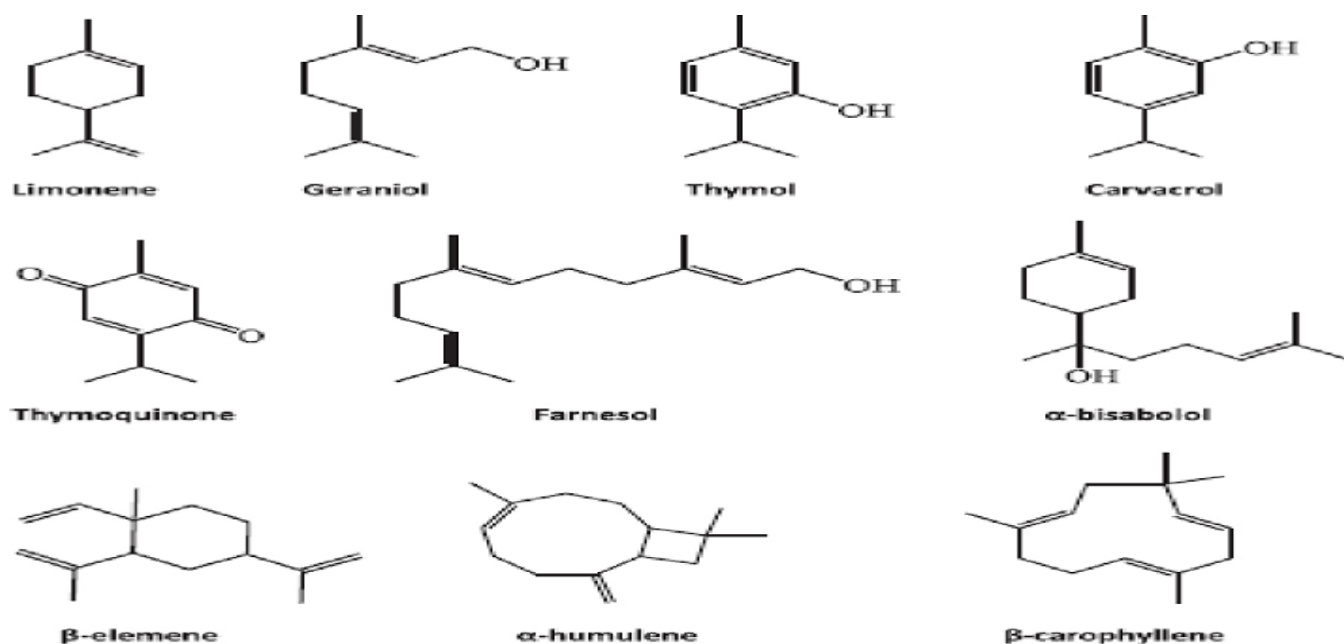


Figure I.3. Quelques structures chimiques des composés contenus dans les HE

I.3.5. Méthodes d'extraction de l'huile essentielle

L'extraction de HE de source végétale peut être effectuée par plusieurs méthodes, basées sur des techniques anciennes ou nouvelles. On va en citer quelques-unes.

I.3.5.1. Extraction par Hydrodistillation

Elle consiste à plonger la matière végétale dans un ballon d'eau et l'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement faite à pression atmosphérique. Certains organes végétaux sont fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau [28].

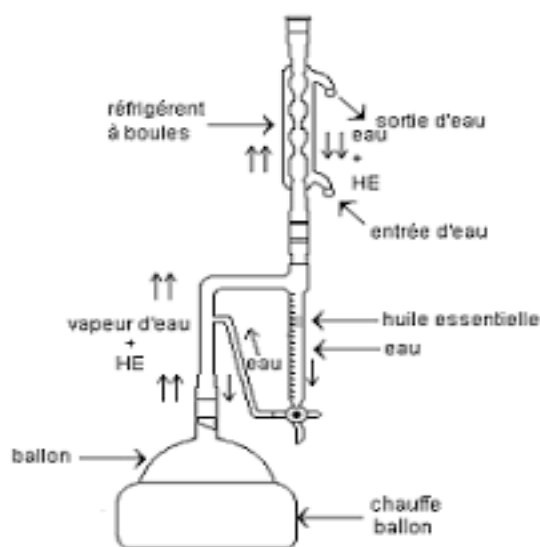


Figure I.4. Appareil de Clevenger

I.3.5.2. Extraction de l'huile essentielle par alambic

L'ensemble de la plante est utilisé directement après la récolte, les tiges, feuilles et fleurs des plantes sont mises dans l'alambic rempli d'eau distillée et porté à ébullition. En effet les vapeurs hétérogènes sont condensées par un système de refroidissement et l'huile essentielle et l'hydrolat sont séparés par différence de densité.

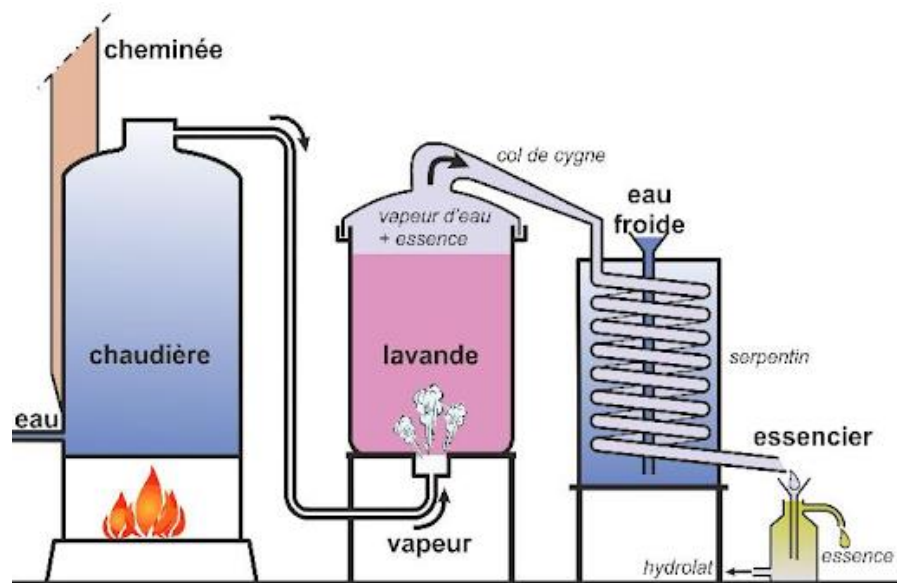


Figure 1.5. Alambic en cuivre de l'huile essentielle

Elles étaient utilisées également durant les empires gréco-romains et semblent avoir été oubliées à l'effondrement de ces civilisations. Le renouveau de leurs utilisations commence au XV^{ème} siècle dans les cours royales européennes, où poudres et eaux parfumées embaument visages, perruques et gants. Leur emploi s'est poursuivi jusqu'au XIX^{ème} siècle.

Après s'est ouvert l'ère d'industrialisations des produits synthétiques qui les reléguèrent en arrière-plan devant leur coût inévitablement plus élevé et moins de produits toxiques [10].

I.3.5.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des techniques plus connues pour l'obtention de HE. [29] Dans cette extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération. Il n'y a pas de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques pour éviter de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile ou les molécules thermosensibles [30].

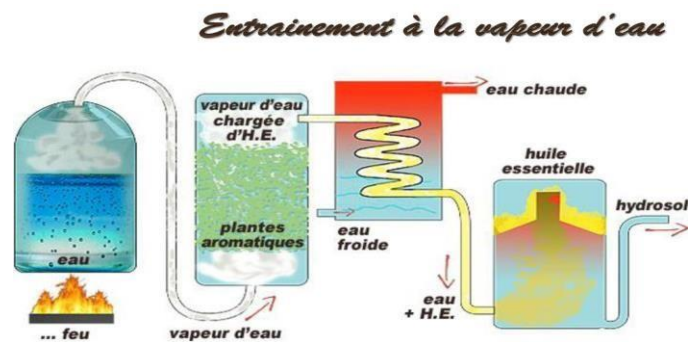


Figure I.6. Entraînement à la vapeur d'eau

I.3.5.2. Extraction assistée par micro-ondes

Le matériel végétal est déposé dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans additionne d'eau ou de solvant [31]. L'eau contenue dans la matière végétale permet d'en dilater ses cellules et mène à la rupture des glandes et des réceptacles oléifères. L'HE ainsi libérée est évaporée avec l'eau de la plante.

I.3.5.3. Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous vide

Le procédé d'hydrodistillation par micro-ondes est reposé totalement sur le principe de l'hydrodistillation habituelle. A la différence de l'hydrodistillation classique, le matériel végétal est donc mis dans un ballon disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes en présence d'une quantité d'eau suffisante [32].



Figure I.7. Schéma d'extraction assistée par micro-onde sous vide

I.4. Description générale de la plante *pélargonium*

Le *pélargonium* vient de la famille des Geraniaceae, comprend 5–7 genres et 650–800 espèces : Ce sont des plantes herbacées, des arbrisseaux ou des arbustes, annuelles, bisannuelles ou vivaces et parfois ligneuses à la base ; quelques-unes ont des tubercules, principalement des régions tempérées à subtropicales.

Le genre *pélargonium* comprend plusieurs espèces distinctes, dont la plupart se trouvent dans l'hémisphère Nord, principalement dans les climats tempérés [27].

Le Pélargonium est originaire d'Afrique australe, précisément en Afrique du sud où un grand nombre a été employé comme les médicaments traditionnels ayant principalement des propriétés anti dysentériques, cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales, importée en Algérie en 1847 [27].

I.4.1. La description botanique du *pélargonium graveolens*

Il y a environ 200 espèces distinctes de genre *Pélargonium* dont *Le pélargonium graveolens* appartient à la famille des Geraniaceae. Il porte différents noms dont géranium rosat, géranium odorant, *pélargonium x asperum* Ehrh [8].

Les fleurs de *Pélargonium graveolens* sont disposées en une inflorescence ressemblant à une ombelle : l'inflorescence est la disposition des fleurs sur la tige d'une fleur. Tous ont des poils pétiolés, généralement glandulaire, feuilles palmées à profondément palmées; les divisions dentées ou lobées. Les feuilles de la tige sont normalement opposées mais les feuilles inférieures peuvent être alternes [27].






Figure I.7. Fleurs de *pélargonium graveolens*

I.4.2. Les caractéristiques morphologiques

Le *Pélargonium graveolens* est un arbrisseau, il peut atteindre jusqu'à 1,30 m de haut et s'étalant sur 1 m de large, érigé, assez rameux.

- Les feuilles sont odorantes, opposées, persistantes, découpées, cerclées, d'environ 4 x 6 cm. Elles sont douces et recouvertes de poils qui donnent un aspect velouté, aromatiques et défensifs contre les insectes, les pucerons par exemple. Lorsqu'on froisse la *feuille*, elle dégage un puissant parfum de rose citronné.
- Ses fleurs roses, à pétales sont souvent d'une coloration très foncée. En effet, elles montrent 5 pétales roses, dont certains se chevauchent et parmi lesquels 2 sont lignés de rouge. Elles sont en grappe et groupées par 2 Facile de culture et résistant à la sécheresse, il fleurit dès avril et pendant toute la belle saison [39].
- Etamines 5 ou 10 et 15, puis en deux verticilles, parfois quelques stériles, filaments libres ;
- Pétales 5 (4, 2 ou 0), libres, imbriqués ;
- Ovaire à 5 lobes ; [26].

Tableau I.2. Comparaisons entre *P. graveolens* et autres espèces plus connues de *P.*

| | |
|---|---|
| <p><i>Pélargonium graveolens</i></p> | <ul style="list-style-type: none"> - Il peut atteindre 1,30 m de haut et s'étalant sur 1 m de large ; - Les feuilles sont cerclées, d'environ 4 x 6 cm ; - Ses fleurs roses, 5 pétales ; [26].  |
| <p><i>Pélargonium radens</i></p> | <ul style="list-style-type: none"> - <i>P. radens</i> est un arbrisseau érigé, dense, pérenne, <i>Il est un peu long que P. graveolens de 1,50 m de haut ;</i> - Ses feuilles sont extrêmement divisées, pédalées, avec des segments étroits. Elles sont rugueuses au toucher et assez grandes de 3 x 5 cm jusqu'à 11 x 15 cm, avec repliées vers la face inférieure ; [33].  |
| <p><i>Pélargonium zonale</i></p> | <ul style="list-style-type: none"> - <i>P. zonale</i> est 1 m de haut, mais pouvant aussi ramper sur le sol. - Les feuilles sont cordiformes, traversées par une bande annulaire brune, de 2 à 8 cm de diamètre ; <p>Les fleurs ont pétales sont généralement de couleur rose pâle et parfois blanc ou rouge, Il y a 7 étamines fertiles et 2 très courtes ; [40].</p>  |

Pélargonium radens et *Pélargonium zonale* peu connus en Algérie, le grand public confond avec le genre géranium néanmoins ils sont connus dans les milieu universitaires ou dans le domaine de la recherche.

I.4.3. Taxonomie :

P. graveolens est connu avec d'autres noms régionaux dans différentes parties du monde, tels que :

Algérie : Attarcha

Anglais : rose *geranium*

Afrique du sud : *pelargonium graveolens*

France : *géranium rosat* [17].

Inde et Madagascar : géranium Bourbon

Le tableau suivant représente la classification de *Pélargonium graveolens*, selon l'agence du département de l'agriculture des États-Unis (United States Department of Agriculture, USDA)

Tableau I.3. Classification de *Pélargonium graveolens*

| | |
|-----------------|--------------------|
| Règne | Plante |
| Division | Plantes à fleurs |
| Classe | Dicotylédone |
| Ordre | Géranial |
| Famille | Géraniacée |
| Genre | <i>Pélargonium</i> |
| Espèce | <i>Graveolens</i> |

[26]

I.4.4. Cultivation du *pélargonium graveolens*

L'usage principal des espèces de *pélargonium* est en phytothérapie, tandis que celui de L'huile de géranium dérivée de *pélargonium* est utilisée dans plusieurs domaines, en aromathérapie des produits, en cosmétique et en parfumerie [3].

- Cette plante odoriférante cultive dans les endroits ensoleillés à mi- ombragés et elle a besoin d'une bonne terre perméable et riche en humus (la couche supérieure du sol créée et modifiée par la décomposition organique). Il faut en tout cas éviter l'eau stagnante qui risque de faire pourrir les racines. Les *pélargoniums* doivent rester dehors, dans un endroit protégé, pendant les mois d'été. Le mieux est de le cultiver dans un récipient afin de pouvoir le rentrer en hiver. L'odeur des feuilles est la plus intense peu avant la floraison. Une taille modérée à deux reprises pendant les mois d'été favorise une croissance saine et dense. Comme les plantes ne supportent pas le gel, elles doivent passer l'hiver dans un endroit clair et plutôt frais [41-42].
- Les espèces de *pélargonium* sont cultivées depuis longtemps en raison de leurs parfums attrayantes des couleurs vives. L'huile de ce dernier, qui est dérivée de plusieurs espèces de *Pélargonium*, est une culture végétale importante. Il n'est donc pas étonnant que l'étude chimique du *pélargonium* s'est concentrée sur les huiles essentielles présentes. Plus de 120 constituants volatils ont été détectés [27].

I.4.5. Valorisation du *pélargonium graveolens*

Plusieurs pays intéressent à l'amélioration variétale de ce dernier, Les travaux réalisés en France et en Algérie, en URSS, et au Japon ont progressivement l'élaboration de plusieurs hypothèses de travail et sont caractéristiques des difficultés rencontrées par les sélectionneurs dans ce domaine. Au début du siècle, l'amélioration variétale des plantes cultivées passait nécessairement par l'hybridation, seule technique alors connue et opérationnelle pour accroître la variabilité au sein d'une population et assurer le brassage et la recombinaison des caractères, en effet ceci permis à obtenir plusieurs espèces distinctes [43].

Commercialiser sous le nom " Géranium huile " est obtenue à partir des feuilles de cette dernière, d'un certain nombre de cultivars (variété de plante obtenu en culture) de *Pélargonium* cultivés principalement à la Réunion (département français), en Chine, en Egypte et au Maroc. Il existe cependant un grand nombre d'espèces parfumées, hybrides et cultivars qui sont actuellement inexploités, mais présentent certains potentiels comme agents odorants pour la parfumerie et l'industrie alimentaire, agents antimicrobiens.[27].

I.4.6. Utilisation de pélargonium graveolens dans les divers domaines**A. Les propriétés thérapeutiques**

Le *Pélargonium graveolens* a été utilisée en médecine traditionnelle depuis longtemps pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Par exemple, pour le traitement des 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 fait partie des 20 meilleures huiles essentielles au monde, Il est connu pour ses propriétés pharmacologiques dans le traitement de la bronchite, de la fièvre, Diarrhée, la toux, la gastro - entérite et les autres affections respiratoires [26].

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

Le pélargonium 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 terpénique, cela a prouvé que HE de pélargonium graveolens a des propriétés thérapeutique importantes [44].

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 [11].

Après la récupération de l'huile essentielle de pélargonium graveolens, Il était utilisé et continuer d'être utilisé en aromathérapie par voie interne et externe [19].

C. Dans le domaine Agroalimentaire

La FEMA (Flavor and extract manufacturers association) La FDA ont approuvé que l'utilisation de HE de pélargonium graveolens pour l'usage alimentaire.

Cette huile essentielle est également enregistrée par le conseil de l'Europe dans la liste des épices [1].

P. graveolens dans l'industrie alimentaire est employé pour son activité antimicrobienne. L'huile essentielle a montré à travers de nombreuses études son efficacité dans la lutte contre les bactéries et les champignons. Cette action antimicrobienne a conduit à tester l'huile contre les agents pathogènes de détérioration des aliments et a montré des résultats prometteurs. Assez pour qu'il soit hautement considéré dans l'industrie alimentaire comme agent conservateur [45].

Elle joue le rôle d'antioxydant car c'est une des propriétés qui contribue à la popularité dont jouissent les aromates et les épices. Il est employé de plusieurs manières dont on peut utiliser les feuilles et les fleurs généralement délicates de la plante dans la cuisine. Des fleurs pour décorer une salade mettent non seulement une note colorée, mais également des accents goûteux. Les feuilles finement hachées peuvent servir pour assaisonner des sauces, des flans et pour confectionner des confitures et du sirop. Mais les biscuits, gâteaux et pains peuvent également être aromatisés avec les différentes fragrances des *pélargoniums*. Les feuilles odorantes et les fleurs graciles de la plante sont bien sûr aussi parfaites pour décorer une table festive, et un pot-pourri de fleurs et d'arômes envoûtants est un magnifique cadeau très personnel.

D. Cosmétique et parfumerie

L'huile essentielle de géranium est l'une des huiles les plus sollicitées et commercialisées dans le monde de la parfumerie. En effet elle occupe une place très importante dans les formulations en parfumerie par ses composants citronellol et géraniol utilisés pour la synthèse et la fabrication de nombreux parfums de qualité supérieure [11].

Les propriétés chimiques et cutanées de HE de *pélargonium graveolens* ainsi son odeur suave, à permettre l'introduction de cette dernière dans l'industrie de la parfumerie, crèmes et produit cosmétique, la qualité de HE est influencées par l'origine géographique de la plante. Le Géranium de Grasse possède une odeur rosée, particulièrement fine, tenace, suave et forte, très voisine de celle de l'huile essentielle de rose. L'odeur du Géranium de la Réunion est rosée de feuille, aux accents de menthe poivrée, tandis que celle d'Afrique est plus légère, un peu moins menthe avec une puissante note de rose. Quelques parfums connus renferment du *pélargonium*, on les cite : Brut (Fabergé), Déclaration (Cartier), Miss Dior (Dior), Calèche (Hermès) et Habit rouge (Guerlain) [46].

- En plus il est utilisé dans plusieurs domaines, protection contre l'herbivore par les tétaniques à deux points a déjà été démontré dans le cas des dérivés d'acide salicylique. Une écologie chimique intéressante commence déjà se développer dans le cas de ces plantes et de leurs ennemis naturels.
- Ses feuilles, emballées dans un sachet odorant, peuvent également servir de diffuseur de parfum.

I.5. Propriétés physico-chimiques de HE de *P. graveolens*

La détermination des mesures physico-chimiques de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* a été notée selon les normes ISO et AFNOR 2000.

Tableau I.4. Paramètres physico-chimiques de HE

| paramètres | Comores [47] | France [31] | AFNOR [68] |
|----------------------------------|--------------|-------------|------------------|
| Densité | 0.892 | 0.905 | De 0.884 à 0.892 |
| Indice de réfraction(v/v) | 1.466 | 1.44700 | De 1.461 à 1.470 |
| Miscibilité à l'éthanol | 3 | 2-3 | 3-5 |

Selon l'Association Française de Normalisation : AFNOR 2000

- ✓ Densité relative à 20°C

La densité relative à 20°C d'une huile essentielle est définie comme étant le rapport de masse d'un volume d'huile essentielle à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C.

Si la densité est inférieure à 0.9, les essences des plantes végétales sont riches en terpènes.

Dans le cas où elle est supérieure à 1, les essences des plantes végétales contiennent des composés aromatiques, des sulfures et des nitrites.

Enfin si la densité est comprise entre 0.9 et 1, les essences ont une composition encore plus complexe [48].

- Liquides à température ambiante
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en terpènes (monoterpènes) et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera

un indice élevé, cependant une teneur en excès en dérivés oxygénés produira l'effet inverse ;

Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air [7].

I.5.1. Propriétés organoleptiques de HE de *P. graveolens*

En général, elle est présentée par les caractéristiques organoleptiques par l'aspect, la couleur et l'odeur de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* ont été signalée selon plusieurs travaux antérieurs.

Ces paramètres organoleptiques de HE de *P. graveolens* sont résumés dans le tableau I.5, répertoriés dans les normes AFNOR et ISO 4731

Tableau I.5. Caractéristiques organoleptiques de HE de *P. graveolens*

| | |
|------------------|--------------------|
| Apparence | Liquide limpide |
| couleur | Jaune à vert clair |
| odeur | Rosée Citronnée |

L'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* est liquide à température atmosphérique et à pression ambiante.

Sa densité est de 0,85.

Un litre d'huile essentielle pèse 850 grammes.

I.5.2. Toxicité de l'huile essentielle *P. graveolens*

Le *Pélargonium graveolens* est classé comme plante atoxique. Une sensibilisation évoluant vers une véritable allergie est possible. Les réactions allergiques à cette plante sont néanmoins rares. Une étude danoise effectuée 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 [10].

Pélargonium 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 dont la composition chimique est proche de celle de l'huile essentielle de Pélargonium graveolens avec la présence de citronellol (10 à 35%) et de géraniol (18 à 21%) [49-51].

*Chapitre II : MATERIEL ET
METHODES*

Chapitre II : Matériel et méthodes**II.1. Matériel végétal**

Le pélargonium graveolens a été recueilli dans la commune de Miliana, elle est située au nord de la wilaya d'Aïn Defla. La ville se situe à 114 km au sud-ouest d'Alger (36° 17' nord, 2° 13' est), elle est limitée au Nord par la wilaya de Tipaza, à l'Ouest par la Wilaya de Chlef, au Sud par la Wilaya de Tissemsilt et à l'Est par les Wilayas de Blida et de Médéa [52].

Les échantillons de pélargonium de graveolens ont été récoltés en pleine floraison durant le mois d'avril 2021. Seule la partie aérienne (feuilles et fleurs) qui a été collectée en début de matinée afin que le matériel végétal soit le plus frais possible [7].

II.1.1. L'identification de l'échantillon

La plante a été identifié par le **Dr. Benmoussa Kouache**, enseignant chercheur au niveau du département SNV à l'université de Djillali Bounaama Khemis Miliana.

II.2. Préparation et conservation de pélargonium graveolens récolté

Après l'identification de l'échantillon, Les feuilles et les fleurs de *pélargonium graveolens* fraîchement recueillies, sont séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré (ventilation) pendant environ trois semaines. Elles sont récupérées dans des sac propres pour servir ultérieurement à l'extraction de l'huile essentielle et de polyphénols [7].



Figure II.1. Feuilles *P. graveolens* séchées

II.2.1 Produits chimiques et matériels utilisés

Choix de paramètres de produits chimiques :

- La solubilité de l'espèce à extraire avec le solvant
- Leur température d'ébullition est inférieure à 100 °C
- Toxicité peu élevée
- Disponibilité de solvants etc.

Les principaux paramètres de ces produits chimiques sont résumés dans le tableau suivant,

Tableau II.1. Produits chimiques utilisés

| Produits chimiques utilisés | Degré de pureté(%) | Température(°C) | Densité à 20°C (g/cm³) |
|---|---------------------------|------------------------|--|
| Ethanol (CH ₃ CH ₂ OH) | 96 | 78 | 0.79 |
| Butanol (C ₄ H ₁₀ O) | 98.5 | 117 | 0.81 |
| Éther de pétrole (CH ₃ -(CH ₂) _n -CH ₃) | imprécis | 40 à 60 | 0.65 |
| Éther diéthylique Ether diéthylique(CH ₃ -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₃) ; | 99.5 | 35 | 0.71 |
| Chloroforme (CHCl ₃) | 99 | 61 | 1.48 |

II.3. Extraction de HE de *P. graveolens*

L'extraction d'huile essentielle de cette plante a été effectuée au laboratoire de génie des procédés à l'université de Djillali Bounaama Khemis Miliana. L'huile essentielle de *pélargonium graveolens* a été obtenue par la technique d'hydrodistillation (Clevenger).

- **Mode opératoire**

Une masse de (50 g) de notre plante *pélargonium graveolens*, sèche, finement découpées afin de diminuer la surface de contact vapeur-les feuilles, est introduite dans un ballon en verre de 1000 ml contenant une quantité suffisante d'eau distillée (600ml). Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon, au fur et à mesure les vapeurs chargées d'huiles essentielles et hydrolat passent à travers le tube vertical puis dans le réfrigérant, où on aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée.

En raison de la différence de densité, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau. L'hydrodistillation dure 3 heures et demi. Les huiles essentielles obtenues sont récupérées avec la seringue et mises dans un flacon à l'abri de la lumière et stockée à (4-6°C) jusqu'aux tests de chromatographie en phase gazeuse, tests antioxydantes et tests antimicrobiens.

- La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique.
- La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. Dans cette étude la durée est en général à 3h et demi [30].



Figure II.2. Montage appareil d'hydrodistillation de type Clevenger.

II.3.1. Conservation de l'huile essentielle de *pélargonium graveolens*

La conservation des huiles essentielles s'est fait dans les condition prédéfinies (précautions indispensables):

C'est la raison pour laquelle la conservation de l'huile essentielle exige à une température voisine de 4 °C, dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière.

II.3.2. Détermination du rendement de l'huile essentielle de *P. graveolens*

Le rendement en huiles essentielles est déterminée, la masse d'huile extraite par rapport à la masse de matière sèche utilisée à l'extraction. Autrement dit, le volume d'huile recueilli doit être quantifié en liaison avec la quantité placée dans le ballon. Il faut savoir que plusieurs calculs existent et diffèrent selon qu'il s'agisse de matière fraîche ou sèche. En conséquence, la détermination du rendement peut s'effectuer en deux temps :

- Dans cette étude, La formule ci-dessous permet de déterminer le rendement en huile essentielle de pélargonium de graveolens.

$$R (\%) = \frac{V}{MS} * 100 \dots (II.1.)$$

Avec :

R : rendement de l'huile essentielle en pourcentage (%)

V : volume de l'huile (ml) recueillie

MS : masse de matière sèche (g)

II.3.3. Analyse chromatographique de l'huile essentielle de P. graveolens

La composition de l'huile essentielle du Pelargonium graveolens a été réalisée au laboratoire de Valorisation des Substances Naturelles à l'université de Khemis Miliana.

L'analyse chromatographique permet d'identifier des divers constituants d'huiles, par couplage d'un chromatographe en phase gazeuse à un spectromètre de masse (GC/MS) [53].

L'ordinateur enregistre les données provenant du spectromètre de masse et les convertit en valeurs des masses et des intensités des pics et en courant ionique total voir 1 schéma de GCMS(annexe). Il permet l'examen des données enregistrées et leur manipulation (spectres de masse, chromatogrammes reconstitués, soustraction d'un spectre par rapport à un autre, calcul d'une moyenne sur plusieurs spectres, etc.) [34,54-57].

Les conditions opératoires de GC-MS

L'analyse chromatographique a été effectuée sur un chromatogramme en phase gazeuse à régulation électronique de pression de 57.4 kPa, équipé d'une colonne capillaire en silice 30 m de longueur, 0,25mm de diamètre et 0,25µm d'épaisseur de film, d'un détecteur à ionisation de flamme réglé à 250°C et alimenté par un mélange de gaz injecteur split réglé à 240°C. Le gaz vecteur est l'argon à 1ml/min. Le mode d'injection est split, la température de la colonne est programmée de 40°C (V :3 mm/min) à 250, la durée totale d'exécution était de 47 min. La plage de masse de balayage était de 45 à 500 m/z à un taux d'échantillonnage de 1,0 balayage/s. La température a été programmée pour augmenter de 4°C/min avec une température finale de 240°C.

II.3.4. Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle

Le pouvoir antioxydant de cette huile et ces extraits est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Il est présent surtout dans les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir. Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, il y a deux sortes,

selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive(indirecte).

Les composés ayant une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto catalytique de l'oxydation. Par contre, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc.

Des études ont dévoilé que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation [58, 59].

1. Protocole suivi lors du calcul de l'activité antioxydante : [17]

Cent microlitres (100µl) de 3 différentes dilutions d'huiles essentielles seront mélangés avec 2.9 ml de la solution d'éthanol de DPPH• de 0.004% (p/v) dans des tubes à essai secs.

Après 30 min d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517nm.

Le contrôle négatif est composé de 100µl d'éthanol et de 2.9ml de la solution de DPPH.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'absorbance de l'acide ascorbique est mesurée dans les mêmes conditions que celle de l'huile essentielle.

2. Préparation des dilutions de l'huile essentielle :

En se basant sur des essais préalables, une gamme de dilutions de concentrations allant de 100µg/ml à 1000µg/ml a été préparée comme suite :

- Peser 100mg de l'huile essentielle de pélargonium graveolens par une balance analytique (précision de 0.0001g) ;
- Introduire ces 100mg dans un tube à essai contenant 10 ml d'éthanol (solution A) (10 000µg/ml) ;
- Introduire ensuite 1 ml de la solution (A) dans un tube contenant 9ml d'éthanol (solution B) (1 000µg/ml) ;

- Introduire 0.8, 0.4, 0.2, et 0.1 ml de la solution (B) dans des tubes contenant 9.2, 9.6, 9.8 et 9.9 ml d'éthanol, respectivement pour avoir les concentrations 800, 600, 400, 200 et 100 µg.ml⁻¹.

Expression des résultats l'activité anti radicalaire :

En appliquant la formule suivante : $PR = (AC - AE)/AC.100\dots$ (II.2.)

PR : pouvoir de la réduction en % ;

AE : absorbance de la solution de DPPH• en présence de l'huile essentielle ou de la vitamine C

AC : absorbance de la solution de DPPH• en absence de l'huile essentielle et de la vitamine C.

II.4. Extraction de polyphénols de *P graveolens* par l'appareil de Soxhlet.**II.4.1. Mode opératoire**

On introduit 10 g de poudre de la plante dans la cartouche filtrante et 200 mL de solvant dans le ballon. Cette extraction en continu est menée jusqu'à extraction totale des composés extractibles. La durée d'extraction est environ 3h.

On a effectué des extractions successives par différents solvants, du plus polaires au moins polaires : l'éthanol, l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et butanol ont été réalisées à la température d'ébullition de chaque solvant [2].

L'extrait à l'hexane contient des composés apolaires, tandis que le chloroforme extrait les composés peu polaires et que l'acétate d'éthyle permet d'obtenir un extrait riche en composés moyennement polaires. Le méthanol, solvant le plus polaire, extrait, quant à lui les composés les plus polaires.



Figure II.3. Procédé d'extraction par Soxhlet

Le montage de l'appareil Soxhlet est constitué d'un corps en verre, dans lequel on place une cartouche en papier épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu.

La cartouche contenant le solide à extraire (10g de l'échantillon) est introduite dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant.

- Extracteur proprement dit permettant le contact entre le solvant et le solide dans une cartouche poreuse ;
- Siphon qui permet l'évacuation de la solution de la matière solide vers le ballon ;
- Réfrigérant à eau qui permet la condensation des vapeurs de solvant dans la cartouche. Le solide est toujours en contact avec le solvant pur grâce au remplissage régulier de la cartouche, ce qui présente les meilleures capacités de solubilisation des composés à extraire ;

Le ballon est chauffé, le liquide étant amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant passent à travers le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites qui est l'échantillon de pélargonium de graveolens.

Ainsi de suite le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche. La séparation de soluté solvant et soluté s'est faite à l'aide d'un rotavapeur (annexe 2 figure I.1.). [60].

II.4.2. Dosage des composés phénoliques présents dans le *P. graveolens*

1. Détermination de Polyphénols dans les extraits de *P. graveolens*

Une prise de 125 µl de l'extrait dilué 10 fois est mélangée avec 500µl d'eau distillée et 125µl du réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse du mélange suivie d'un repos de 3min, une prise de 1250 µl de $\text{CO}_3(\text{Na})_2$ à 7 % est additionnée. Enfin le mélange obtenu est ajusté par de l'eau distillée à 3 ml. Après un repos de 90 min à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm. La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations variant de 50 à 500 mg.l^{-1} . Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG.g^{-1} MS).

2. Détermination des Flavonoïdes

Une prise de 0.25 ml de chaque extrait dilué 5 fois a été additionnée de 0.075 ml de NaNO_2 (5%). Le mélange est laissé pendant 6 min avant d'ajouter 0.15 ml de chlorure d'aluminium ($\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$, 10%) fraîchement préparé. Une seconde incubation de 5 min à une température ambiante est effectuée, suivie de l'ajout de 0.5 ml de NaOH (1M). Le mélange est par la suite ajusté avec de l'eau distillée à un volume final de 2.5 ml. La lecture de l'absorbance a été faite à 510 nm. La gamme étalon est préparée avec de la catéchine à des concentrations croissantes allant de 50 à 500 mg.l^{-1} . Les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC.g^{-1} MS).

II.4.3. Séparation de composés phénols par Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une technique de séparation dans un but de purification notamment l'identification d'espèces chimiques et la mise en évidence des constituants d'un mélange. Le principe de cette méthode est basé sur la répartition sélective des constituants à séparer entre deux phases, la phase mobile et la phase stationnaire.

- Une phase stationnaire, comprend une couche mince de matériel adsorbant souvent constitue de gel de silice, de l'oxyde d'aluminium : on a tracé sur la plaque une ligne horizontale avec le rayon, 1 cm du bas de la plaque (la ligne de dépôt), mettre des

marques suffisamment espacés sur la ligne de dépôt et on a déposé quelques gouttes de chaque échantillon ;

- Eluant est une phase mobile : un mélange de trois solvants butanol (40-60%), éther de pétrole et acide éthylique, cet éluant qui entrainer les échantillons déposés sur la plaque CCM par un phénomène de capillarité ;
- On verse l'éluant dans la cuve, 10 millilitres d'éluant au fond de la cuve et l'a fermée pour que l'éluant ne s'évapore pas ;
- Mettre la plaque CCM préparée dans la cuve et fermer la cuve, la ligne de dépôt est toujours dessus de l'éluant, on a laissé cette dernière pendant 3h dans la cuve avant d'être retirée, tracer rapidement le front du solvant par l'éluant et sécher à l'aide d'un sèche-cheveux ; [61].

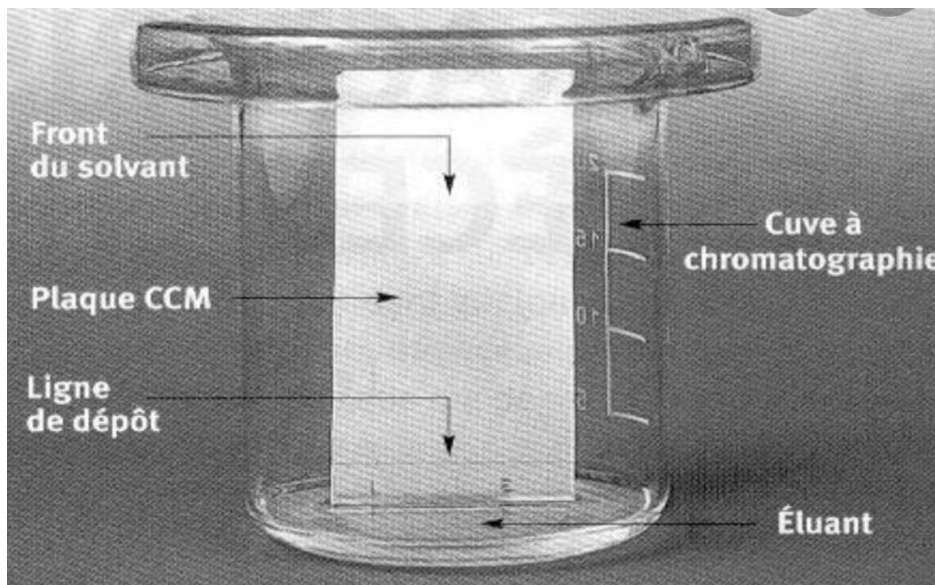


Figure III.4. Cuve de chromatographie CCM

A. Détermination de rapport frontal

Le niveau de migration des espèces chimiques mises en jeu dans un chromatogramme, est défini par son rapport frontal, noté R défini par la relation suivante

$$R_f = \frac{h}{H} \dots \dots (II.3.)$$

B. Révélation de la plaque CCM

La révélation est une étape nécessaire quand les espèces chimiques à analyser sont incolores, on procède par la manière suivante :

- Il est possible de révéler les tâches à l'aide d'une lampe à ultraviolets et on entoure la position des taches au crayon sous la lampe UV.
- Dans notre cas, on a fait la révélation chimique. En effet, consister à révéler les taches à l'aide de la substance chimique permanganate de potassium.

II.4.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

Le but de cette analyse est de montrer l'effet anti-bactérien des extraits de pélagonium graveolens. En effet elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines.

L'activité antimicrobienne de tous les extraits a été testée en utilisant la méthode de diffusion sur disque [41]. Les suspensions bactériennes des souches testées, à une turbidité comparable à celle du standard de turbidité (McFarland 0,5) ont été diluées dans du sérum physiologique pour obtenir un inoculum final de 10^7 CFU/ml. (CFU : unité formant colonie est une unité utilisée pour estimer le nombre de bactéries dans un échantillon)

McFarland 0,5 : en ajoutant 0,5 ml de d'hydrate de chlorure de baryum ($BaCl_2 \cdot 2H_2O$) à 1,175 % (p/v) à 99,5 ml d'acide sulfurique à 1 %, [70].

Ensuite, les suspensions ont été étalées uniformément sur des plaques de gélose à l'aide d'écouvillons stériles. L'extrait de pélagonium a été dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) pour obtenir la concentration de 100 μ mg/ml. Ensuite, un disque filtrant de 6 mm de diamètre a été placé de manière aseptique sur les plaques de gélose, 15 min plus tard, une aliquote de 10 l d'extrait dissous dans le DMSO a été ajoutée sur les disques, agitée et incubée à 37°C pendant 24h.

Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides minimales ; la CMI a été définie comme la concentration la plus faible de l'extrait à laquelle les micro-organismes n'ont montré aucune croissance visible. La concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits a été réalisée en utilisant la méthode de micro-dilution en bouillon [30].

Le MBC a été défini comme la concentration qui ne présentait aucune croissance des colonies par rapport à la culture de l'inoculum initial, de la même souche. La concentration inférieure qui n'a présenté aucune croissance sur TSA a été considérée comme le MBC.

L'extrait végétal est considéré comme bactéricide si le rapport MBC/MIC est 2, et sinon comme bactériostatique. Un rapport, 16, fait allusion à l'inefficacité de l'extrait.

II.4.4.1. Préparation de Souches bactériennes

L'activité antibactérienne des extraits de *P. graveolens* a été évaluée contre trois bactéries Gram-négatives et deux bactéries Gram positives sont représentées dans le Tableau II.2.

Tableau II.2. Bactéries Gram-négatives et Gram positives

| Bactéries Gram-négatives | Bactéries Gram-positives |
|--|--|
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 | <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932 . |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 | |

Ces souches ont été obtenues auprès du Laboratoire d'Analyses Médicales du **Dr. Zibouche** à Ain-Defla et du Laboratoire d'Analyses Médicales du **Dr. Djendli** à Relizane, et avant de procéder aux expériences, les cultures bactériennes ont été ensemencées sur Tryptone Soya Agar (TSA) à partir du stock congelé et incubées à 37°C pendant 24 h.

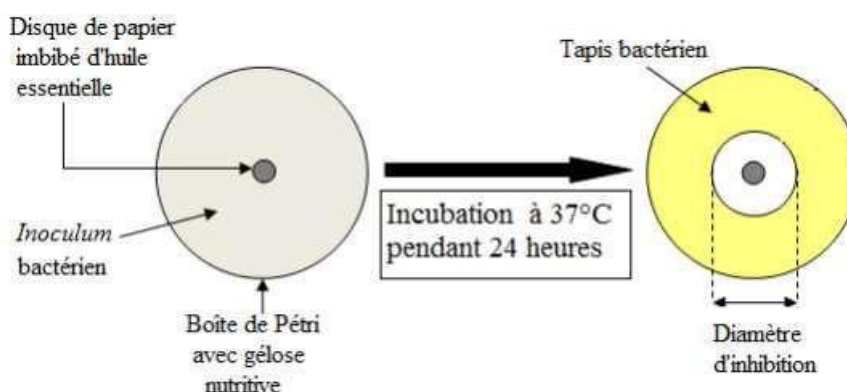


Figure II.5. Méthode de préparation de souches [62]

III.4.5. L'analyse HPLC des composés polyphénoliques

La chromatographie en phase liquide à haute performance est une méthode de séparation des constituants d'un composé complexe. En effet Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution d'abord, puis ils sont introduits dans la phase mobile liquide (éluant). Grâce à la répartition sélective des solutés entre la phase mobile et la phase stationnaire, chaque soluté est donc soumis à une force de rétention exercée par la phase stationnaire, et une force de mobilité due à la phase mobile.

L'analyse HPLC des composés polyphénoliques a été réalisée à l'institut de recherche de Bousmail.



Figure II.5. L'appareil HPLC

Les conditions opératoires de HPLC

L'analyse HPLC des composés polyphénoliques a été réalisée à l'aide d'un système Agilent YL 9100 HPLC Séries équipé d'un échantillonneur automatique YL9150 couplé à un détecteur à barrette de diodes HP 1260 et à une injection automatique d'échantillon. La colonne est une XDB ECLIPSE C18 agile, 4,6 x 250 mm, 5 μm ; boucle de 20 μL ; débit de 1 ml/min ; la phase mobile a été préparée à partir d'acide acétique ajouté à 1 % d'eau (A) et du méthanol (B) (V/V) a été utilisé comme suit :

0 min/95 % (PA), 5 % (PB) ; 55 min/5 % (PA), 95 % (PB); 60 min/95% (PA), 5% (PB);. Le post time de 10 min a été appliqué pour l'équilibrage de la colonne. Le débit était de 1,0 ml min⁻¹. La température du compartiment de colonne thermostaté a été maintenue à 35°C pendant chaque séparation chromatographique et le volume d'injection est de 10 μl . Tous les solvants ont été filtrés sur des filtres de 0,5 μm (Sartorius). Les données chromatographiques ont été traitées à l'aide du logiciel YL-CLARITY, modèle 195_7016_02. L'acquisition a été fixée à 254 et 280 nm (acquisition spectrale dans la gamme 200-400 nm).

Cette analyse HPLC des composés standard absorbés à différentes longueurs d'onde de la catéchine (280 nm), rutine (254 nm), Les composés polyphénoliques dans les extraits de pélagonium ont été identifiés par la colonne (C18, 280mm/4.6mm), détectés UV visibles, en comparant les temps de rétention et le spectre avec les composés standard et quantifiés par l'équation linéaire. La régression (R²) les valeurs de tous les composés sont dans la plage de 0,96.

***CHAPITRE III : RESULTATS ET
DISCUSSIONS***

Chapitre III : Résultats et discussions**III.1. Déterminations du rendement de l'huile essentielle de P. graveolens**

Le rendement de l'huile essentielle obtenue est : 0.11%

Le tableau III.1. représente le rendement de l'huile essentielle de P. graveolens avec ceux des huiles essentielles de certains pays.

Tableau III.1. Rendements de certaines HES avec celui de l'échantillon

| Huiles essentielles | Rendements de HES(%) |
|----------------------------|-----------------------------|
| rendement obtenu | 0.11 |
| Maroc [64] | 0.10 |
| France [31] | 0.15 |
| USA [64] | 0.18 |
| Portugal [68] | 0.20 |
| L'île de la Réunion [68] | 0.15 |
| Algérie[7] | 0.08-0.1 |

Le rendement de l'échantillon obtenu (0.11%) est similaire celui de Maroc [64] relativement le même que ceux des autres auteurs.

III.2. Identification de l'huile essentielle de P. graveolens par GCMS

L'étude de la composition de l'huile essentielle de Pélargonium graveolens par la méthode de chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, nous a permis d'identifier les 150 constituants de cette huile (annexe 4 Tableau .1.) dont les 23 sont majoritaires avec un pourcentage de 72.04%. Parmi les composants majeurs sont : le citronellol (10.38%), Y-eudesmol (9.64%), Nerol (5.59%), Acétate de (S)-citronellol (5.55%).

Le tableau III.2.rassemble les données expérimentales à savoir les noms des différents composés identifiés, le temps de rétention et leurs pourcentages.

Tableau III.2. Composition relative de l'huile essentielle de *P. graveolens*

| N° | Nom de composé identifié | Temps de rétention(min) | Pourcentages(%) |
|----|--|-------------------------|-----------------|
| 1 | <i>Linolool, formate</i> | 10 | 1.64 |
| 2 | DL-Menthone | 12.2 | 1.37 |
| 3 | <u>Citronello</u> | 14.5 | 10.38 |
| 4 | <i>Nerol</i> | 15.3 | 5.98 |
| 5 | <i>Acétate de (S)-citronello</i> | 16 | 5.55 |
| 6 | <u>Geranyl acetate</u> | 17 | 3.07 |
| 7 | <u>α-Terpinyl acetate</u> | 18.5 | 1.53 |
| 8 | NERYL ACETATE | 19.5 | 0.78 |
| 9 | <i>caryophyllène</i> | 20.9 | 2.44 |
| 10 | <u>Geranyl propionate</u> | 22.6 | 1.14 |
| 11 | <i>Germacrene D</i> | 22.9 | 5 |
| 12 | <u>δ-Curcumene, α- Sesquiphellandrene</u> | 23.3 | 1.96 |
| 13 | <u>Viridiflorine</u> | 23.4 | 2.31 |
| 14 | <u>trans-γ-cadinene, trans-γ- cadinene</u> | 24.2 | 3.69 |
| 15 | <u>Neryl butyrate</u> | 25 | 3.08 |
| 16 | Phénéthyl tiglato | 26.1 | 3.05 |
| 17 | <i>Y-eudesmol</i> | 27.3 | 9.64 |
| 18 | <i>Agarospinol</i> | 27.6 | 0.81 |
| 19 | <i>Guaiacwood</i> | 27.9 | 0.82 |
| 20 | RSIFOLIOL | 28.1 | 1.29 |
| 21 | <u>α-Cadinol, τ-Cadinol, Pilgerol, Cadinol</u> | 28.2 | 2 |
| 22 | <i>Turmerone</i> | 28.5 | 1.85 |
| 23 | <i>Geranyl tiglato</i> | 29.5 | 4.3 |
| | Pourcentage total de tous composés retenus dans ce tableau. | | 72.04% |

Discussion

la compositions chimique de l'HE de *pélargonium graveolens* est essentiellement constituée de : citronellol(10.38%) , Y-eudesmol(9.64), Nerol (5.98%), Acétate de (S)-citronellol (5.55%), Germacrene D (5%), trans- γ -cadinene, trans- γ -cadinene (3.69%), Geranyl tiglate (4.3%) Geranyl acetate (3.07%).

Le reste des composées représentent un faible pourcentage inférieur à 0.5%, plus de 127 composés (annexe 5 figure I.3.) n'ont pas été pris en compte vue leur pourcentage est très faible considérés comme des traces de composés.

Selon la littérature, le pélargonium graveolens est composé majoritairement de citronellol plus de 40% la plupart des études réalisées, par contre dans cette analyse chromatographique, on a trouvé seulement 10.38%. En effet, ce faible pourcentage de citronellol peut aussi être associée aux solvants utilisés dans cette étude, en l'occurrence l'hexane (5ml), iso-odane (5ml) et qui peuvent avoir un effet sur l'efficacité des principes actifs extraits de la plante c'est-à-dire la composition chimique de l'huile essentielle de P. graveolens.

III.3. Évaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'huiles essentielle a été comparé sa concentration inhibitrice avec celle de l'acide ascorbique, les résultats de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de P. graveolens et acide ascorbique sont présentés sur les figures suivantes.

On a tracé les courbes représentatives de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration.

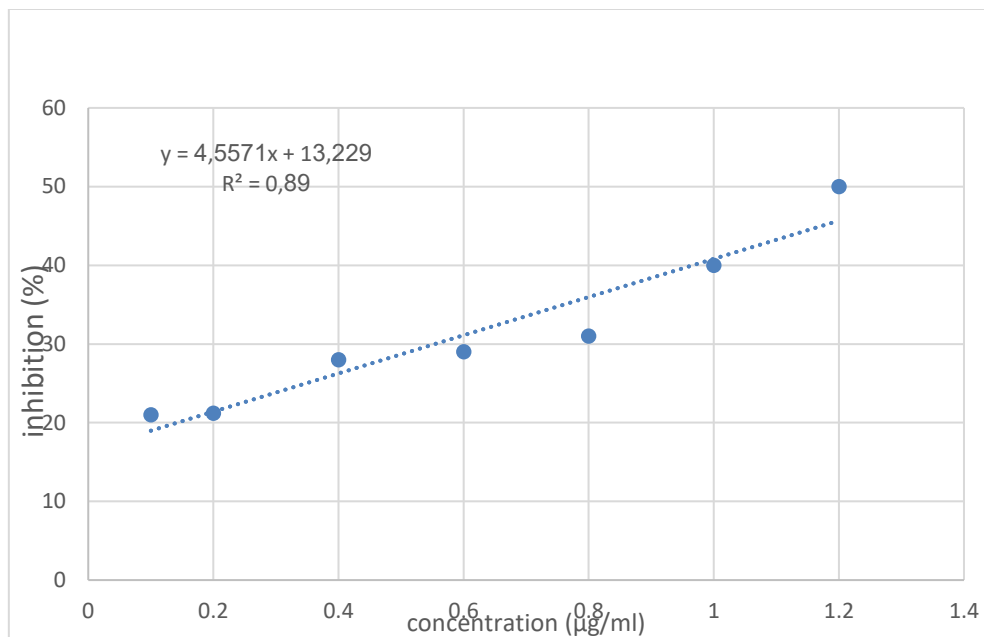


Figure III.1 : Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle

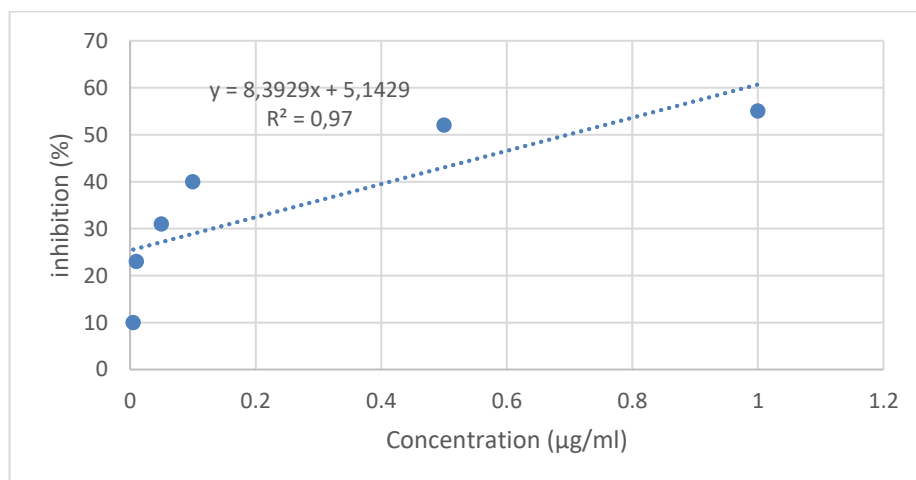


Figure III.2 : Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration de l'acide ascorbique

Détermination de la concentration inhibitrice IC₅₀

On a déterminé les valeurs des concentrations inhibitrices IC₅₀ de l'huile essentielle de *P. graveolens* et de l'acide ascorbique à partir l'équation de la droite de régression obtenue (figure III.1 et III.2)

$$Y=4.5571X+13.229$$

(3)

Avec $R^2 = 0.9$ (coefficient de corrélation)

$$Y\%=50$$

La concentration inhibitrice de HE : 8µg/mL

$$Y= 8,3929x + 5,1429$$

(4)

$$Y (\%)= 50$$

$$R^2 = 0,9728$$

La concentration inhibitrice de l'acide ascorbique : 5.34µg/ml

Tableau.III.3. Concentration de HE et de l'acide ascorbique

| L'HE de <i>P. graveolens</i> et l'acide Ascorbique | IC ₅₀ (µg /ml) : |
|--|-----------------------------|
| Acide ascorbique | 5.34 |
| HE | 8 |

L'activité antioxydante de *P. graveolens* l'huile essentielle a été évalués par le test de piégeage des radicaux DPPH. L'échantillon (HE) évalué a pu réduire le radical violet DPPH stable au jaune DPPH-H atteignant 50% de réduction avec une valeur de 8 $\mu\text{g/mL}$ a été déterminé pour IC_{50} . En effet, avec ces résultats obtenus, ils sont significatifs et similaires à ceux rapportés précédemment, (5 à 19 $\mu\text{g/ml}$), on peut en déduire que l'huile essentielle de pélagonium *graveolens* possède de propriétés antioxydantes puissantes.

L'huile essentielle obtenue à partir de feuilles de *P. graveolens* a montré une activité antioxydante moins élevé que celle d'acide ascorbique.

III.3. Rendement des extraits de *P. graveolens*

Le tableau III.4 représente les rendements de différents extraits obtenus par l'appareil de Soxhlet, la masse d'éther de pétrole et éther éthylique est très faible, donc leurs rendements négligés.

Tab.III.4. Rendements d'extraits obtenus par extractions par Soxhlet

| Extraits | Méthode : Soxhlet | masses(g) | Pourcentage d'extraits (%) |
|------------------|---|-----------------|----------------------------|
| éthanol | 10g de <i>P.graveolens</i> mis dans la cartouche filtrante pour chacun | 3.2 | 32 |
| butanol | | 2.1 | 21 |
| Éther de pétrole | | traces | Très faible |
| Éther éthylique | | Quantité faible | faible |

III.3.1. Évaluation de l'extrait éthanolique par l'analyse HPLC

Dans cette analyse, il a été montré que 82 composés phénols annexe 7 (figuren.5.) sont présents dans cet extrait, six d'entre eux ont été identifiés au moyen de spectres UV (annexe) et une comparaison des temps de rétention dans les chromatogrammes avec ceux d'échantillons standards. Les autres composés n'ont pas été identifiés. Leurs spectres UV ont été enregistrés en mode en ligne pendant la chromatographie(annexe). Selon leurs caractéristiques spectrales, les composés non identifiés ont été attribués aux flavanones ($\lambda_{\text{max}} = 270\text{-}280 \text{ nm}$) et aux flavanols ($\lambda_{\text{max}} = 254\text{-}260 \text{ nm}$).

L'analyse quantitative des constituants polyphénoliques identifiés a été réalisée sur la base d'une méthode standard externe. Par la linéarité des courbes d'étalonnage, obtenues 6 composés polyphénoliques (tableau 2), a été évaluée à l'aide de coefficients de régression (R^2) estimés pour des courbes à cinq points construites à partir de solutions de composés de référence préparées dans du MeOH à des concentrations moyennes de travail allant de 0,12 à 86,2 $\mu\text{g/ml}$.

Sur la base des courbes d'étalonnage et compte tenu des dilutions effectuées, nous avons établi 6 teneurs en polyphénols pour l'échantillon. Les limites de détection ont été déterminées conformément aux écarts types aux concentrations minimales et aux valeurs de pente de chaque composé analysé.

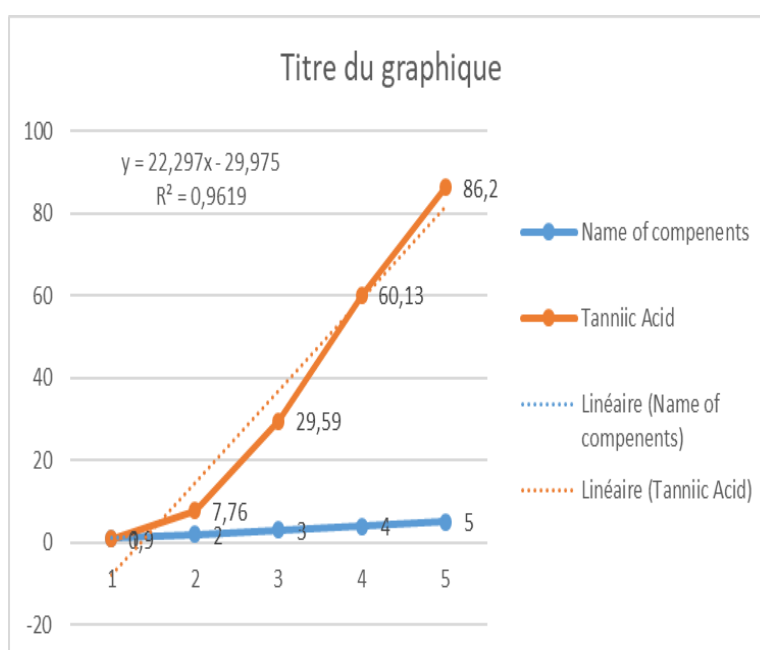


Figure III.3. Courbes d'étalonnage de polyphénols

Les flavonoïdes identifiés (α - tocophérol, catéchine, hespéridine, Quercétine) et polyphénoliques (acide vanillique et l'acide tannique) ont été quantifiés à 254 nm et 280 nm.

Tableau III.5. Noms de composés identifiés par l'analyse HPLC

| Composés | Rt (min) | Régression de l'équation | R ² | LD (µg/L) | LQ (µg/L) | N° |
|--------------------|----------|--------------------------|----------------|-----------|-----------|----|
| L'acide vanillique | 24.58 | y = 2.731x - 2.567 | 0.9546 | 1.21 | 12.1 | 1 |
| α- tocophérol | 11.45 | y = 2.898x - 4 | 0.9227 | 0.13 | 12.09 | 2 |
| catéchine | 17.82 | y = 2.825x - 3.183 | 0.987 | 0.23 | 7.99 | 3 |
| hespérétine | 30.27 | y = 3.536x - 3.812 | 0.9891 | 0.16 | 14.57 | 4 |
| Tannic Acid | 6.60 | y = 22.297x - 29.975 | 0.9619 | 0.9 | 86.2 | 5 |
| Varinigéne | 32.43 | y = 4.321x - 5.147 | 0.9796 | 0.12 | 17.43 | 6 |
| Quercétine | 35.60 | y = 2.451x - 2.471 | 0.9951 | 0.13 | 10.11 | 7 |

Données de régression linéaire ($y = ax + b$), coefficient de régression (R^2), limites de détection (LD), limites de quantification (LQ) pour 7 composés polyphénoliques identifiés dans l'extrait éthanolique obtenue à partir de feuilles de *Pelargonium graveolens*

L'identification des pics sur les chromatogrammes a été réalisée en comparant leurs temps de rétention et spectres UV (collectés dans la gamme de 190 à 400 nm) avec ceux obtenus pour les composés de référence.

Alors que le pourcentage de chacun de ces 70 composés non identifiés, ne dépasse pas 0,5 % et ils peuvent être considérés comme des composés minoritaires ou éléments en trace. Nos résultats sont en accord avec plusieurs travaux, où selon Belaiche (1979), le nombre des molécules chimiquement différentes, leur composition chimique est variable et d'après Pibiri (2006), à côté des composés majoritaires, on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces [7].

III.4. Évaluation des extraits de *P. graveolens* par CCM

L'analyse qualitative après CCM, révélation chimique, a permis de mettre en évidence de 4 taches dans l'extrait de butanol et deux taches dans le cas de l'hydrolat et l'extrait d'éther de pétrole et une tache l'extrait éthanolique (annexe 8 figure 5 et 6).

Ces taches sont colorées en jaune.

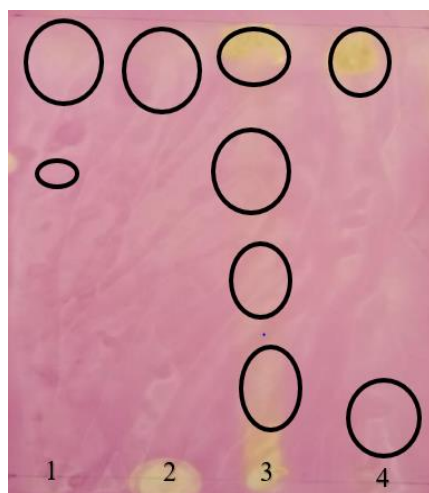


Figure III.4. Révélation chimique

1 : l'hydrolat, 2 : l'extrait éthanolique, 3 : l'extrait butanolique, 4 : l'extrait d'éther de pétrole

A. Elucidation d'espèces chimiques présentes dans les extraits analysés

- On observe que le nombre de taches dans l'échantillon de l'hydrolat, l'extrait éthanolique et l'acide éthylique sont moins importants que ceux dans les autres phases, on peut déduire qu'ils ont une forte interaction moléculaire avec la silice, dans la phase stationnaire, ce qui fait que les composés polaires très faiblement se déplacent [61].
- Dans la phase de l'extrait du butanol, on remarque que le nombre de taches de l'échantillon est plus élevé, cela peut être dû au fait que ces échantillons s'adsorbent sur la phase mobile et ils favorisent le déplacement d'espèces chimiques sur la plaque CCM ;
- On identifie la présence de plusieurs corps sur la ligne verticale de l'échantillon du butanol, de ce fait qu'on peut déduire que cet échantillon est un mélange d'au moins deux substances chimiques, ce qui montre que ce dernier n'est pas un composé pur ;
- L'hydrolat, l'extrait éthanolique et l'acide éthylique, on trouve une tache de la ligne verticale de ces trois échantillons à peu près au même niveau que le corps unique dans l'extrait éthanolique ; En déduisant de ce fait, la couleur jaune de CCM et le nombre de taches indiquent que la quantité des flavonoïdes et des composés phénoliques dans chacun de ces échantillons ;

B. Détermination de rapport frontal

Le rapport frontal dépend de plusieurs paramètres comme par exemple la nature du composé, du matériau de la plaque et du système d'éluant et il est compris entre 0 et 1

Tabl.III.6. Rapport frontal et les espèces chimiques

| Extraits de différents solvants | Espèces chimiques | distance parcourue d'une espèce chimique entre la ligne de dépôt et le milieu de la tache(cm) | Distance entre la ligne de dépôt et le front de l'éluant (cm) |
|---------------------------------|-------------------|---|---|
| L'extrait de butanol | quatre taches | h1(0.26) ; h2(20.5); h3(0.62) , h4(0.77) | <i>H=17.9cm</i> |
| L'extrait d'éther de pétrole | deux taches | h1(0.67) ; h2(0.87) ; | |
| hydrolat | deux taches | h1(0.44) ; h2(0.87) ; | |
| l'acide éthylique | Une tache | h(0.8) | |

En bref, nous pouvons inférer que les résultats de la plaque par CCM confirment la présence des composés phénolique et des flavonoïdes dans les différents extraits du pélagonium graveolens étudié et requinque également ce que nous avons vu dans certaines recherches c'est-à-dire qu'ils sont en accord avec ceux de certains travaux antérieurs ; [61]

La distance de migration des substances dépend essentiellement de leur polarité :

- Les polyhydroxyflavones ont des valeurs de rapport frontal R_f (0,00-0,25) surtout dans l'extrait butanolique ;
- Les oligohydroxy et les oligométhoxyflavones ont des valeurs de R_f comprises entre (0,3-0,5) dans deux extraits à savoir l'éther de pétrole et butanol ;
- Les flavanones, les flavonols, méthoxyflavones ont les valeurs les plus élevées par rapport aux valeurs précédentes de R_f (0,5-0,75) presque dans tous les extraits ; [67]

III.5. L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits polyphénols

Dans cette étude, notre objectif était d'évaluer l'activité antibactérienne de différents extraits de feuilles de *P. graveolens*. L'activité antibactérienne de ces extraits a également été évaluée et les valeurs de CMI ont été calculées par la méthode de dilution en bouillon. Bien que les extraits aient empêché la croissance des bactéries Gram positives et Gram négatives, les valeurs MIC de l'extrait éthanolique des feuilles étaient plus élevées que celles des antibiotiques. L'activité antibactérienne des extraits s'est avérée positivement associée à la teneur totale en phénols et en flavonoïdes des extraits.

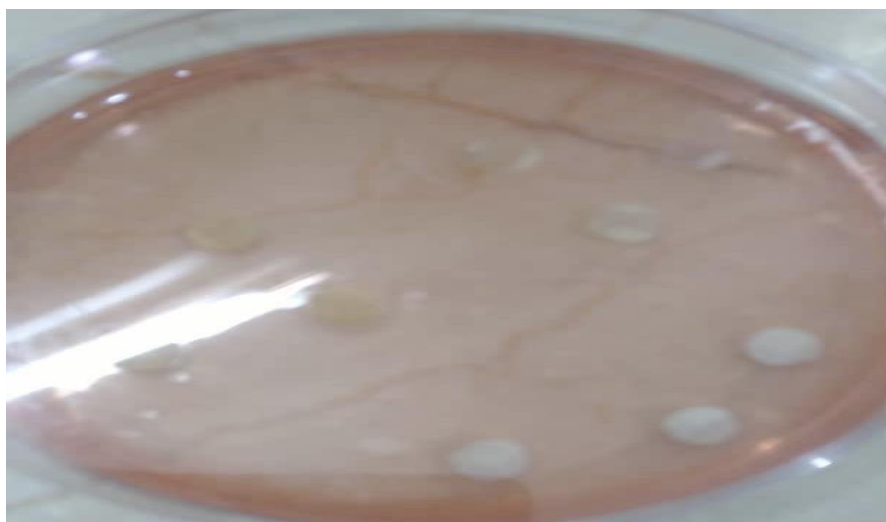


Figure III.5. Souche bactérienne de *S. Aureus* (bactérie gram +)



Figure III.6. Souche bactérienne de *E. Coli* (bactérie gram -)

Tableau.III.7. L'inhibition de la croissance des bactéries par les extraits

| Extraits | Inhibition zone diameter (mm) | | | | |
|--------------------------|-------------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------------|-------------------------|
| | Gram-negative bacteria (-) | | | Gram-positive bacteria (+) | |
| | <i>E. coli</i> | <i>S. typhimurium</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>S. aureus</i> | <i>L. monocytogenes</i> |
| Extrait éthanolique | 9.9 ± 6.1 | 14.2 ± 7.2 | 14.5 ± 6.4 | 13.2 ± 6.2 | 17.1 ± 6.2 |
| Extrait butanol | 7.1 ± 6.1 | 8.2 ± 6.1 | 5.9 ± 6.2 | 9.0 ± 6.1 | 13.2 ± 7.2 |
| Extrait ether de pétrole | 3.75 ± 6 | 1.8 ± 6.1 | --- | 1.2 ± 6.1 | --- |
| Extrait de chloroforme | --- | --- | --- | 1.9 ± 6.2 | --- |

L'extrait éthanolique a des activités antibactériennes modérément inhibitrices pour les bactéries (*S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *L. monocytogenes*) tant dis que l'extrait butanolique a seulement l'activité légèrement inhibitrice pour la bactérie (*L. monocytogenes*).

Jusqu'à présent, certaines études antérieures ont rapporté l'activité antimicrobienne d'extraits de *P. graveolens*, dans une étude réalisée précédemment en Tunisi, ont montré que les extraits de feuilles de *P. graveolens* avaient une grande activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* [65]. De plus, un autre groupe a étudié l'activité antimicrobienne d'extraits de *P. graveolens* préparés à partir de différentes parties en Tunisie avec différents solvants contre diverses souches de bactéries et de champignons [60].

Tableau III.8. Diamètre de la zone d'inhibition des extraits sur des souches bactériennes.

| Bacteria | EEth | | EBut | |
|-------------------------|------|------|------|------|
| | CMI | CMB | CMI | CMB |
| <i>E. coli</i> | 1.18 | 2.6 | 3.19 | 7.3 |
| <i>S. typhimurium</i> | 0.74 | 1.50 | 2.0 | 4.2 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 0.53 | 1.10 | 4.8 | 15.8 |
| <i>S. aureus</i> | 0.61 | 1.36 | 1.2 | 2.8 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 0.49 | 1.02 | 0.79 | 1.7 |

Sur la base des diamètres des zones d'inhibition, des valeurs MIC et MBC, *L. monocytogenes* et *S. aureus* étaient plus sensibles aux différents extraits que les autres bactéries Gram positives avec des valeurs MIC et MBC variant de (0,94-1,18) et (1,91-2,6) mg/ml respectivement. Ces résultats sont en bon accord avec ceux de Ben Hsouna [21]. L'extrait à l'éthanol a présenté une activité bonne à modérée contre presque toutes les souches testées, tandis que l'extrait butanolique était inactif (CMI >1,5 mg/mL) à l'exception de *L. monocytogenes*. On pense que la présence de groupes hydroxyle (-OH) dans la structure des polyphénols est directement liée à leur activité antimicrobienne, car ils possèdent la capacité d'interagir avec la membrane cellulaire des bactéries. Certains auteurs ont conclu que d'autres études sont nécessaires pour évaluer la faisabilité pratique et économique de cet extrait et recommander son utilisation en pratique clinique.

Les présents résultats confirment le potentiel antimicrobien des feuilles de *P. graveolens* a un bon potentiel antimicrobien de *P. graveolens* contre *P. aeruginosa* avec CMI de 0,53 mg/mL.

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne, il y a 4 classes des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne : [66]

- Fortement inhibitrice: **D ≥ 28mm.**
- Modérément inhibitrice: **16 ≤ D < 28mm.**
- Légèrement inhibitrice: **10 ≤ D < 16mm.**
- Non inhibitrice : **D < 10**

Conclusion générale

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* par la méthode de chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, nous a permis d'identifier 150 constituants de cette huile dont les 23 sont majoritaires avec un pourcentage de 72.04%. La composition chimique de cette huile est similaire aux études bibliographiques.

La mise en évidence de l'activité antioxydante de l'huile essentielle par le test de piégeage des radicaux DPPH a donné des résultats significatifs. Le HE a réduit le radical violet DPPH stable au jaune DPPH-H atteignant 50% de réduction avec une valeur de 8 µg/mL a été déterminé pour IC₅₀, a montré une activité antioxydante moins élevée que celle de l'acide ascorbique (5.34 µg/ml).

L'étude de la composition des extraits polyphénols de *Pélargonium graveolens* évaluée par la méthode de chromatographie en phase liquide à haute performance, nous a permis de déterminer 82 composés dont six sont identifiés, parmi lesquels : α-tocophérol, catéchine, hespéridine, Quercétine, acide vanillique et l'acide tannique.

Nous avons aussi mis en évidence les compositions chimiques des différents extraits obtenus par l'appareil de Soxhlet (extrait de butanol, hydrolat, d'éther de pétrole et acide éthylique) par chromatographie sur la couche mince. Les résultats de cette analyse confirment la présence des composés phénoliques dans les différents extraits du *pélargonium graveolens* étudié notamment des flavonoïdes.

En fin, on a évalué l'activité antibactérienne des différents extraits obtenus, par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats de cette analyse ont montré que l'extrait éthanolique et butanolique ont une activité significative vis-à-vis de toutes les bactéries gram négatives et gram positives.

Afin d'enrichir ce travail, il est important de réaliser les propositions suivantes:

- Evaluer les activités antifongiques de l'huile essentielle et des autres extraits de *P. graveolens*.
- Déterminer l'activité antibactérienne et antioxydante de l'hydrolat de *P. graveolens*.

Les références bibliographiques

- [1] : **Imen Ben El Hadj**, Cultures et produits industriels Composés bioactifs de Tunisie Pélargonium graveolens, page d'accueil Journal: www.elsevier.com/locate/indcrop, 2020.
- [2] : **Jamila HADJ SALEM**, 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, 2009.
- [3] : **Bosser J., Cadet Th., Guénot J., Marais W.** Flore des Mascareignes, Office de la recherche scientifique et technique d'outre-mer. Juillet 1987 Paris.
- [4]: **Birgitta, Bremer; Kåre, Bremer ; Mark, W-Chase;** Michael, F-Fay; James, L-Révèler ;Douglas, E-Soltis. J. Linn. Soc., Bot. 2009.
- [5] : Journal de recherche sur les plantes médicinales Vol. 5(13), pp. 2587-2598, 4 juillet 2011 Disponible en ligne sur <http://www.academicjournals.org/JMPR> ISSN 1996-0875 ©2011 Revues académiques
- [6]: **Röschenbleck, J; Albers, F; Muller, K; Weinl.** Phylogénétique. 2014.
- [7] : **Ouissam NABHI**, Composition chimique et effet antimicrobien de l'huile essentielle de pélargonium graveolens : mémoire de master de l'université sidi mohammed ben abdellah, 2013.
- [8]: **M.N. Boukhatem, M.S. Hamaidi, F. Saidi, Y. Hakim.** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat, cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technologie* 2010.
- [9]: **Muanda Nsemi**, Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques François : thèse de doctorat de l'université Paul Verlaine-Metz, 2010.
- [10] : **Julien Janin**, intoxication volontaire par ingestion de l'huile essentielle de géranium bourbon thèse de doctorat de l'université Henri Poincaré Nancy i 2006.
- [11] : **David vjioletan andriandislala**, creation d'une unité d'extraction et de commercialisation d'huiles essentielles de géranium dans la région de Haute Matsitra, mémoire de maîtrise et sciences de gestion, Université de Toamasina ; 2009 ;
- [12]: **Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M.** Natural products as sources of new drugs over the period 1981 - 2002. *Journal of Natural Products*, 2003, 66: 1022 - 1037.

- [13] : **Newman D. J., Cragg G. M., Snader K. M.** The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Report* 17, 2000.
- [14] : **AR Yasmin , ... A. Ideris , Dilip Ghosh ,** Nutraceutiques , des plantes comme des agents antiviraux dans Additifs alimentaires, 2016
- [15] : Jorgensen JH, Turnidge JD, Washington JA. Antibacterial susceptibility tests : dilution and disk diffusion methods. 1999 Chapitre 9 Sensibilité aux agents antimicrobiens (méthode de diffusion en milieu gélosé
- [16] : **Manchado P. S. and Cheynier V.** Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier, Paris, 2006.
- [17] : **MIMOUNI MANSOURIA,** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* de deux régions Mostaganem et Relizane, mémoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, 2016
- [18] : **Nacz M and Shahidi F.** Phenolics in food and nutraceuticals. *Boca Raton, FL: CRC Press , 2003.*
- [19] : **Stalikas C d extraction,** separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007.
- [20] : **Lutge U ; Kluge M, Bauer G.** Botanique 3eme Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris, 2002,
- [21] : **Panche. A.N, Susan. A.D, Chandra.S.R** Etude phytochimique et activités biologiques des extraits et des huiles essentielles de *Foeniculum vulgare* Mill :
- Flavonoïdes: an overview. *jns.* 2016.
- [22] : **Panche. A.N, Susan. A.D, Chandra.S.R ,** Flavonoïdes: an overview. *jns.* 2016.
- [23] : Ghedira k, Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie,* 2005.
- [24] : **Williams CA, Harborne JB,** Phytochemistry of the genus *Pelargonium*. In : Lis-Balchin, M. (Ed.), *Geranium and Pelargonium.* London : Taylor and Francis, 2002.
- [25] : **Imane A TAILIA,** Sensibilité bactérienne aux extraits bio-actifs de *Pélargonium graveolens* : Thèse ; Université Badji Mokhtar – Annaba ; 2016.
- [26] : **Hanane HADDADI,** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle, de l'hydrolat et des flavonoïdes extraits des feuilles de *pélargonium graveolens* : mémoire de master de l'université des Frères Mentouri Constantine 2019.

- [27] : Dr **Roland Hardman**, The genera Geranium and Pelargonium, Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles : livre, 2011.
- [28] : **Farhat, A**, Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie), 2010.
- [29] : Pharmacopée Européenne, Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM), Strasbourg, France, 2007.
- [30] : **BENOUALI Djillali**, Extraction et identification des huiles essentielles, mémoire de master, Université des sciences et de la technologie d'Oran ; 2016.
- [31] : **Wang, Z., Ding, L., Li, T., Zhou, X., Wang, L., Zhang, H., & He, H**, Improved solvent free microwave extraction of essential oil from dried Cuminum cyminum L. And Zanthoxylum bungeanum Maxim. Journal of Chromatography A. 2006.
- [32] : **Nabil BOUSBIA**, Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires : Thèse, université d'Avignon et des pays de Vaucluse ; 2011.
- [33] : **E. De Hoffmann, J. Charette, V. Stroobant**. Spectrométrie de Masse. Ed.2: Librairie Dunod, Paris, France. 1999
- [34] : **E. De Hoffmann, J. Charette, V. Stroobant**. Spectrométrie de Masse. Ed.2: LibrairieDunod, Paris, France. 1999.
- [35] : **Jamila HADJ SALEM**, 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, 2009.
- [36] . : **HADJIDJ Ghizlène** Etude de l'activité antimicrobienne des extraits de polyphénols de la feuille de *Ceratonia siliqua* «*el Kharoub* », mémoire de master, Université de Tlemcen, 2018.

- [37] : **Ulanowska K, Traczyk A, Konopa G, Wegrzym G** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DNA, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. Arch. Microbiol, 2006.
- [38] : **Dadi PK, Ahmad M, Ahmad Z.** Inhibition of ATPase activity of Escherichia coli ATP synthase by polyphenols. Int. J. Biol. Macromol, 2009.
- [39] : **Dominique Auzias, Jean-Paul Labourdette** Collectif, , *Afrique du Sud 2012-2013* , D. O. Wijnands, *The Botany of the Commelins*, CRC Press, 1^{er} juin 1983
- [40] : **Diana Miller**, *Pelargoniums : A Gardener's Guide to the Species and Their Hybrids and Cultivars*, Portland, OR, Timber Press, Incorporated, 1^{er} octobre 1996,
- [41] : cours de chimie pharmaceutique, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed-Boudiaf USTOMB, faculté de chimie
- [42] **Boukhatem Mahamed Nadjib, Hamaidi Mohand Said, Sais Fairouz.** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat, résumé (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitija (Algérie). 2010.
- [43] : **Frédéri -Emmanuel DEMARNE**, l'amélioration variétale du "geranium rosat" contribution systématique, caryologique, et biochimique : Université de Paris-Sud Centre d'Orsay, 1989.
- [44] : **Rafie Hamidpour, Soheila Hamid** pour, article: *Pelargonium graveolens* (Rose Geranium) - A Novel Therapeutic Agent for Antibacterial, Antioxidant, Antifungal and Diabetics, V.18420
- [45] : **Boukhatem MN, Kameli A, Saidi F.** Huile essentielle de géranium algérien à parfum de rose (*Pelargonium graveolens*): Composition chimique et activité antimicrobienne contre les agents pathogènes de la détérioration des aliments. Contrôle alimentaire, 2013.
- [46] : **L. Peyron.** Histoire du « Géranium rosat pour parfumerie » dans le pays de Grasse. Association historique du pays de Grasse. France. 2013.
- [47] : **Mériem Boutamani**, étude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisée, mémoire : master, Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, 2013.
- [48] : **N. Elenkova.** Chimie analytique et méthodes physiques d'analyse. Ed. Technika Sofia, Bulgarie. 1983.

- [49] : **E. Paulsen**. Immediate skin and mucosal symptoms from plants and vegetables in gardeners and greenhouses workers. *Contact Dermatis* 1998.
- [50] : **J.W. Anderson**. Geranium dermatitis. *Arch. Dermatol. Syph.* 1923.
- [51] : **M.N. Boukhatem, M.S. Hamaidi, F. Saidi, Y. Hakim, K. Benomier**. Extraction, composition et valorisation de l'eau aromatique de géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) dans la dermopharmacie. *Nature et Technologie* 2010.
- [52] : **R.S. Verma, R.K. Verma, A.K. Yadav, Amit Chauhan**. Changes in the essential oil composition of rose-scented geranium (*Pelargonium graveolens* L'Hérit. ex Ait.) due to date of transplanting under hill conditions of Uttarakhand. *Indian J. Nat. Prod. Resour.* 2010.
- [53] : **Adams RP**. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry. Carol Stream, Allured, IL. 2001.
- [54] : **V. Matei, I. Comănescu, A.F. Borcea**. Stationary phases. *In: Advanced gas chromatography - Progress in agricultural, biomedical and industrial applications*. Ed. InTech, Mustafa Ali Mohd. 2012.
- [55] : **E. Stashenko, J.R. Martínez**. Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *In: Advances in Gas Chromatography*. Ed. InTech. 2014.
- [56] : **E. Constantin**. Spectrométrie de masse. Ed. Lavoisier, Tec & Doc, Paris. 1996.
- [57] : F.W. McLafferty, F. Turecek. *Interpretation of Mass Spectra*. Ed.4: University Science Books, Sausalito, California, USA. 1993.
- [58] : **Madhavi D. L., Deshpande S. S. & Salunkhe D. K.**, Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. 1996.
- [59] : **Richard F**. Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec. & Doc.,1992.
- [60] : FICHE COURS 2, Un procédé d'identification: la chromatographie, SPECIALITE TS : chimie
- [61] : **A. PHILIPPON** (Faculté de Médecine COCHIN-PORT-ROYAL, Université PARIS V Cours de Bactériologie Générale antibiotiques iv : études in vitro, l'antibiogramme
- [62] : **A. PHILIPPON** méthode de diffusion ou des disques en milieu solide : cours de la Faculté de Médecine COCHIN-PORT-ROYAL, Université PARIS V

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

[65] : **M. Djebbara, M.N. Chabaca, T. Hartani, B. Mouhouche, B. Ouzri.** Rôle de l'action collective dans le développement de la profession agricole dans la wilaya de Blida(Algérie).L'avenir de l'agriculture irriguée en Méditerranée. Nouveaux arrangements institutionnels pour une gestion de la demande en eau. Actes du séminaire Wademed, Cahors. Cirad, Montpellier, France. 2007.

[66] : **HUDAIB M., SPERONI E., PIETRA A. M. D., CARVIN V.** *gc/ms evaluation of thyme (thymus vulgarisl.) oil composition and variations during vegetative cycle. j. pharmaceutical and biomedicul analysis, 2002.*

[67] : **SINE J. P.** “séparation et analyse des biomolécules : méthodes physicochimiques, cours et exercices”, ellipses éditions marketing s a .2003.

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

ANNEXES

Annexe 1

Avantage de l'appareil de Soxhlet

- Il permet d'utiliser des petites quantités de solvants ce qui est avantageux. Par ailleurs, le solvant qui s'évapore, est toujours pur et on peut l'utiliser à nouveau. La solubilisation de la substance est donc favorisée grâce à des meilleurs coefficients de partage
- Il a beaucoup d'avantages sur la matière végétale qui entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui permet de déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant ;
- Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction. Généralement elle nécessite une séparation avec un rotavapeur. Le Soxhlet est indépendant de la matrice végétale ;
- L'extraction par Soxhlet est une méthode non complexe et convenable permettant d'étudier infiniment le cycle d'extraction avec du solvant choisi jusqu'à l'épuisement complet de la matière solide ;
- En plus, il sert aussi au lavage d'un composé solide par un solvant dans lequel il est totalement insoluble. Les impuretés sont extraites vers le ballon et le solide pur est récupéré dans la cartouche ; [16]

Inconvénients de l'appareil de Soxhlet

- La taille de la cartouche doit être limitée ;

- La durée importante d'extraction : il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives avec plusieurs cartouches, ce qui peut prendre un temps considérable ;

L'extraction à chaud peut dégrader certaines substances chimiques. En effet le risque de thermodestruction de certains composés n'est pas à négliger si la matière végétale contient des composés thermolabiles ; **[17]**

ANNEXE 2

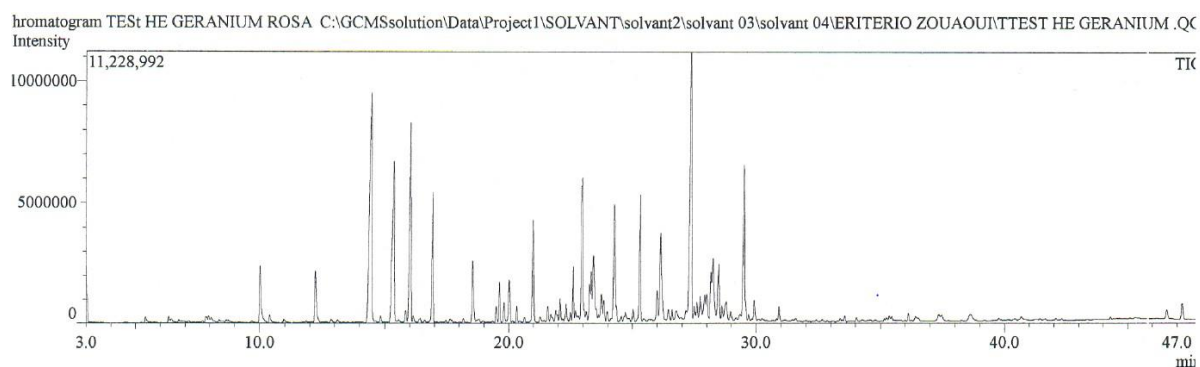


Figure .1. Schéma détaillé de l'évaporateur rotatif [60]

- **Mode opératoire du rotavapeur**
 - On chauffe l'eau distillée du bain-marie en réglant sa température à l'aide du thermostat ;
 - Ne pas oublier de prendre un valet pour bien fermer le ballon (avec son bouchon rodé) à évaporation près de l'évaporateur rotatif.
 - Ajouter le mélange à séparer dans le ballon principal et fixer ce ballon à l'aide de clip(agrafe) ;
 - Début de l'évaporation Faire circuler l'eau dans le réfrigérant.
 - Fermer doucement le robinet de mise sous vide pour mettre l'ensemble de l'appareil sous pression réduite.

- Adapter la vitesse de rotation à la vitesse d'évaporation ;
- Arrêt de l'évaporation L'extraction signifie que , retirer le ballon du système de chauffage au bain-marie.
- Attendre quelques instants le refroidissement du ballon.
- Couper la rotation ;
- Remettre l'ensemble à la pression atmosphérique en ouvrant doucement le robinet de mise sous vide ;
- Poser le ballon bouché sur le valet. Fermer la trompe à eau et la circulation d'eau dans le réfrigéra

ANNEXE 3



ANNEXE

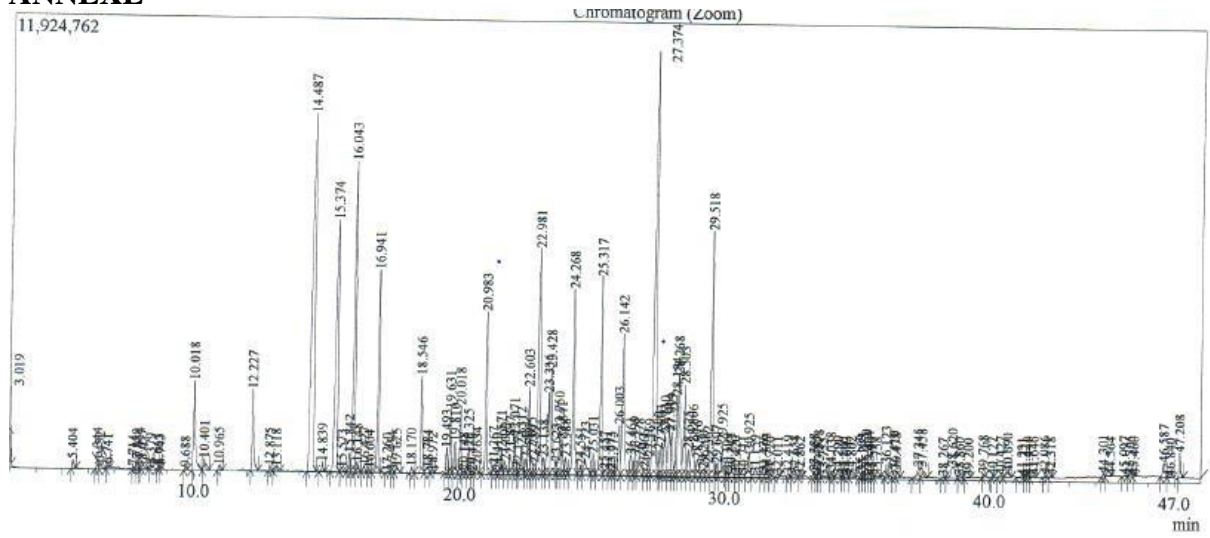


Figure .2. Spectres obtenues après l'analyse GCMS de HE de p. graveolens

ANNEXE

ANNEXE 4

Tableau.1. Chromatogramme de HE obtenue par analyse GCMS

| Ret.Time | Start Tm | End Tm | Eres% | A/H | Name |
|----------|----------|--------|-------|------|--|
| 3.019 | 3.010 | 3.073 | 0.29 | 1.56 | HEPTANE |
| 5.404 | 5.345 | 5.565 | 0.13 | 3.92 | BICYCLO[3.1.1]HEPT-2-ENE, 2,5,6-TRIMETHYL- |
| 6.344 | 6.250 | 6.415 | 0.15 | 3.88 | BICYCLO[3.1.0]HEXANE, 4-METHYLENE-1-[1-METHYLETHYL]- |
| 6.452 | 6.415 | 6.670 | 0.12 | 5.16 | Pinene <beta>- |
| 6.741 | 6.690 | 6.860 | 0.06 | 4.14 | Myrcene |
| 7.714 | 7.675 | 7.785 | 0.03 | 3.55 | Cymene <para>- |
| 7.858 | 7.785 | 7.915 | 0.15 | 4.39 | CYCLOHEXENE, 1-METHYL-4-[1-METHYLETHENYL]- |
| 7.954 | 7.915 | 8.015 | 0.16 | 3.99 | Eucalyptol |
| 8.057 | 8.015 | 8.280 | 0.16 | 5.28 | 1,3,7-OCTATRIENE, 3,7-DIMETHYL-, (E)- |
| 8.379 | 8.325 | 8.450 | 0.04 | 3.13 | 1,3,6-OCTATRIENE, 3,7-DIMETHYL-, (E)- |
| 8.663 | 8.610 | 8.705 | 0.04 | 3.05 | Dodecane, 2,6,10-trimethyl- |
| 8.743 | 8.705 | 8.800 | 0.04 | 3.52 | 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-[1-methylethyl]- |
| 9.688 | 9.630 | 9.795 | 0.04 | 3.97 | CYCLOHEXENE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHYLDENE)- |
| 10.018 | 9.930 | 10.315 | 1.64 | 4.69 | 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- |
| 10.401 | 10.335 | 10.610 | 0.19 | 4.31 | ROSE OXIDE B |
| 10.965 | 10.895 | 11.170 | 0.09 | 4.54 | 2H-Pyran, tetrahydro-4-methyl-2-(2-methyl-1-propenyl)- |
| 12.227 | 12.150 | 12.445 | 1.37 | 4.31 | Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, trans- |
| 12.675 | 12.605 | 12.990 | 0.09 | 4.33 | 2-ISOPROPYL-5-METHYLCYCLOHEXANOL # |
| 13.118 | 12.990 | 13.265 | 0.08 | 4.69 | 3-CYCLOHEXENE-1-METHANOL, ALPHA, ALPHA, 4-TRIMETHYL- |
| 14.487 | 14.250 | 14.615 | 10.38 | 7.38 | 6-OCTEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL- |
| 14.839 | 14.710 | 14.950 | 0.13 | 3.50 | 2,6-OCTADIENAL, 3,7-DIMETHYL- |
| 15.374 | 15.135 | 15.480 | 5.98 | 6.08 | 2,6-OCTADIEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL-, (Z)- |
| 15.573 | 15.480 | 15.740 | 0.10 | 6.14 | UNDECANE, 2,4-DIMETHYL- |
| 15.842 | 15.740 | 15.910 | 0.28 | 3.82 | 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl- |
| 16.043 | 15.910 | 16.100 | 5.55 | 4.64 | 6-OCTEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL-, ACETATE |
| 16.148 | 16.100 | 16.310 | 0.15 | 4.00 | Dodecane, 4,6-dimethyl- |
| 16.427 | 16.310 | 16.510 | 0.14 | 5.15 | BICYCLO[2.2.1]HEPTAN-2-OL, 1,7,7-TRIMETHYL-, ACETATE, EXO- |
| 16.604 | 16.510 | 16.680 | 0.05 | 3.52 | 6-Pentadecanone |
| 16.941 | 16.880 | 17.010 | 3.07 | 3.95 | 2,6-OCTADIEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL-, ACETATE |
| 17.260 | 17.190 | 17.400 | 0.03 | 8.94 | 3,6-OCTADIEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL-, (Z)- |
| 17.454 | 17.400 | 17.540 | 0.04 | 3.29 | OCIMENYL ACETATE |
| 17.625 | 17.540 | 17.770 | 0.12 | 5.72 | 2,6-OCTADIENOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-, METHYL ESTER, (Z)- |
| 18.170 | 18.110 | 18.300 | 0.09 | 3.64 | Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-[1-methylethényl-0-4-(1-methylethylidène)- |
| 18.546 | 18.300 | 18.660 | 1.53 | 4.06 | Terpinyl acetate <alpha>- |
| 18.784 | 18.690 | 18.880 | 0.17 | 8.22 | Geranic acid |
| 18.972 | 18.880 | 19.060 | 0.05 | 4.97 | 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)- |
| 19.493 | 19.420 | 19.560 | 0.33 | 3.49 | TRICYCLO[4.4.0.0(2,7)]DEC-3-ENE, 1,3-DIMETHYL-8-(1-METHYLETHYL)-, 5T |
| 19.631 | 19.560 | 19.710 | 0.78 | 3.20 | Neryl acetate |
| 19.810 | 19.710 | 19.930 | 0.48 | 3.92 | CYCLOPENTANE, 1,2,3,3A,3B,BETA, 4,5,6,6A,BETA, 6B ALPHA, DECAHYDRO-1,1,4,7-TETRAMETHYL-, [1A5-(1A,ALPHA, 7A,ALPHA, 7B,ALPHA, 7C,ALPHA, 7D,ALPHA, 7E,ALPHA, 7F,ALPHA, 7G,ALPHA, 7H,ALPHA, 7I,ALPHA, 7J,ALPHA, 7K,ALPHA, 7L,ALPHA, 7M,ALPHA, 7N,ALPHA, 7O,ALPHA, 7P,ALPHA, 7Q,ALPHA, 7R,ALPHA, 7S,ALPHA, 7T,ALPHA, 7U,ALPHA, 7V,ALPHA, 7W,ALPHA, 7X,ALPHA, 7Y,ALPHA, 7Z,ALPHA)-] |
| 20.018 | 19.930 | 20.100 | 0.95 | 3.65 | CYCLOHEXANE, 1-ETHENYL-1-METHYL-2,4-BIS[1-METHYLETHENYL]-, [1S-(1,ALPHA, 7,ALPHA, 7A,ALPHA, 7B,ALPHA, 7C,ALPHA, 7D,ALPHA, 7E,ALPHA, 7F,ALPHA, 7G,ALPHA, 7H,ALPHA, 7I,ALPHA, 7J,ALPHA, 7K,ALPHA, 7L,ALPHA, 7M,ALPHA, 7N,ALPHA, 7O,ALPHA, 7P,ALPHA, 7Q,ALPHA, 7R,ALPHA, 7S,ALPHA, 7T,ALPHA, 7U,ALPHA, 7V,ALPHA, 7W,ALPHA, 7X,ALPHA, 7Y,ALPHA, 7Z,ALPHA)-] |
| 20.148 | 20.100 | 20.240 | 0.04 | 3.37 | TETRADECANE |
| 20.325 | 20.240 | 20.390 | 0.33 | 3.28 | BENZENE, 1,2-DIMETHOXY-4-(2-PROPENYL)- |
| 20.436 | 20.390 | 20.510 | 0.04 | 4.83 | PYRIDINIUM, 1-HEXADECYL-, CHLORIDE, MONOHYDRATE |
| 20.634 | 20.510 | 20.720 | 0.13 | 4.12 | 1H-CYCLOPROP[E]AZULENE, 1A,2,3,4,4A,5,6,7B-OCTAHYDRO-1,1,4,7-TETRAMETHYL-, [1AR-(1A,ALPHA, 4,ALPHA, 4A,BETA, 7B,ALPHA, 7C,ALPHA, 7D,ALPHA, 7E,ALPHA, 7F,ALPHA, 7G,ALPHA, 7H,ALPHA, 7I,ALPHA, 7J,ALPHA, 7K,ALPHA, 7L,ALPHA, 7M,ALPHA, 7N,ALPHA, 7O,ALPHA, 7P,ALPHA, 7Q,ALPHA, 7R,ALPHA, 7S,ALPHA, 7T,ALPHA, 7U,ALPHA, 7V,ALPHA, 7W,ALPHA, 7X,ALPHA, 7Y,ALPHA, 7Z,ALPHA)-] |
| 20.983 | 20.810 | 21.190 | 2.44 | 3.92 | Caryophyllene |
| 21.267 | 21.190 | 21.380 | 0.17 | 4.89 | 1H-CYCLOPENTA[1,3]CYCLOPROPA[1,2]BENZENE, OCTAHYDRO-7-METHYL-3-METHYLENE-4-(1-METHYLETHYL)-, [3AS-(3A,ALPHA, 3B,BETA, 4,BETA, 7,ALPHA, 7A,ALPHA, 7B,ALPHA, 7C,ALPHA, 7D,ALPHA, 7E,ALPHA, 7F,ALPHA, 7G,ALPHA, 7H,ALPHA, 7I,ALPHA, 7J,ALPHA, 7K,ALPHA, 7L,ALPHA, 7M,ALPHA, 7N,ALPHA, 7O,ALPHA, 7P,ALPHA, 7Q,ALPHA, 7R,ALPHA, 7S,ALPHA, 7T,ALPHA, 7U,ALPHA, 7V,ALPHA, 7W,ALPHA, 7X,ALPHA, 7Y,ALPHA, 7Z,ALPHA)-] |
| 21.419 | 21.380 | 21.480 | 0.05 | 4.09 | Bergamotene <alpha>-trans> |
| 21.571 | 21.480 | 21.640 | 0.40 | 4.09 | Citronellyl propionate |
| 21.699 | 21.640 | 21.820 | 0.28 | 5.51 | 1H-CYCLOPROPA[N]NAPHTHALENE, 1A,2,4,5,6,7,7A,7B-OCTAHYDRO-1,1,7,7A-TETRAMETHYL-, [1A5-(1A,ALPHA, 7A,ALPHA, 7B,ALPHA, 7C,ALPHA, 7D,ALPHA, 7E,ALPHA, 7F,ALPHA, 7G,ALPHA, 7H,ALPHA, 7I,ALPHA, 7J,ALPHA, 7K,ALPHA, 7L,ALPHA, 7M,ALPHA, 7N,ALPHA, 7O,ALPHA, 7P,ALPHA, 7Q,ALPHA, 7R,ALPHA, 7S,ALPHA, 7T,ALPHA, 7U,ALPHA, 7V,ALPHA, 7W,ALPHA, 7X,ALPHA, 7Y,ALPHA, 7Z,ALPHA)-] |
| 21.897 | 21.820 | 22.000 | 0.42 | 5.55 | Naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-3,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1,ALPHA, 7,BETA, 8A,ALPHA, 8A,BETA, 8B,ALPHA, 8B,BETA, 8C,ALPHA, 8C,BETA, 8D,ALPHA, 8D,BETA, 8E,ALPHA, 8E,BETA, 8F,ALPHA, 8F,BETA, 8G,ALPHA, 8G,BETA, 8H,ALPHA, 8H,BETA, 8I,ALPHA, 8I,BETA, 8J,ALPHA, 8J,BETA, 8K,ALPHA, 8K,BETA, 8L,ALPHA, 8L,BETA, 8M,ALPHA, 8M,BETA, 8N,ALPHA, 8N,BETA, 8O,ALPHA, 8O,BETA, 8P,ALPHA, 8P,BETA, 8Q,ALPHA, 8Q,BETA, 8R,ALPHA, 8R,BETA, 8S,ALPHA, 8S,BETA, 8T,ALPHA, 8T,BETA, 8U,ALPHA, 8U,BETA, 8V,ALPHA, 8V,BETA, 8W,ALPHA, 8W,BETA, 8X,ALPHA, 8X,BETA, 8Y,ALPHA, 8Y,BETA, 8Z,ALPHA, 8Z,BETA)-] |
| 22.071 | 22.000 | 22.140 | 0.57 | 3.92 | 1,4,8-CYCLOUNDECATRIENE, 2,6,6,9-TETRAMETHYL-, (E,E,E)- |
| 22.173 | 22.140 | 22.320 | 0.08 | 3.62 | HEXADECANE, 2,6,10,14-TETRAMETHYL- |
| 22.312 | 22.220 | 22.420 | 0.50 | 4.55 | 1H-Cycloprop[ε]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-6-methylene-, [1aR-(1a,ALPHA, 4a,BETA, 7,ALPHA, 7a,BETA, 7b,ALPHA, 7b,BETA, 7c,ALPHA, 7c,BETA, 7d,ALPHA, 7d,BETA, 7e,ALPHA, 7e,BETA, 7f,ALPHA, 7f,BETA, 7g,ALPHA, 7g,BETA, 7h,ALPHA, 7h,BETA, 7i,ALPHA, 7i,BETA, 7j,ALPHA, 7j,BETA, 7k,ALPHA, 7k,BETA, 7l,ALPHA, 7l,BETA, 7m,ALPHA, 7m,BETA, 7n,ALPHA, 7n,BETA, 7o,ALPHA, 7o,BETA, 7p,ALPHA, 7p,BETA, 7q,ALPHA, 7q,BETA, 7r,ALPHA, 7r,BETA, 7s,ALPHA, 7s,BETA, 7t,ALPHA, 7t,BETA, 7u,ALPHA, 7u,BETA, 7v,ALPHA, 7v,BETA, 7w,ALPHA, 7w,BETA, 7x,ALPHA, 7x,BETA, 7y,ALPHA, 7y,BETA, 7z,ALPHA, 7z,BETA)-] |
| 22.481 | 22.420 | 22.530 | 0.22 | 3.74 | 1,5-Dodecadiene |
| 22.603 | 22.530 | 22.660 | 1.14 | 3.43 | 2,6-OCTADIEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL-, PROPANOATE,(E)- |
| 22.695 | 22.660 | 22.750 | 0.28 | 3.92 | Cadine-[E], 4-diene <10beta>- |
| 22.789 | 22.750 | 22.860 | 0.21 | 5.23 | Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-6-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1,ALPHA, 4a,BETA, 8a,ALPHA, 8a,BETA, 8b,ALPHA, 8b,BETA, 8c,ALPHA, 8c,BETA, 8d,ALPHA, 8d,BETA, 8e,ALPHA, 8e,BETA, 8f,ALPHA, 8f,BETA, 8g,ALPHA, 8g,BETA, 8h,ALPHA, 8h,BETA, 8i,ALPHA, 8i,BETA, 8j,ALPHA, 8j,BETA, 8k,ALPHA, 8k,BETA, 8l,ALPHA, 8l,BETA, 8m,ALPHA, 8m,BETA, 8n,ALPHA, 8n,BETA, 8o,ALPHA, 8o,BETA, 8p,ALPHA, 8p,BETA, 8q,ALPHA, 8q,BETA, 8r,ALPHA, 8r,BETA, 8s,ALPHA, 8s,BETA, 8t,ALPHA, 8t,BETA, 8u,ALPHA, 8u,BETA, 8v,ALPHA, 8v,BETA, 8w,ALPHA, 8w,BETA, 8x,ALPHA, 8x,BETA, 8y,ALPHA, 8y,BETA, 8z,ALPHA, 8z,BETA)-] |
| 22.981 | 22.860 | 23.100 | 5.03 | 5.74 | 1,6-CYCLODECADIENE, 1-METHYL-5-METHYLENE-8-(1-METHYLETHYL)-, [S-(E,E)-] |
| 23.138 | 23.100 | 23.200 | 0.24 | 3.71 | NAPHTHALENE, DECAHYDRO-4A-METHYL-1-METHYLENE-7-(1-METHYLETHENYL)-, [4AR-(4A,ALPHA, 7,ALPHA, 8A,BETA, 8A,BETA, 8B,ALPHA, 8B,BETA, 8C,ALPHA, 8C,BETA, 8D,ALPHA, 8D,BETA, 8E,ALPHA, 8E,BETA, 8F,ALPHA, 8F,BETA, 8G,ALPHA, 8G,BETA, 8H,ALPHA, 8H,BETA, 8I,ALPHA, 8I,BETA, 8J,ALPHA, 8J,BETA, 8K,ALPHA, 8K,BETA, 8L,ALPHA, 8L,BETA, 8M,ALPHA, 8M,BETA, 8N,ALPHA, 8N,BETA, 8O,ALPHA, 8O,BETA, 8P,ALPHA, 8P,BETA, 8Q,ALPHA, 8Q,BETA, 8R,ALPHA, 8R,BETA, 8S,ALPHA, 8S,BETA, 8T,ALPHA, 8T,BETA, 8U,ALPHA, 8U,BETA, 8V,ALPHA, 8V,BETA, 8W,ALPHA, 8W,BETA, 8X,ALPHA, 8X,BETA, 8Y,ALPHA, 8Y,BETA, 8Z,ALPHA, 8Z,BETA)-] |
| 23.336 | 23.200 | 23.380 | 1.95 | 6.23 | 1,3-CYCLOHEXADIENE, 5-(1,5-DIMETHYL-4-HEXENYL)-2-METHYL-, [S-(R*,S*)] |
| 23.428 | 23.380 | 23.590 | 2.31 | 5.58 | 2H-Cycloprop[ε]azulene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a,ALPHA, 7,ALPHA, 7a,BETA, 7a,BETA, 7b,ALPHA, 7b,BETA, 7c,ALPHA, 7c,BETA, 7d,ALPHA, 7d,BETA, 7e,ALPHA, 7e,BETA, 7f,ALPHA, 7f,BETA, 7g,ALPHA, 7g,BETA, 7h,ALPHA, 7h,BETA, 7i,ALPHA, 7i,BETA, 7j,ALPHA, 7j,BETA, 7k,ALPHA, 7k,BETA, 7l,ALPHA, 7l,BETA, 7m,ALPHA, 7m,BETA, 7n,ALPHA, 7n,BETA, 7o,ALPHA, 7o,BETA, 7p,ALPHA, 7p,BETA, 7q,ALPHA, 7q,BETA, 7r,ALPHA, 7r,BETA, 7s,ALPHA, 7s,BETA, 7t,ALPHA, 7t,BETA, 7u,ALPHA, 7u,BETA, 7v,ALPHA, 7v,BETA, 7w,ALPHA, 7w,BETA, 7x,ALPHA, 7x,BETA, 7y,ALPHA, 7y,BETA, 7z,ALPHA, 7z,BETA)-] |
| 23.622 | 23.590 | 23.660 | 0.17 | 3.50 | 2,2,6-TRIMETHYL-10-METHYLENETRICYCLO[3.1.0-1,9]UNDECAN-9-OL |
| 23.750 | 23.660 | 23.800 | 0.76 | 4.43 | 2H-Benzocycloheptene, 2,4a,5,6,7,8,9a-octahydro-3,5,5-trimethyl-9-methylene-, (4aS-cis)- |
| 23.841 | 23.800 | 23.930 | 0.57 | 4.24 | 2-Phenon-3-one, 1-(2,6,9-trimethyl-3-cyclohexen-1-yl)- |
| 23.988 | 23.930 | 24.080 | 0.27 | 4.06 | Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, [1,ALPHA, 4a,BETA, 8a,ALPHA, 8a,BETA, 8b,ALPHA, 8b,BETA, 8c,ALPHA, 8c,BETA, 8d,ALPHA, 8d,BETA, 8e,ALPHA, 8e,BETA, 8f,ALPHA, 8f,BETA, 8g,ALPHA, 8g,BETA, 8h,ALPHA, 8h,BETA, 8i,ALPHA, 8i,BETA, 8j,ALPHA, 8j,BETA, 8k,ALPHA, 8k,BETA, 8l,ALPHA, 8l,BETA, 8m,ALPHA, 8m,BETA, 8n,ALPHA, 8n,BETA, 8o,ALPHA, 8o,BETA, 8p,ALPHA, 8p,BETA, 8q,ALPHA, 8q,BETA, 8r,ALPHA, 8r,BETA, 8s,ALPHA, 8s,BETA, 8t,ALPHA, 8t,BETA, 8u,ALPHA, 8u,BETA, 8v,ALPHA, 8v,BETA, 8w,ALPHA, 8w,BETA, 8x,ALPHA, 8x,BETA, 8y,ALPHA, 8y,BETA, 8z,ALPHA, 8z,BETA)-] |
| 24.268 | 24.080 | 24.430 | 3.69 | 5.10 | 1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1R-(1,ALPHA, 4,BETA, 4a,BETA, 8a,BETA, 8a,BETA, 8b,ALPHA, 8b,BETA, 8c,ALPHA, 8c,BETA, 8d,ALPHA, 8d,BETA, 8e,ALPHA, 8e,BETA, 8f,ALPHA, 8f,BETA, 8g,ALPHA, 8g,BETA, 8h,ALPHA, 8h,BETA, 8i,ALPHA, 8i,BETA, 8j,ALPHA, 8j,BETA, 8k,ALPHA, 8k,BETA, 8l,ALPHA, 8l,BETA, 8m,ALPHA, 8m,BETA, 8n,ALPHA, 8n,BETA, 8o,ALPHA, 8o,BETA, 8p,ALPHA, 8p,BETA, 8q,ALPHA, 8q,BETA, 8r,ALPHA, 8r,BETA, 8s,ALPHA, 8s,BETA, 8t,ALPHA, 8t,BETA, 8u,ALPHA, 8u,BETA, 8v,ALPHA, 8v,BETA, 8w,ALPHA, 8w,BETA, 8x,ALPHA, 8x,BETA, 8y,ALPHA, 8y,BETA, 8z,ALPHA, 8z,BETA)-] |
| 24.551 | 24.430 | 24.610 | 0.38 | 5.01 | Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)- |
| 24.723 | 24.610 | 24.930 | 0.55 | 9.32 | 1H-CYCLOPROP[E]AZULENE, 1A,2,3,4,4A,5,6,7B-OCTAHYDRO-1,1,4,7-TETRAMETHYL-, [1AR-(1A,ALPHA, 4,ALPHA, 4A,BETA, 7B,ALPHA, 7C,ALPHA, 7D,ALPHA, 7E,ALPHA, 7F,ALPHA, 7G,ALPHA, 7H,ALPHA, 7I,ALPHA, 7J,ALPHA, 7K,ALPHA, 7L,ALPHA, 7M,ALPHA, 7N,ALPHA, 7O,ALPHA, 7P,ALPHA, 7Q,ALPHA, 7R,ALPHA, 7S,ALPHA, 7T,ALPHA, 7U,ALPHA, 7V,ALPHA, 7W,ALPHA, 7X,ALPHA, 7Y,ALPHA, 7Z,ALPHA)-] |
| 25.031 | 24.930 | 25.120 | 0.36 | 4.41 | Ledene alcohol |
| 25.317 | 25.120 | 25.400 | 3.05 | 3.93 | BUTANOIC ACID, 3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL ESTER, (E)- |
| 25.457 | 25.400 | 25.590 | 0.15 | 7.00 | Bicyclo[5.2.0]nonane, 4-methylene-2,8-trimethyl-2-vinyl- |
| 25.673 | 25.590 | 25.730 | 0.12 | 6.20 | 1,1,4,7-TETRAMETHYLDECAHYDRO-1H-CYCLOPROPA[E]AZULEN-6-OL # |
| 25.775 | 25.730 | 25.840 | 0.10 | 5.12 | Citronellyl valerate |
| 26.003 | 25.840 | 26.050 | 0.93 | 4.84 | 2H-Cycloprop[ε]azulene-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-6-methylene-, [1ar-(1a,ALPHA, 4a,ALPHA, 7,BETA, 7a,BETA, 7b,ALPHA, 7b,BETA, 7c,ALPHA, 7c,BETA, 7d,ALPHA, 7d,BETA, 7e,ALPHA, 7e,BETA, 7f,ALPHA, 7f,BETA, 7g,ALPHA, 7g,BETA, 7h,ALPHA, 7h,BETA, 7i,ALPHA, 7i,BETA, 7j,ALPHA, 7j,BETA, 7k,ALPHA, 7k,BETA, 7l,ALPHA, 7l,BETA, 7m,ALPHA, 7m,BETA, 7n,ALPHA, 7n,BETA, 7o,ALPHA, 7o,BETA, 7p,ALPHA, 7p,BETA, 7q,ALPHA, 7q,BETA, 7r,ALPHA, 7r,BETA, 7s,ALPHA, 7s,BETA, 7t,ALPHA, 7t,BETA, 7u,ALPHA, 7u,BETA, 7v,ALPHA, 7v,BETA, 7w,ALPHA, 7w,BETA, 7x,ALPHA, 7x,BETA, 7y,ALPHA, 7y,BETA, 7z,ALPHA, 7z,BETA)-] |
| 26.142 | 26.060 | 26.370 | 3.08 | 5.69 | PHENYLETHYL TIGLATE 2 |

ANNEXE

ANNEXE 5

| | | | | | |
|--------|--------|--------|------|-------|---|
| 26.461 | 26.370 | 26.550 | 0.44 | 5.63 | 1,1,4,7-TETRAMETHYLDECAHYDRO-1H-CYCLOPROPA[E]AZULEN-4-OL # |
| 26.599 | 26.550 | 26.670 | 0.30 | 3.81 | (2E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL 3-METHYLBUTANOATE # |
| 26.778 | 26.670 | 26.900 | 0.59 | 8.15 | 1H-CYCLOPROPE[AZULEN-4-OL, DECAHYDRO-1,1,4,7-TETRAMETHYL-, [1AR-(1A,ALPHA,4,ALPHA,4A,BETA,7,ALPHA,7A,BETA,7B,ALPHA,)]- |
| 26.966 | 26.900 | 27.070 | 0.25 | 8.42 | 12-Oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene, 1,5,5,8-tetramethyl-, [1R-(1R@,3E,7E,11R@)]- |
| 27.169 | 27.070 | 27.210 | 0.41 | 5.70 | Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)- |
| 27.374 | 27.210 | 27.450 | 9.64 | 5.85 | 2-Naphthalenemethanol, 1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydro-alpha, alpha,4a,8-tetramethyl-, [2R-(cis)- |
| 27.500 | 27.450 | 27.550 | 0.40 | 4.06 | 1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-3,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,4.beta.,4a.beta.,8a.beta.)]- |
| 27.603 | 27.550 | 27.670 | 0.55 | 4.44 | 2-Naphthalenemethanol, 1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydro-alpha, alpha,4a,8-tetramethyl-, [2R-(cis)- |
| 27.740 | 27.670 | 27.820 | 0.81 | 5.08 | Agarospinol |
| 27.914 | 27.820 | 27.950 | 0.96 | 5.71 | 1-NAPHTHALENOL, 1,2,3,4,4A,7,8,8A-OCTAHYDRO-1,6-DIMETHYL-4-(1-METHYLETHYL)-, [1R-(1.ALPHA,4.BETA,4A.BETA,8A.ALPHA,)]- |
| 27.999 | 27.960 | 28.110 | 0.82 | 4.77 | Guaiacwood acetate |
| 28.184 | 28.110 | 28.220 | 1.29 | 4.19 | ROSIFOLIOL |
| 28.268 | 28.220 | 28.390 | 2.08 | 5.28 | .tau.-Muurolool |
| 28.503 | 28.390 | 28.570 | 1.85 | 5.27 | Ar-tumercrone |
| 28.625 | 28.570 | 28.690 | 0.44 | 4.29 | Tumerone |
| 28.806 | 28.690 | 28.900 | 0.94 | 7.35 | cis-Z, -alpha, -beta-bisabolene epoxide |
| 28.976 | 28.900 | 29.090 | 0.37 | 5.67 | 6-OCTEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL-, PROPANOATE |
| 29.200 | 29.090 | 29.260 | 0.19 | 6.78 | 6-ISOPROPENYL-4,8A-DIMETHYL-1,2,3,5,6,7,8,8A-OCTAHYDRO-2-NAPHTHALENOL |
| 29.362 | 29.260 | 29.410 | 0.33 | 6.98 | .gamma.-ErgosteneI |
| 29.518 | 29.410 | 29.640 | 4.29 | 4.51 | (2E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL (2E)-2-METHYL-2-BUTENOATE # |
| 29.697 | 29.640 | 29.760 | 0.19 | 3.94 | OCTADECANE |
| 29.925 | 29.760 | 30.040 | 0.68 | 5.02 | (2E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL HEXANOATE # |
| 30.109 | 30.040 | 30.180 | 0.12 | 6.90 | IRON IODIDE COMPLEX I |
| 30.245 | 30.180 | 30.380 | 0.16 | 8.11 | Spathulenol |
| 30.420 | 30.380 | 30.550 | 0.07 | 6.93 | Guaiacwood acetate |
| 30.711 | 30.550 | 30.770 | 0.10 | 10.45 | MINTSULFIDE |
| 30.925 | 30.770 | 31.030 | 0.44 | 4.60 | (2E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL HEXANOATE # |
| 31.159 | 31.030 | 31.320 | 0.15 | 11.93 | Tetracosene |
| 31.476 | 31.320 | 31.530 | 0.11 | 7.92 | 2(3H)-NAPHTHALENONE, 4,4A,5,6,7,8-HEXAHYDRO-4,4A-DIMETHYL-6-[1-METHYLETHENYL]-, [1R-(4.ALPHA,4A.ALPHA,6.BETA,)]- |
| 31.593 | 31.530 | 31.670 | 0.11 | 5.49 | 2-Dodecen-1-yl)-succinic anhydride |
| 31.720 | 31.670 | 31.790 | 0.04 | 5.14 | DEHYDROAROMADENDRENE |
| 32.011 | 31.880 | 32.110 | 0.06 | 7.05 | NEDALLOCIMENE |
| 32.419 | 32.340 | 32.520 | 0.06 | 5.35 | DEHYDROAROMADENDRENE |
| 32.658 | 32.520 | 32.800 | 0.08 | 5.63 | 6-OCTEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL-, PROPANOATE |
| 32.862 | 32.800 | 32.970 | 0.03 | 4.26 | ISOPROPYL TETRADECANOATE |
| 33.388 | 33.320 | 33.440 | 0.09 | 4.18 | 2-PENTADECANON, 6,10,14-TRIMETHYL- |
| 33.485 | 33.440 | 33.530 | 0.05 | 4.05 | TETRACOSANE, 2,6,10,15,19,23-HEXAMETHYL- |
| 33.578 | 33.530 | 33.660 | 0.12 | 3.25 | (2E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL 3-METHYLBUTANOATE # |
| 33.755 | 33.660 | 33.980 | 0.06 | 12.36 | OCTADECANE |
| 34.038 | 33.980 | 34.160 | 0.10 | 4.00 | 9,12-Octadecadienyl chloride, (Z,Z)- |
| 34.290 | 34.160 | 34.440 | 0.10 | 9.03 | 3-Hexacosanol |
| 34.500 | 34.440 | 34.540 | 0.03 | 4.55 | HEXADECANE, 2,6,10,14-TETRAMETHYL- |
| 34.603 | 34.540 | 34.700 | 0.07 | 6.28 | Tetrapentacontane |
| 34.802 | 34.700 | 34.970 | 0.06 | 6.39 | DOTRICAONTANE |
| 35.169 | 35.110 | 35.210 | 0.07 | 3.78 | (2E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL HEXANOATE # |
| 35.245 | 35.210 | 35.310 | 0.10 | 4.13 | Citronellyl valerate |
| 35.340 | 35.310 | 35.410 | 0.14 | 4.00 | 5,9,13-Pentadecatrien-2-one, 6,10,14-trimethyl-, (E,E)- |
| 35.464 | 35.410 | 35.540 | 0.15 | 4.70 | OCTADECANE |
| 35.590 | 35.540 | 35.640 | 0.04 | 5.03 | 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, propanoate |
| 35.758 | 35.640 | 35.920 | 0.09 | 11.65 | 1-Nonadecene |
| 36.123 | 36.050 | 36.200 | 0.18 | 3.58 | (2E)-3,7-DIMETHYL-2,6-OCTADIENYL 3-METHYLBUTANOATE # |
| 36.410 | 36.320 | 36.450 | 0.14 | 4.60 | L-(+)-Ascorbic acid, 2,6-di-hexadecanoate |
| 36.478 | 36.450 | 36.650 | 0.16 | 6.68 | Dibutyl phthalate |
| 37.345 | 37.090 | 37.410 | 0.30 | 7.27 | HEXANEDIOIC ACID, BIS(2-ETHYLHEXYL) ESTER |
| 37.458 | 37.410 | 37.690 | 0.27 | 6.75 | Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester |
| 38.267 | 38.170 | 38.360 | 0.03 | 5.28 | 1,54-DIBROMOTETRAPENTACONTANE |
| 38.620 | 38.360 | 38.820 | 0.51 | 12.06 | Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- |
| 38.860 | 38.820 | 39.010 | 0.04 | 4.87 | HEXATRIACONTANE |
| 39.200 | 39.060 | 39.300 | 0.03 | 7.88 | DOTRICAONTANE |
| 39.768 | 39.720 | 39.820 | 0.06 | 3.76 | DOCOSANE |
| 40.127 | 40.070 | 40.170 | 0.03 | 4.09 | 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol |
| 40.427 | 40.290 | 40.510 | 0.07 | 6.69 | OCTADECANE |
| 40.690 | 40.510 | 40.850 | 0.21 | 9.01 | OCTADECANE |
| 41.231 | 41.010 | 41.280 | 0.05 | 7.66 | Hexatriacontane |
| 41.321 | 41.280 | 41.380 | 0.03 | 4.32 | 1-BROMOTRICAONTANE |
| 41.440 | 41.380 | 41.510 | 0.04 | 4.35 | TETRAPENTACONTANE |
| 41.646 | 41.510 | 41.770 | 0.06 | 5.77 | OCTADECANE |
| 42.086 | 42.010 | 42.150 | 0.03 | 2.97 | HEXATRIACONTANE |
| 42.318 | 42.220 | 42.400 | 0.03 | 3.90 | Acetic acid, octadecyl ester |
| 44.301 | 44.230 | 44.370 | 0.05 | 3.45 | Dotrifacontane |
| 44.564 | 44.370 | 44.630 | 0.05 | 11.41 | HAHNFETT |
| 45.097 | 45.000 | 45.220 | 0.03 | 5.51 | OCTADECANE |
| 45.305 | 45.220 | 45.410 | 0.07 | 7.83 | Tetrapentacontane |
| 45.460 | 45.410 | 45.540 | 0.04 | 5.87 | OCTADECANE |
| 46.587 | 46.450 | 46.710 | 0.29 | 5.17 | Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester |
| 46.840 | 46.710 | 46.970 | 0.04 | 11.54 | 1,3,5-tris(cyclohexyl)pent-1-ene |
| 47.208 | 47.110 | 47.360 | 0.45 | 4.61 | Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- |

ANNEXE

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie en phase liquide a permis de réaliser des analyses qui n'étaient auparavant pas possible avec les techniques sur couche mince ou en phase gazeuse cette technique se faisait sur des colonnes en verre.

Principe de la HPLC :

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution d'abord, puis elle sera introduite dans la phase mobile liquide (éluant).

Grâce à la répartition sélective des solutés entre la phase mobile et la phase stationnaire, chaque soluté est donc soumis à une force de rétention exercée par la phase stationnaire, et une force de mobilité due à la phase mobile.

Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile, poussée par une pompe sous forte pression, parcourt le système chromatographique.

Le mélange à analyser est injecté puis transporté à travers le système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire.

En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont représentés par des pics.

L'ensemble des pics enregistrés appelé chromatogramme [1]. Le mécanisme de la séparation chromatographique s'explique par les différences de répartition des molécules des composés d'un mélange entre deux phases non-miscibles : l'une mobile et l'autre stationnaire. Ce principe est traduit par le schéma suivant :

ANNEXE

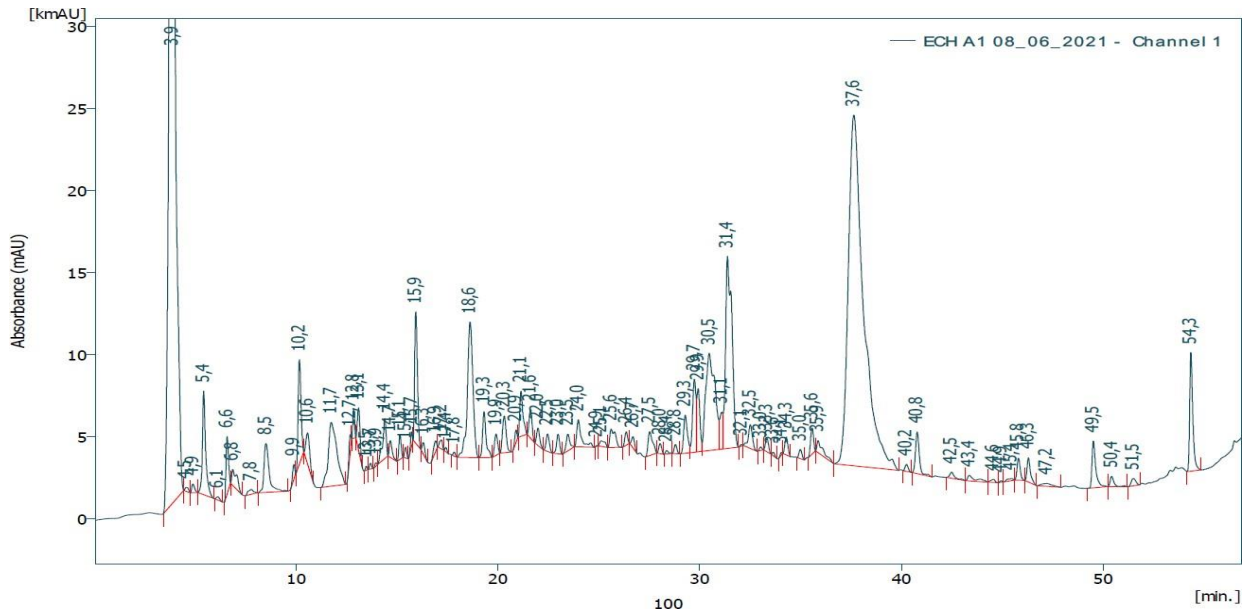


Figure .3. Chromatogramme HPLC des polyphénols dans l'extrait éthanolique P. graveolens.

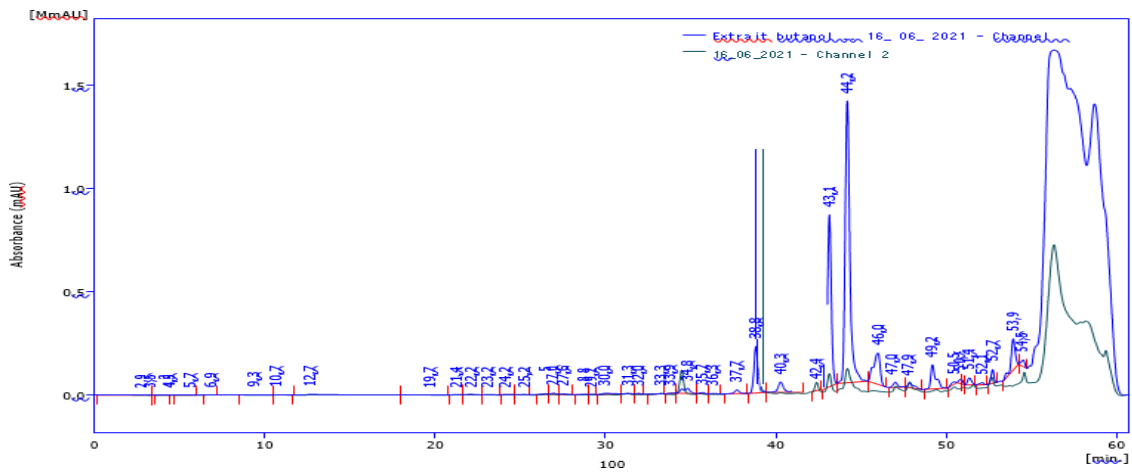


Figure.4. Chromatogramme HPLC des polyphénols dans l'extrait de butanol P. graveolens

Annexe 8



Figure.5. Plaque CCM avant la révélation



Figure.6. Plaque CCM séchée

