



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



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

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

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialités : Biochimie Appliquée

Intitulé :

**Composition chimique et activité
antibactérienne de l'huile essentielle, de
l'hydrolat et des flavonoïdes extraits des feuilles
de *Pelargonium graveolens***

Présenté et soutenu par :

Le : 17/07/2019

Hanane HADDADI

Chaima TALHI

Jury d'évaluation :

Président :	K. BAZRI	MC-A	UFM Constantine
Rapporteur :	B. BOUSEBA	MC-B	UFM Constantine
Examineur :	S. CHIBANI	MC-A	UFM Constantine

Année universitaire
2018 - 2019

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

*En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur Mr : **Bousebae bachir** pour son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.*

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

*Nous remercions tous ceux qui nous ont aidés et en particulier : **Mr Nabil** et **Mr BRAHIM** pour tous les efforts déployés pour nous soutenir dans ce travail.*

Nous profitons aussi de cet occasion pour adresser remerciements à nos parents pour leur sacrifices et à toutes les familles qui nous ont toujours encouragé et soutenu tout au long des années d'étude. Nous remercions fin tous ceux qui n'ont pas été cités dans ces quelques lignes et qui ont contribué de près ou de loin par leur aide au bon déroulement de ce travail.



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail avant tout à Mes chers parents
«Ammar et Ouarda»*

*pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur
soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A ma chère sœur, Amira, et son mari, Chaoiki,
et leur fille Mayar*

pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral

*A mes deux frères, Halim et Abedel Raouf,
pour leur appui et leur encouragement*

A tous mes amis et mes collègues d'études.

*Tout qu'ont collaboré de près ou de loin à l'élaboration de ce
travail*

A tous ceux que j'aime

Merci.

Hanane





Je dédie ce mémoire :

*A ceux qui m'ont tout donné
sans rien attendre en retour*

*A ceux qui m'ont encouragée et soutenue : mes parents
«FARID et MALIKA » tout les mots sont insuffisants pour
exprimer ma gratitude, et mon amour. Que le tout puissant
les garde et les protégé.*

*A mes adorable sœurs «IMEN et DOUAA » Merci d'être
toujours à mes côtés.*

*A mon cher frère « SOHAI'B » et notre princesse
«BISSAN », les bijoux de la famille.*

*A mon mari «ALI » pour son aide et son précieux
encouragement.*

*A notre encadreur monsieur «BOUSEBA BACHIR »pour
son précieux conseil et son aide.*

*A toute ma famille, et à tous mes amis pour leur soutien.
Merci d'être toujours là pour moi.*

CHAIMA

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : La famille Géraniacées et le genre Pélargonium	3
I. 1 – Ordre des Géraniales	3
I. 2 – La famille des <i>Géraniacées</i> (<i>Geraniaceae</i>)	3
I. 3 – <i>Géranium</i> et <i>Pélargonium</i>	4
I. 4 – Le géranium rosat (<i>Pélargonium graveolens</i>)	7
I. 5 – Classification de <i>Pélargonium graveolens</i>	8
I. 6 – Intérêts économiques et thérapeutique de <i>Pélargonium graveolens</i>	10
Chapitre II : Huiles essentielles et flavonoïdes	11
II. 1- Définition	11
II. 2- Sources naturelles d’huiles essentielles	11
II. 3- Composition des huiles essentielles	12
II. 4- Méthodes de production d’huiles essentielles	13
II. 5- Utilisation d’huiles essentielles	15
II. 6- Huiles essentielles du genre <i>Pelargonium</i>	16
II. 7- Les flavonoïdes	19
II. 7. 1–Définition des flavonoïdes	19
II. 7. 2– Structure et biosynthèse des flavonoïdes	20
II. 7. 3– Activité antibactérienne des flavonoïdes	21
II. 8- flavonoïdes du genre <i>Pelargonium</i>	22
Chapitre III : Matériels et Méthodes	24
III. Matériel et méthodes	24
III. 1- Plan d’expérimentation	24
III. 2- Matériel végétal	24

Table des matières

III. 3- Souches bactériennes et réactifs	25
III. 3. 1- Souches bactériennes	25
III. 3. 2- Produits et réactifs chimiques	25
III. 4 - Extraction d'huile essentielles et d'hydrolat par Clevenger	26
III. 4. 1- Hydrodistillation	26
III. 4. 2- Récupération d'huile essentielles et d'hydrolat	27
III. 5 - Extraction d'hydrolat par un alambic traditionnel (El Qattar)	27
III. 6 – Extraction d'hydrolat par une cocotte	28
III. 7 – Augmentation de la concentration d'hydrolats par extraction liquide-liquide	29
III. 8 – Extraction des flavonoïdes	29
III. 8. 1- Macération dans le méthanol aqueux (extraction solide/liquide)	29
III. 8. 2- Évaporation	30
III. 8. 3- Détermination du rendement	31
III. 8. 4- Affrontement par l'éther de pétrole	31
III. 8. 5- Extraction des différent types de flavonoïdes	31
III. 8. 5. 1- Affrontement par l'éther diéthylique	32
III. 8. 5. 2- Affrontement par l'acétate d'éthyle	32
III. 8. 5. 3- Affrontement par le butanol	32
III. 9 – Chromatographie sur couche mince (CCM)	32
III. 9. 1- Les principaux éléments du CCM	33
III. 9. 2- Développement du chromatogramme	34
III. 9. 3- Révélation et calcul du rapport frontal (Rf)	34
III. 10- Activité antibactérienne des huiles essentielles	35
a) Préparation d'inoculum	35
b) Préparation des disques	35
c) Test d'activité antibactérienne	35

Table des matières

d) Lecture des résultats	36
Chapitre IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS	37
IV. 1- Extraction d'huile essentielle et d'hydrolat	37
IV. 1. 1- Extraction d'huile essentielle par Clevenger	37
IV. 1. 2- Extraction d'hydrolat	38
IV. 2- Mise en évidence des composés de l'huile essentielle et de l'hydrolat	38
IV. 3- Extraction des flavonoïdes de <i>pélargonium graveolens</i>	41
IV. 4- Mise en évidence des flavonoïdes de <i>pélargonium graveolens</i>	42
IV. 5- Test d'activité antibactérienne	44
IV. 5. 1- Huile essentielle et hydrolat	44
IV. 5. 2- Flavonoïdes	46
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVE	51
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
RESUME	

LISTE D'ABREVIATION

ADN	: Acide désoxyribonucléique
ATP	: Adénosine triphosphate
C	: Carbone
AcOEt	: Acétate d'éthyle
CCM	: Chromatographie sur couche mince
CHCl₃	: Chloroforme
cm	: centimètre
DO	: densité optique
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
J	: Jours
HE	: Huile essentielle
HEs	: Huiles essentielles
Gram-	: Gram négatif
Gram+	: Gram positif
g	: Gramme
h	: Heure
H₂O	: Eau
l	: litre
MeOH	: Méthanol
mg	: Milligramme
ml	: Millilitre
µl	: Microlitre
µg	: Microgramme
m	: Mètre
min	: Minutes
mm	: Millimètre
N°	: Numéro
nm	: Nanomètre
ppm	: partie par million
R	: Vitesse de rotation
sp	: Sous espèce
T°	: Température
UV	: Ultraviolet
v/v	: Volume/ Volume

LISTE DES FIGURE

Figure 1 : Cladogramme des ordres des <i>Eudicots</i>	3
Figure 2 : Fleurs d'espèces typiques de géranium (a) et de pélargonium (b)	5
Figure 3 : Diversité des formes de fleurs dans le Pélargonium	6
Figure 4 : Champ de culture de géranium rosat à Chiffa	7
Figure 5 : Géranium rosat (<i>Pélargonium graveolens</i>)	8
Figure 6 : Pouvoir antioxydant de deux fractions de l'extrait aqueux de <i>Pélargonium graveolens</i> , lecture OD après 30 min d'incubation	10
Figure 7 : Organes végétaux contenant des huiles essentielles	12
Figure 8 : Groupes chimiques hétérogènes présents dans l'huile essentielle	13
Figure 9 : Méthodes de production des huiles essentielles à partir de matières végétales	13
Figure 10 : Unité de distillation à l'eau et à la vapeur	14
Figure 11 : Unité d'hydrodistillation	15
Figure 12 : Les trichomes glandulaires et non glandulaires de <i>Pélargonium graveolens</i>	17
Figure 13 : Quelques simples terpénoïdes trouvés chez les espèces de Pélargonium	18
Figure 14 : Rôle des flavonoïdes dans les diverses bioactivités, la santé humaine et l'agriculture	19
Figure 15 : Structure du squelette de base des flavonoïdes et de leurs classes	20
Figure 16 : Voies de la biosynthèse des flavonoïdes	21
Figure 17 : Flavonoïdes extraits de différentes espèces de <i>Pélargonium</i>	23
Figure 18 : Plan expérimental	24
Figure 19 : La plante géranium rosat (<i>Pélargonium graveolens</i>)	25
Figure 20 : Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger	26

Table des matières

Figure 21 : Hydrodistillation par alambic traditionnel (El Qattar)	28
Figure 22 : Hydrodistillation par cocotte	28
Figure 23 : Ensemencement et dépôt des disques imprégnés d'HE obtenue	36
Figure 24 : Phase supérieure organique contenant l'huile essentielle	37
Figure 25 : Chromatogramme CCM analytique de l'huile essentielle et hydrolat 3 de Pélargonium graveolens	39
Figure 26 : Chromatogramme CCM analytique des trois hydrolats de la partie aérienne de Pélargonium graveolens (Révélation chimique)	41
Figure 27 : Mise en évidence des flavonoïdes de <i>Pélargonium graveolens</i> (Résultat de la CCM)	43
Figure 28 : Activité antibactérienne d'HE, H1, H2 et H3 de <i>Pélargonium graveolens</i> (contre <i>Staphylococcus sp</i>)	45
Figure 29 : Activité antibactérienne d'HE, H1, H2 et H3 de <i>Pélargonium graveolens</i> (contre <i>E. coli</i>)	45
Figure 30 : Zones d'inhibition (halos) autour des disques imprégnés d'extrait n-butanol	47
Figure 31 : Traduction de l'activité antimicrobienne sur <i>Escherichia coli</i> sous forme de zones d'inhibition	47
Figure 32 : Traduction de l'activité antimicrobienne sur <i>Staphylococcus sp</i> sous forme de zones d'inhibition	48
Figure 33 : Test antibactérien des extraits de <i>Pélargonium graveolens</i> contre <i>Escherichia coli</i>	48
Figure 34 : Test antibactérien des extraits de <i>Pélargonium graveolens</i> contre <i>Staphylococcus</i> <i>sp</i>	49
Figure 35 : Test antibactérien de la phase méthanolique (aqueuse) contre <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus sp</i>	49

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les principales différences entre <i>Pélargonium</i> et <i>Géranium</i>	5
Tableau 2 : Classification classique du Géranium rosat (<i>Pélargonium graveolens</i>)	9
Tableau 3 : Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Pélargonium graveolens</i>	18
Tableau 4 : Flavonoïdes et composés phénoliques totaux extraits à partir des feuilles de <i>Pélargonium graveolens</i>	23
Tableau 5 : Mise en évidence des composés d'huile essentielle et d'hydrolat de <i>Pélargonium graveolens</i> (Résultat de la CCM)	39
Tableau 6 : Mise en évidence des flavonoïdes de <i>Pélargonium graveolens</i> (Résultat de la CCM)	44

Introduction générale

INTRODUCTION

Ces dernières années, les plantes médicinales et aromatiques ont fait l'objet d'une attention particulière, que ce soit par les chercheurs ou par les utilisateurs. Cela est dû, d'une part, à l'efficacité et à la facilité d'extraction de leurs composés chimiques (principes actifs) et, d'autre part, aux risques posés par de nombreuses substances chimiques de synthèse.

Le but de nombreuses recherches est d'obtenir des extraits de haute qualité à partir de ces plantes et avec des techniques d'extraction simples et peu coûteuses. La qualité de ces extraits dépend généralement de l'efficacité de leur activité biologique, notamment leur activité contre les micro-organismes contaminants et les facteurs oxydants, qui causent des graves problèmes de santé.

Les huiles essentielles, les hydrolats (ou eaux de distillation) et les polyphénols (flavonoïdes) de certaines plantes aromatiques sont des extraits importants, qui sont particulièrement utilisés dans la médecine traditionnelle (en tant que médicaments naturels), dans l'industrie de la cosmétique, dans l'industrie des boissons, et dans la lutte contre les insectes nuisibles (exemple : substances actives des produits naturels anti-moustiques).

Le *Pelargonium graveolens*, appelé également géranium rosat (du nom de l'île de la Réunion), géranium odorant, pélargonium x asperum Ehrh. Ex Willd (nom scientifique) (**JANIN, 2006**), est une plante aromatique de la famille *Geraniaceae* (communément appelées *Géraniacées*).

Elle est originaire d'Afrique de Sud, cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales (**Boukhatem et al, 2010**), introduite en Algérie en 1847 et développée industriellement par Léon Chiris et Monk vers 1865 (**Naves, 1934 ; Igolen, 1941**) in « **Demarne, 2002** ».

En Algérie, le *Pelargonium graveolens* est cultivé principalement dans la plaine de la Mitidja, dans les jardins et dans les cimetières (**Boukhatem et al, 2011**).

C'est une plante en forme d'arbuste à feuilles longues opposées ou alternes, elle peut atteindre 1 m de haut et 1 m de diamètre au niveau de la cime, ses fleurs sont roses, rouges et blanches. Il existe plus de centaines d'espèces de géranium sauvages, mais seule une dizaine qui sont odorantes, à parfum de rose prononcé.

La plante géranium rosat est utilisée en médecine traditionnelle pour soulager la douleur causée par les hémorroïdes, la dysenterie, l'inflammation ou le cancer. Elle est également utilisée dans les industries de la parfumerie, de la cosmétique et de l'aromathérapie (**Saraswathi et al., 2011**).

Le but principal de ce travail est de valoriser l'utilisation des extraits de cette plante aromatique par le biais de méthodes d'extraction traditionnelles simples et conventionnelles.

Le document est structuré en quatre chapitres :

Chapitres I et II : Sont consacrés à une synthèse bibliographique sur la matière végétale étudiée, les huiles essentielles et les flavonoïdes respectivement.

Chapitres III : Décrit le matériel et les techniques expérimentales nécessaires à : (i) l'extraction de l'huile essentielle, de l'hydrolat et des flavonoïdes ; (ii) la mise en évidence de la composition chimique des extraits obtenus et (iii) l'évaluation de leurs activités antibactériennes.

Chapitres IV : Présente les résultats obtenus et leur discussion.

Enfin, ce travail est achevé par une conclusion générale et quelques perspectives.

Synthèse bibliographique

I. 1 – Ordre des Géraniales

L'ordre des *Géraniales* est l'un des 16 ordres de la sous-classe Rosidées (Rosidae), dicotylédones vraies (en anglais "Eudicots"), qui constitue un clade important dans les classifications phylogénétiques des Angiospermes.

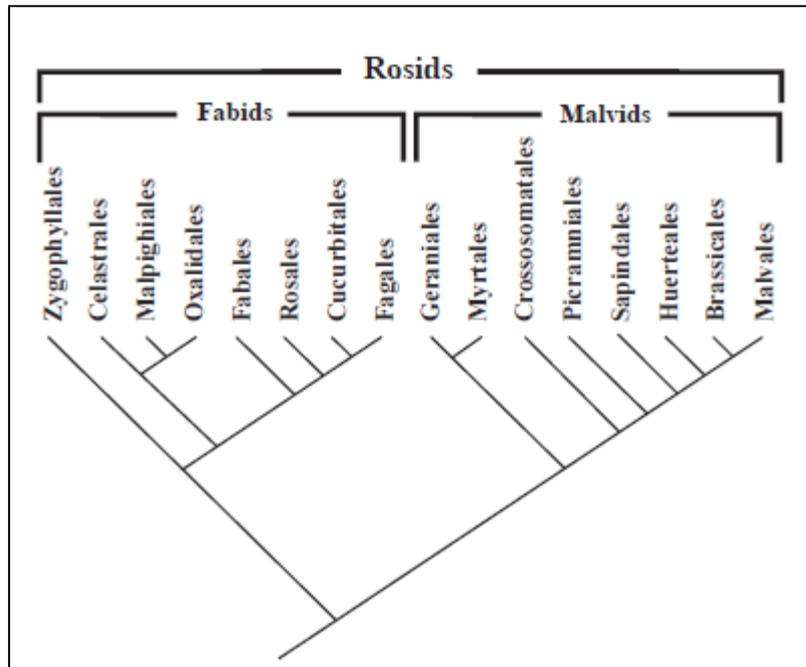


Figure 1: Cladogramme des ordres des Eudicots, d'après APG III (2009) et Soltis *et al.* (2007) in « Simpson, 2010 ».

Selon la classification phylogénétique APG III (2009), l'ordre des *Géraniales* renferme les familles suivantes :

Geraniaceae, *Melanthaceae* (y compris *Francoaceae*) et *Vivianiaceae* (y compris *Ledocarpaceae*).

La caractérisation morphologique de *Géraniales* est difficile car les genres de *Melanthaceae* et, dans une moindre mesure, de *Ledocarpaceae* sont divers (Kubitzki, 2007).

Phytochimiquement, les *Géraniales* sont caractérisées par la présence typique d'ellagitannins ; l'acide ellagique ; les gallotannins et la géraniine, un ellagitannin à base d'acide déshydroxy hexahydroxydiphénique, composé important dans le géranium (Kubitzki, 2007).

I. 2 – La famille des Géraniacées (*Geraniaceae*)

La famille des *Geraniaceae* (communément appelées *Géraniacées*) est une famille de plantes dicotylédones vraies qui comprend 5–7 genres et 650–800 espèces (Simpson, 2010).

D'après **Kubitzki, 2007**, cette famille est constituée d'herbes ou d'arbustes, parfois à tiges succulentes.

Les principaux caractères morphologiques des *Géraniacées* sont (**Kubitzki, 2007 ; Simpson, 2010**) :

- Les tiges sont un pachycaul dans certains taxons ;
- Feuilles alternes ou opposées, principalement palmées ou composées, lobes profondément dentelés ou lobulés ;
- Inflorescences pseudo-ombellées, ou fleurs solitaires ;
- Sépales libres ou unis à la base ;
- Pétales 5 (4, 2 ou 0), libres, imbriqués ;
- Etamines 5 ou 10 et 15, puis en deux verticilles, parfois quelques stériles, filaments libres ou plus ou moins connés à la base ;
- Gynécée de 5 (4) carpelles ;
- Style avec 5 branches stigmatiques ;
- Ovaire à 5 lobes ;
- Placentation axile.

I. 3 – *Géranium* et *Pélargonium*

Le *Géranium* et le *Pélargonium* sont invariablement confondus par le grand public, ainsi que par les vendeurs de plantes et les praticiens de la médecine alternative, en particulier les spécialistes de l'aromathérapie (**Lis-Balchin, 2002**).

Cette confusion existait avant le naturaliste suédois Carl von Linné (1753) et son système de classification binomial, dans lequel les deux genres étaient placés sous le genre *Géranium*. Bien que l'horticulteur britannique Robert Sweet (1820) et d'autres botanistes les aient reclassés sous deux genres, l'acceptation de la plupart des gens ainsi que des pépinières reste faible (**Lis-Balchin, 2002**).

D'après **Miller, 2002**, les genres *Géranium* et *Pélargonium* sont classés dans la famille des Geraniaceae et possèdent un fruit allongé similaire, composé de 5 méricarpes, chacun contenant une seule graine.

Les principales différences entre ces deux genres sont résumées dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Les principales différences entre *Pélargonium* et *Géranium* (Miller, 2002).

Pélargonium	Géranium
Fleurs irrégulières (figure 1. a), la forme et la taille des deux pétales supérieurs sont différentes de celles des trois pétales inférieurs.	Fleurs régulières (figure 1. b), tous les pétales, plus ou moins, sont identiques en forme et en taille.
Présence de l'hypanthe (ou hypanthium).	Absence de l'hypanthe (ou hypanthium).
Le nombre des étamines fertiles : moins de dix.	Le nombre des étamines fertiles : dix.
Apparence générale (Habit) est diverse.	Principalement herbacée.
La plupart sensibles au gel (frost tender plants).	La plupart robustes (hardy plants).
Principalement de l'hémisphère sud.	Principalement de l'hémisphère nord.

La **Figure 2** illustre la différence entre les fleurs d'espèces typiques de *Géranium* et de *Pélargonium*.



Figure 2 : Fleurs d'espèces typiques de *Géranium* (a) et de *Pélargonium* (b) (Lis-Balchin, 2002).

Le genre *Géranium* comprend environ 300 espèces distinctes, dont la plupart se trouvent dans l'hémisphère Nord, principalement dans les climats tempérés. Certains peuvent être trouvés dans les tropiques mais à haute altitude dans des conditions de montagne. Ces espèces sont herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces et parfois ligneuses à la base ; quelques-unes ont des tubercules (Miller, 2002).

Le genre *Pélargonium* comprend environ 270 espèces distinctes, dont la majorité se trouve dans l'hémisphère Sud, principalement en Afrique du Sud, quelques-unes en Australie, en Afrique orientale et dans certaines îles, notamment Sainte-Hélène, Tristan de Cunha et Madagascar (Miller, 2002).

Les fleurs de *Pélargonium* sont disposées en une inflorescence ressemblant à une ombelle (Figure 3).

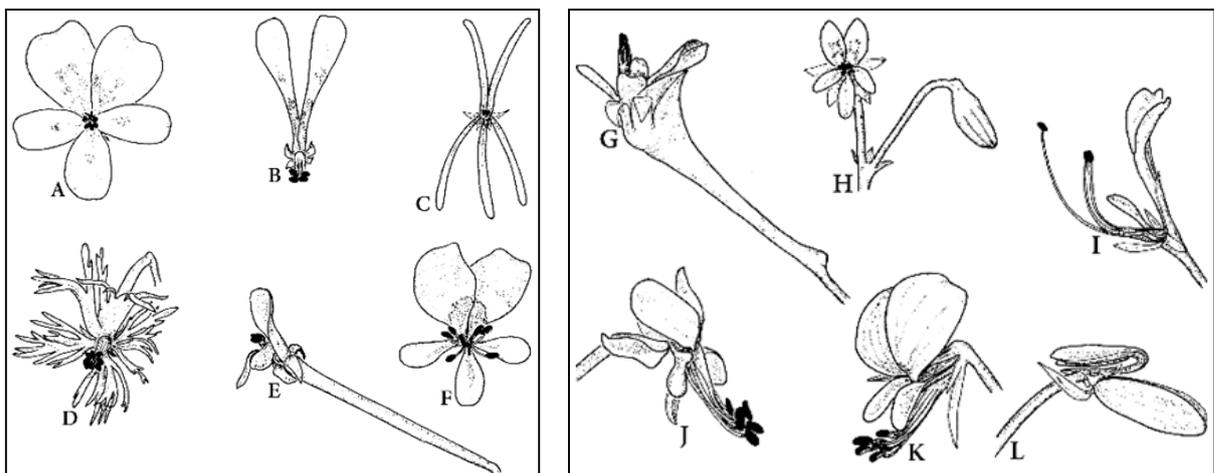


Figure 3 : Diversité des formes de fleurs dans le *Pélargonium*

A *P. magenteum*; **B** *P. ternifolium*; **C** *P. longiflorum*; **D** *P. bowkeri*; **E** *P. lobatum*; **F** *P. scabrum*; **G** *P. fulgidum*; **H** *P. grossularioides*; **I** *P. triandrum*; **J** *P. laxum*; **K** *P. multicaule*; **L** *P. rapaceum*.

(Dessiné par U. Meeve ; Struck 1997) in « Kubitzki, 2007 ».

Les espèces de ce genre peuvent être ligneuses, succulentes ou herbacées, annuelles ou vivaces, à feuilles persistantes ou à feuilles caduques, et certaines ont des tubercules (Miller, 2002).

I. 4 – Le géranium rosat (*Pélargonium graveolens*)

Le *Pélargonium graveolens* est une plante aromatique médicinale vivace. Elle porte différents noms dont les plus connus sont : géranium rosat (nom à l'île de la Réunion), géranium odorant, pelargonium x asperum Ehrh. Ex Willd (nom scientifique) (JANIN, 2006).

Son nom «*Pelargonium*» vient du grec “Pélagos” qui signifie cigogne, à cause de la forme de son fruit qui ressemble au bec des cigognes droit et pointu (Miller, 2002).

La plante est originaire de l'Afrique du Sud, cultivée dans de nombreuses régions méditerranéennes et subtropicales. Elle est introduite en Algérie au 19^{ème} siècle (Boukhatem et al, 2010).

D'après Boukhatem et al, 2011, le *Pélargonium graveolens* est cultivé en Algérie, principalement dans la plaine de Mitidja, dans les jardins et dans les cimetières. Par exemple, la **figure 4** montre la parcelle, située à Chiffa (wilaya de Blida), d'une culture biologique de cette plante s'étalant sur une superficie de 2 hectares et appartenant au domaine privé (Extralbio).



Figure 4 : Champ de culture de géranium rosat à Chiffa (Boukhatem et al, 2010).

A l'échelle industrielle, cette plante est menacée d'abandon, car sa culture est pratiquée sur de petites parcelles dans des conditions de production très difficiles (Boukhatem et al, 2010),

Les principaux caractères morphologiques du géranium rosat sont (FORNET, 2016) :

- Arbrisseau très ramifié (**figure 5**), plus ou moins érigé, jusqu'à 1,4 m de haut et 1 m de diamètre au niveau de la cime, à parfum de rose prononcé ;

- Tige tendre, gris vert, velue, devenant plus sombre et ligneuse avec l'âge ;
- Feuilles opposées ou alternes, molles, parfumées, hirsutes avec des poils glandulaires et non glandulaires ;
- Inflorescence terminale, en tête, avec 5–10 fleurs dans une petite pseudo-ombelle compacte ;
- Dix étamines ;
- Les fleurs rose pâle ont une symétrie bilatérale caractéristique du genre *Pélargonium* alors que les espèces du genre *Géranium* ont des fleurs asymétriques radiées suivant 5 rayons.



Figure 5 : Géranium rosat (*Pélargonium graveolens*)
(FORNET, 2016).

I. 5– Classification de *Pélargonium graveolens*

Selon **Miller, 2002**, les premiers *Pélargoniums* ont été regroupés avec des *Géraniums*. Plus de quarante ans plus tard, le botaniste français Charles-Louis L'Héritier (15 juin 1746 - 16 août 1800) a clairement distingué entre le *Pélargonium* et les deux genres *Erodium* et *Geranium*.

Vers la fin du dix-huitième siècle, le nombre de nouvelles espèces de *Pélargonium* et ces hybrides a tellement augmenté que leur classification est devenue nécessaire. La première tentative sérieuse a été faite par Sweet en 1820, dans le premier de ses cinq volumes de

Geraniaceae. Il a séparé plusieurs espèces parmi les plus distinctes en créant dix nouveaux genres.

La plupart des systèmes de classification qui ont suivi étaient des fusions des systèmes produits par Sweet et de Candolle.

William Henry Harvey, un botaniste irlandais (5 février 1811 - 15 mai 1866), produisit son « *Flora Capensis* » en 1860, où il sépara le genre en 15 sections, dont beaucoup étaient des combinaisons de ceux proposés par Sweet et de Candolle.

La division du genre par Harvey en sections a été suivie par des botanistes de plusieurs régions du monde qui ont étudié tous les aspects de la taxonomie, y compris l'emplacement, l'habitat, la taille et le nombre de chromosomes, les caractéristiques du pollen, la teneur en alcaloïdes et en protéines, la morphologie externe et l'anatomie interne.

Le tableau suivant représente la position systématique de *Pélargonium graveolens* d'après le service de conservation des ressources naturelles (Natural Resource Conservation Service – NRCS), agence du département de l'agriculture des États-Unis (United States Department of Agriculture, USDA).

Tableau 2 : Classification classique du géranium rosat
(*Pélargonium graveolens*).

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

<https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=PEGR11>
(consulter le 16 mars 2019)

I. 6 – Intérêts économiques et thérapeutique de *Pélargonium graveolens*

La plante *Pélargonium graveolens* a été utilisée en médecine traditionnelle depuis longtemps pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. A titre d'exemple, elle a été utilisée pour le traitement des plaies et les brûlures superficielles, pour les massages, en cas de grande fatigue ou de stress et pour le soulagement des hémorroïdes, de la dysenterie, de l'inflammation et du cancer.

Elle a été également utilisée dans les industries de la parfumerie, de la cosmétique et de l'aromathérapie.

Les extraits de cette plante présentent des activités antioxydantes, antibactériennes, antifongiques et des effets acaricides. C'est donc une source potentielle d'ingrédients actifs pour l'industrie alimentaire et pharmaceutique (Saraswathi *et al*, 2011 ; Ben Hsouna et Hamdi, 2012 ; Lis-Balchin, 2002 ; Asgarpanah et Ramezanloo, 2015).

Selon Asgarpanah et Ramezanloo, 2015, les aspects thérapeutiques précieux de *Pélargonium graveolens* sont principalement liés à l'existence des constituants volatils, de terpénoïdes et de flavonoïdes.

El Ouadi *et al*, 2017 ont trouvé que la fraction acétate d'éthyle et la fraction éther diéthylique de l'extrait aqueux de *Pélargonium graveolens* présentent une bonne activité antioxydante à une concentration de 2 µg / ml, jusqu'à 53% et 51,84% respectivement (figure 6).

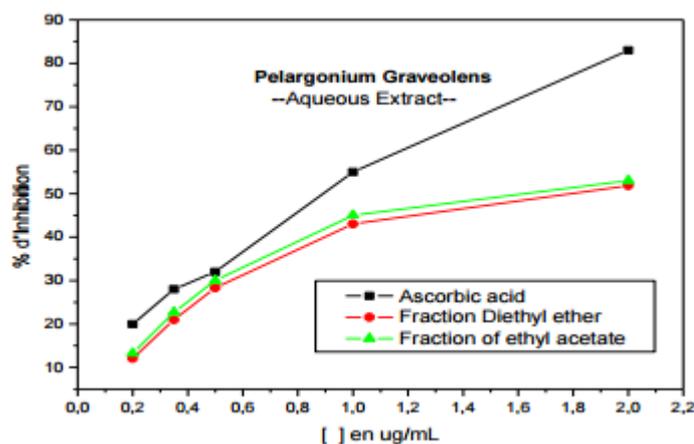


Figure 6 : Pouvoir antioxydante de deux fractions de l'extrait aqueux de *Pélargonium graveolens*, lecture OD après 30 min d'incubation.

II. Les huiles essentielles

II. 1-Définition

Une huile essentielle telle que définie par l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) dans le document 9235.2 (**Rose, 2003**) : "tout produit obtenu à partir de matières premières naturelles, soit par distillation à l'eau ou à la vapeur, soit à partir d'épicarpes d'agrumes, par traitement mécanique ou par distillation à sec".

L'huile essentielle est un mélange complexe de composés volatils produits par des organismes vivants et isolés uniquement par des moyens physiques (pressage et distillation) à partir d'une plante entière ou d'une partie de plante d'origine taxonomique connue (**Franz et Novak, 2010**).

II. 2-Sources naturelles d'huiles essentielles

Selon **Handa, 2008**, les huiles essentielles sont généralement extraites à partir d'une ou de plusieurs parties de la plante. Ces différentes parties sont :

- les fleurs (Rose, Jasmin, Œillet, Giroflier, Mimosa, Romarin, Lavande) ;
- les feuilles (Menthe, Ocimum, Citronnelle, Jamrosa) ;
- les feuilles et les tiges (Géranium, Patchouli, Verveine, Cannelle) ;
- l'écorce (Cannelle, Cassia) ;
- le bois (Cèdre, Pin) ;
- les racines (Angélique, Sassafras, Vétiver, Valériane) ;
- les graines (Fenouil, Coriandre, Carvi, Aneth, Muscade) ;
- les fruits (Bergamote, Orange, Citron, Genévrier) ;
- les rhizomes (Gingembre, Calamus, Curcuma) ;
- les gommés ou exsudats d'oléorésine (Baumier du Pérou, Baume de Tolu, Styrax, Myrrhe, Benjoin).

Les organes végétaux contenant des huiles essentielles naturelles sont illustrés dans la **figure 7**.

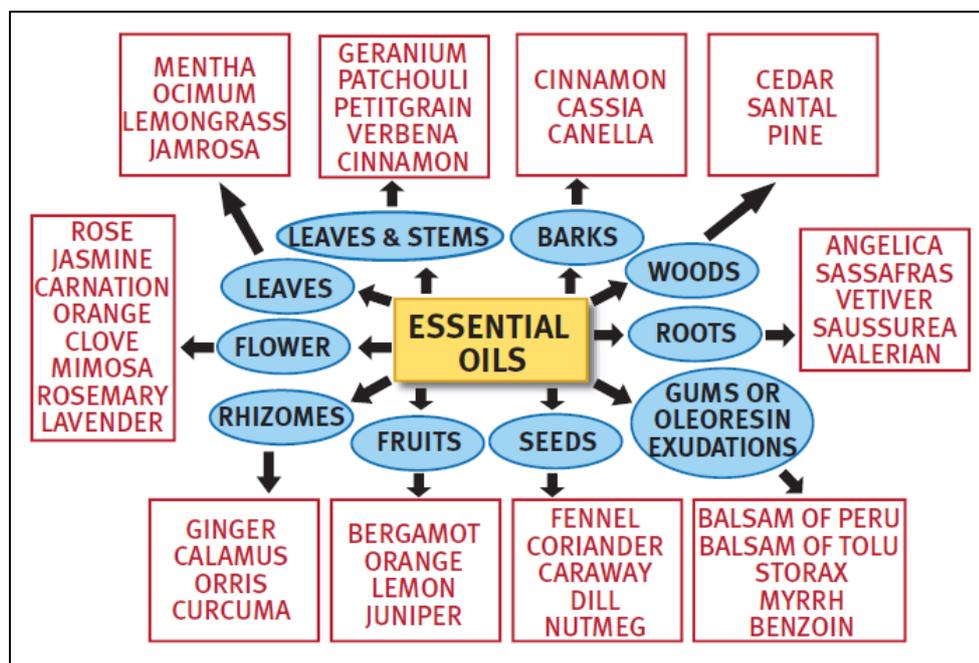


Figure 7 : Organes végétaux contenant les huiles essentielles (Handa, 2008).

II. 3-Composition des huiles essentielles

Les principaux constituants des huiles essentielles sont présentés dans la **figure 8**.

La plupart des huiles essentielles sont constituées d'hydrocarbures, de terpènes, de lactones, de phénols, d'aldéhydes, d'acides, d'alcools, de cétones et d'esters.

Les composés oxygénés (alcools, esters, aldéhydes, cétones, lactones, phénols) sont la principale source d'odeur. Ils sont plus stables contre les influences oxydantes et résinifiâtes que les autres constituants.

Les constituants insaturés tels que les monoterpènes et les sesquiterpènes ont tendance à s'oxyder ou à se résorber en présence d'air et de lumière.

La connaissance des caractéristiques physiques de chacun de ces constituants tels que le point d'ébullition, la stabilité thermique et la relation vapeur-pression-température constitue une importance primordiale dans leur développement technologique.

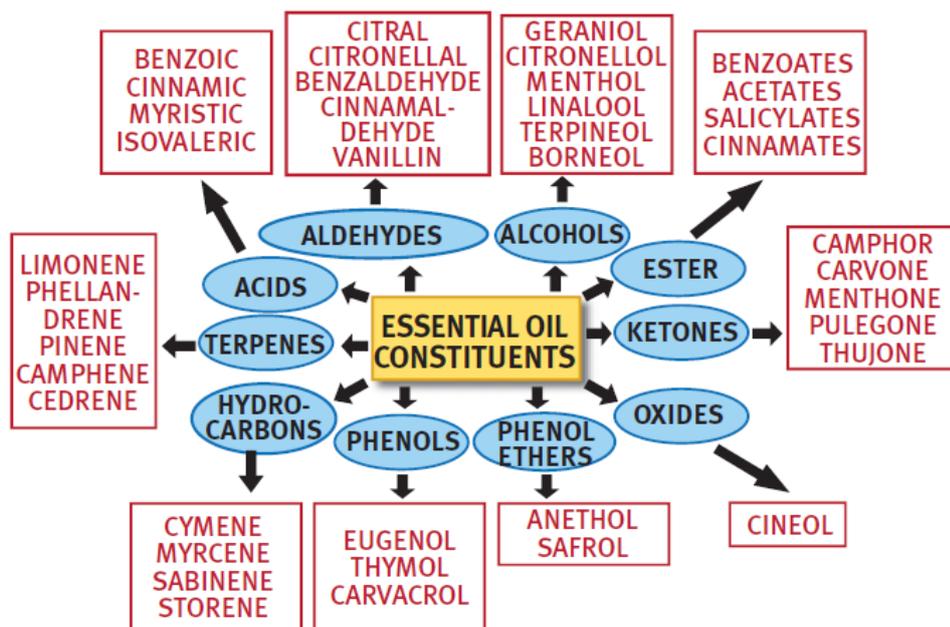


Figure 8 : Groupes chimiques hétérogènes présents dans l'huile essentielle (Handa, 2008).

II. 4- Méthodes de production des huiles essentielles

Les méthodes de production des huiles essentielles à partir de matières végétales sont résumées dans la figure 9.

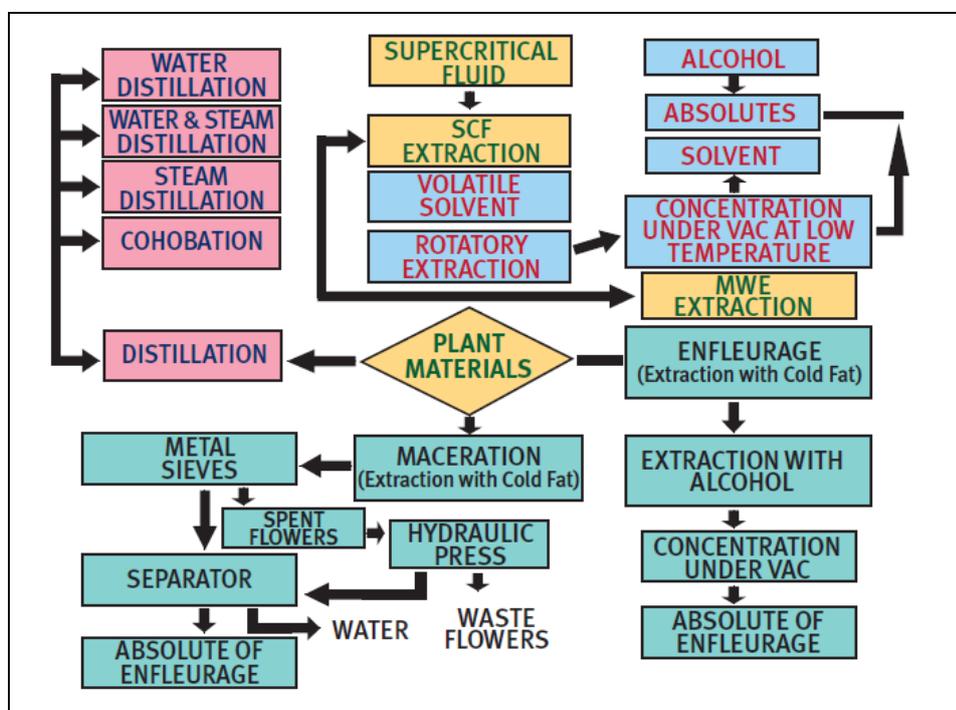


Figure 9 : Méthodes de production des huiles essentielles à partir de matières végétales (Handa, 2008).

Trois types de distillation ont été utilisés pour l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes (Kone, 2001 ; Handa, 2008 ; Ranjitha and Vijiyalakshmi, 2014) :

- i. La distillation à l'eau et à la vapeur ou «Water Distillation» : Le matériel végétal à traiter est séparé de l'eau bouillante qui se trouve au fond de l'appareil utilisé (figure 10). Le mélange vapeur huile essentielle est ensuite récupéré par condensation.

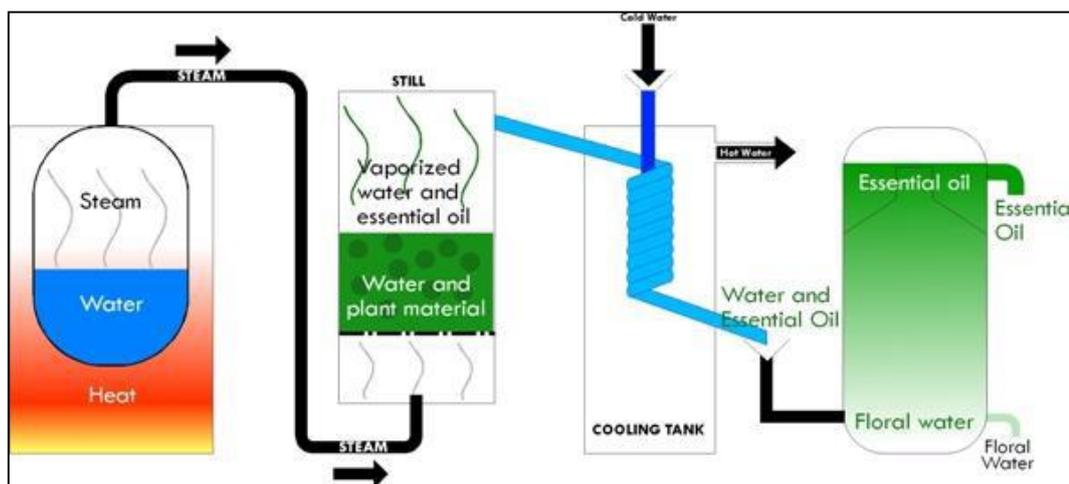


Figure 10 : Unité de distillation à l'eau et à la vapeur (Ranjitha and Vijiyalakshmi, 2014).

- ii. Distillation à la vapeur d'eau ou «Steam Distillation» : Le procédé d'extraction est basé sur l'utilisation de la vapeur générée dans un réacteur séparé.
- iii. Hydrodistillation : Le matériel végétal à traiter est entièrement immergé dans l'eau, qui est ensuite portée à ébullition (figure 11). La vapeur d'eau en s'échappant emporte avec elle l'huile essentielle recherchée.

L'hydrodistillation implique les principaux processus physico-chimiques suivants :

- **Hydrodiffusion** : la diffusion des huiles essentielles et de l'eau chaude à travers les membranes des plantes.

Les membranes des cellules végétales sont presque imperméables aux huiles volatiles. Mais, lorsque le matériel végétal est imbibé d'eau bouillante, une partie de l'huile volatile se dissout dans l'eau présente à l'intérieur des glandes sécrétrices, et cette solution huile-eau pénètre par osmose dans les membranes gonflées et finit par atteindre la surface extérieure, où l'huile est vaporisée par passage de vapeur.

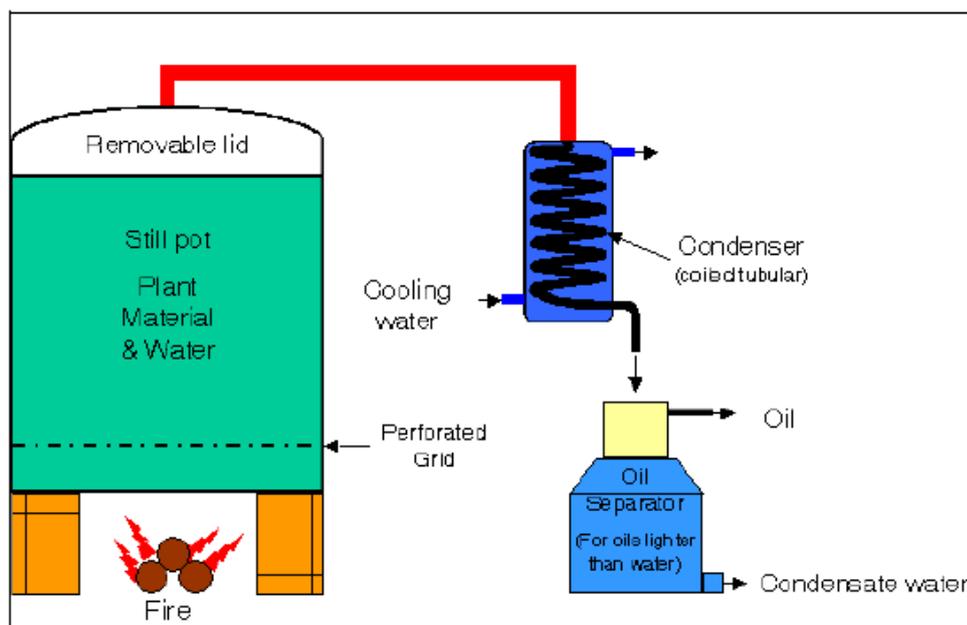


Figure 11: Unité d'hydrodistillation (Ranjitha and Vijiyalakshmi, 2014).

- **Hydrolyse** : réaction chimique entre l'eau et certains constituants d'huiles essentielles. Si la quantité d'eau est grande, elle diminue le rendement en huile essentielle.
- **Décomposition par la chaleur** : Presque tous les constituants des huiles essentielles sont instables à haute température. Pour obtenir une meilleure qualité d'huile, la distillation doit être effectuée à basse température.

II. 5- Utilisation des huiles essentielles

L'utilisation des huiles essentielles est extrêmement diversifiée et dépend étroitement de la source, de la qualité et de la procédure d'extraction de ces composés (Ríos, 2016 in « Preedy, 2016 »).

En générale, les huiles essentielles sont utilisées dans les domaines suivants :

- 1) Produits cosmétiques.
- 2) Médecine et produits pharmaceutiques.
- 3) Dans l'industrie agroalimentaire.
- 4) Comme pesticides.

Tous les produits agroalimentaires contiennent des microorganismes. Certains ne présentent aucun risque pour les consommateurs, mais d'autres sont pathogènes et peuvent se développer suite à une mauvaise conservation ou après dépassement de la date limite de conservation (BORGES, 2014).

Jusqu'à 30 % des personnes dans les pays industrialisés souffrent chaque année d'une maladie d'origine alimentaire et en 2005, au moins 1,8 millions de personnes sont mortes de maladies diarrhéiques dans le monde. Une grande partie de ces cas peut être attribuée à la contamination de la nourriture et de l'eau potable (**WHO, 2007**).

Selon la même référence, les principales maladies d'origine alimentaire dues aux micro-organismes suivants : Les salmonelles (*Salmonella*), la bactérie *Campylobacter* (Gram négatif), *Escherichia coli* O157 entérohémorragique (EHEC) et la bactérie *Vibrio cholerae*.

Des études in vitro ont démontré une activité antibactérienne des huiles essentielles (HEs) contre *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157 : H7, *Shigelladysenteria*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* à des niveaux entre 0,2 et 10 µl/ml (**Burt, 2004**).

Des études sur des viandes fraîches, des produits à base de viande, du poisson, du lait, des produits laitiers, des légumes, des fruits et du riz cuit ont montré que la concentration nécessaire pour obtenir un effet antibactérien significatif est d'environ 0,5 à 20 µl dans les aliments et environ 0,1-10 µl/ml dans des solutions pour le lavage des fruits et légumes (**Burt, 2004**).

Les huiles essentielles peuvent se révéler dangereuses pour la santé. Il est donc nécessaire de connaître leur source, leur qualité (non falsifiée, non contaminée par des pesticides) et de respecter scrupuleusement les doses prises et le choix du mode d'administration. (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

II. 6- Huiles essentielles du genre *Pélargonium*

L'huile de géranium « Geranium oil » commerciale est en fait obtenue par hydrodistillation des feuilles de plusieurs espèces de *Pélargonium*, à savoir *Pélargonium graveolens*, *Pélargonium capitatum* et *Pélargonium radula* (**Williams et Harborne, 2002**).

L'huile essentielle des feuilles de *Pélargonium* sont généralement situées dans les trichomes glandulaires des deux côtés de la feuille (**figure 12**). Elle joue, avec d'autres composés, un rôle très important dans la protection de cette plante contre les attaques herbivores ou microbiennes dans l'environnement naturel (**Williams et Harborne, 2002**).

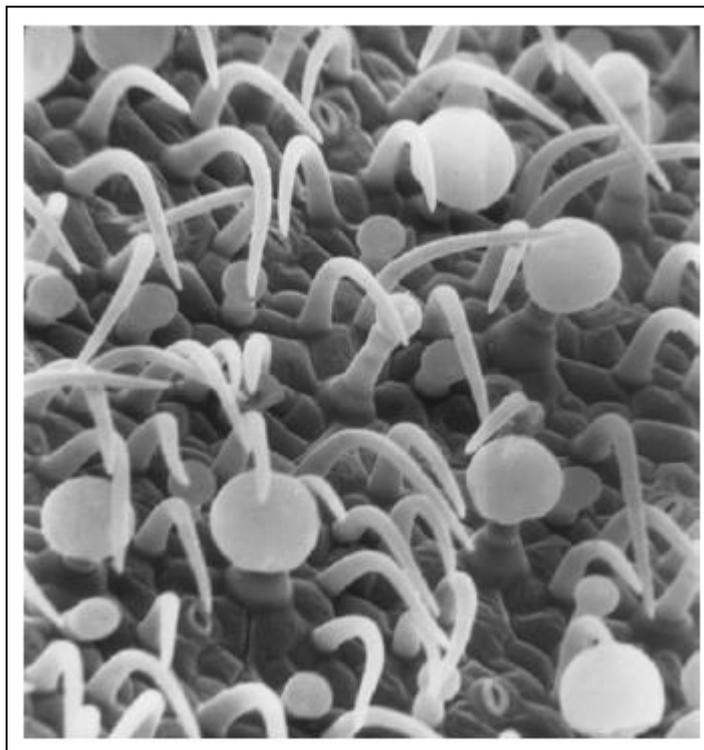


Figure 12 : Les trichomes glandulaires et non glandulaires de *Pélargonium graveolens* (Lis-Balchin, 2002).

La composition chimique des huiles de *Pélargonium* est variée selon les cultivars utilisés, le climat (y compris la lumière du soleil, les précipitations et la température), le moment de la récolte, les engrais appliqués, etc (Lis-Balchin, 2002). Cependant, les composants majeurs sont : Citronellol, géraniol et linalol (Williams et Harborne, 2002 ; Ben Hsouna et Hamdi, 2012 ; Džamić *et al*, 2014 ; Atilia et Djahoudi, 2015).

Les autres terpénoïdes présents dans les huiles de toutes localités sont : l'isomenthone, la menthone, le nérol, les oxydes de rose cis et les oxydes de rose trans, le terpinéol, le pinène, le myrcène et le phellandrène (figure 13).

A titre d'exemple, le **tableau 3** montre la composition chimique de l'huile essentielle de *P. graveolens* récoltée dans la région de Blida (commune de Chiffa). Ce résultat a été obtenu par la technique dite chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie.

Les espèces de *Pélargonium* sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle, notamment pour le soulagement des hémorroïdes, de la dysenterie, de l'inflammation et du cancer. Elles sont utilisées également dans l'industrie de parfumerie, dans les domaines de la cosmétique et de l'aromathérapie (Hart et Lis-Balchin, 2002 ; Asgarpanah et Ramezanloo, 2015).

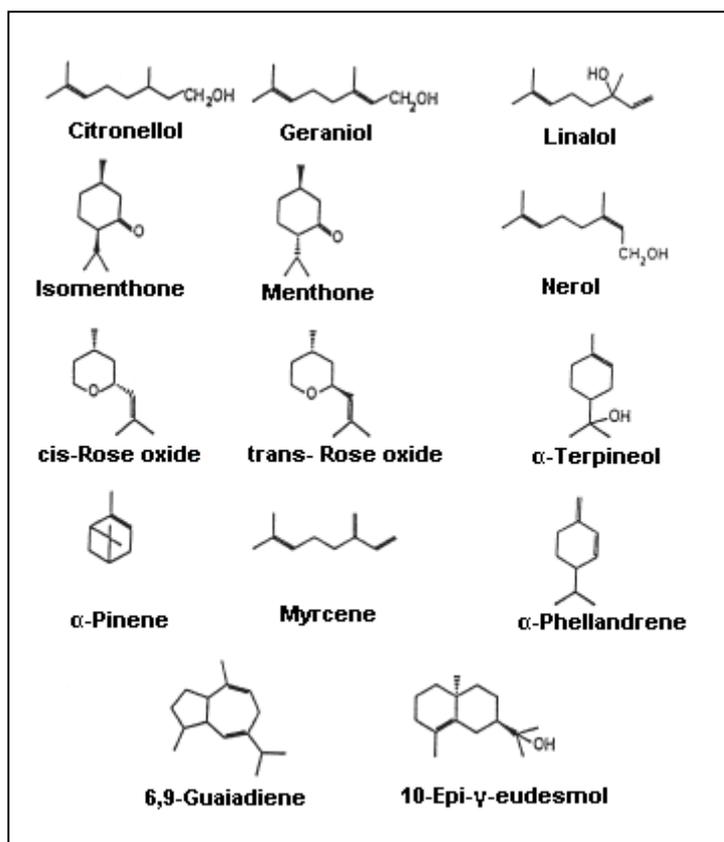


Figure 13 : Quelques simples terpénoïdes trouvés chez les espèces de *Pelargonium* (Williams et Harborne, 2002).

Tableau 3 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens*. (Atailia et Djahoudi, 2015).

Citronellol	19,22	Butyrate de citronellyle	1,68	α -Caryophyllène	0,3
Géranol	14,03	β -Germacrène	1,03	Acétate de citronellyle	0,3
Formiate de citronellyle	10,02	Hexanoate de géranyle	0,97	Tiglate de citronellyle	0,29
10-épi- γ -eudesmol	7,15	γ -Cubébène	0,92	α -Copaène	0,27
Acétate de géranyle	6,45	α -Cadinène	0,9	Cis- β -Ocimène	0,26
Linalol	5,6	β -Cubébène	0,81	Myrcène	0,23
Butyrate de géranyle	4,65	Cis Oxyde de rose	0,74	Limonène	0,2
Longifolène	3,25	Isobutyrate de géranyle	0,73	Guaiadiène-6,9	0,18
Isomenthone	3,08	α -Pinène	0,69	Spathulénol	0,16
β -Bourbonène	2,75	Alloaromadendrène	0,62	Trans- β -Ocimène	0,14
D-Germacrène	2,23	Propionate de citronellyle	0,56	α -Phellandrène	0,06
Formiate de géranyle	2	Menthone	0,39	Cis Oxyde de linalol	0,06
Tiglate de phényléthyle	1,89	Trans Oxyde de rose	0,31	Trans Oxyde de linalol	0,03
β -Caryophyllène	1,71				
Total = 96,86 %					

Les extraits de *Pélagonium* peuvent potentiellement être utilisés comme antioxydants, antimicrobiens, antifongiques et insecticides (Saraswathi *et al*, 2011).

II. 7–Les flavonoïdes

II. 7. 1–Définition des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances naturelles, à structure phénolique variable, présentes dans les fruits, les légumes, les céréales, l'écorce, les racines, les tiges et les fleurs (Panche *et al*, 2016). Ils jouent un rôle très important dans la croissance des plantes, la floraison, la fructification et la défense contre les maladies et les microorganismes.

Les flavonoïdes jouent également un rôle très important dans la santé humaine, ils sont efficaces contre l'inflammation chronique, les maladies allergiques et les maladies coronariennes (Ebadi, 2001 ; Ghedira, 2005).

La figure suivante résume le rôle des flavonoïdes dans les diverses bioactivités, la santé humaine et l'agriculture.

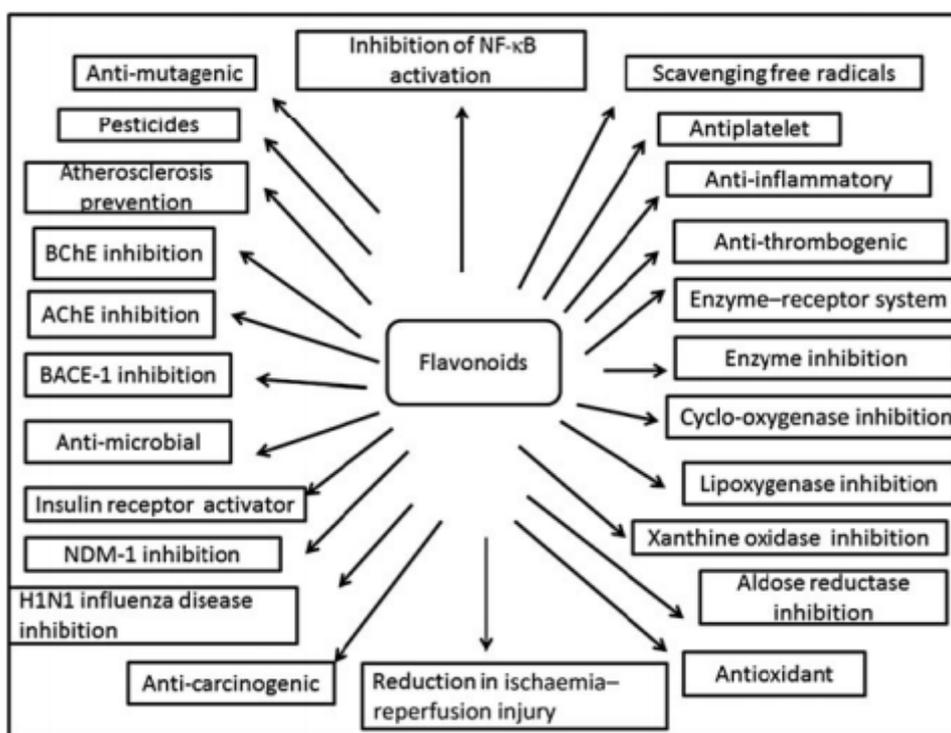
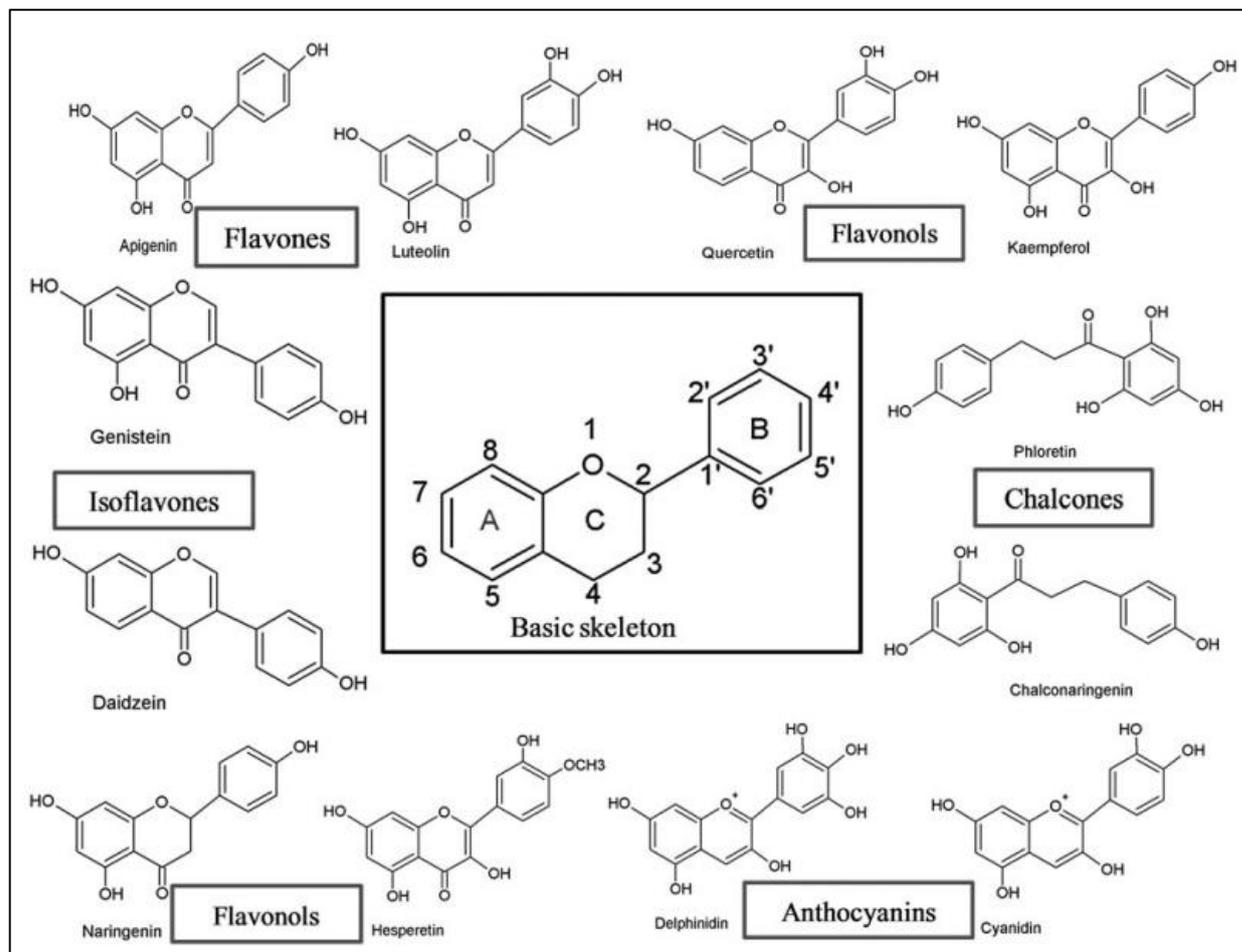


Figure 14 : Rôle des flavonoïdes dans les diverses bioactivités, la santé humaine et l'agriculture. BChE, butyrylcholinestérase ; AChE, acétylcholinestérase ; BACE-1, enzyme de clivage de site actif β -1 ; NDM-1, métallo- β -lactamase-1 de New Delhi ; H1N1, hémagglutinine 1 neuraminidase 1.

(Panche *et al*, 2016)

II. 7. 2–Structure et biosynthèse des flavonoïdes

La structure de base de flavonoïde est le noyau flavane, qui se compose de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles (C6-C3-C6) qui sont nommés cycle A, cycle B et cycle C (Stalikas, 2007). La **figure 15** représente les différentes classes de ces composés.



La **figure 15** : Structure du squelette de base des flavonoïdes et de leurs classes (Panche *et al*, 2016).

La **figure 16** représente les voies de biosynthèse des flavonoïdes.

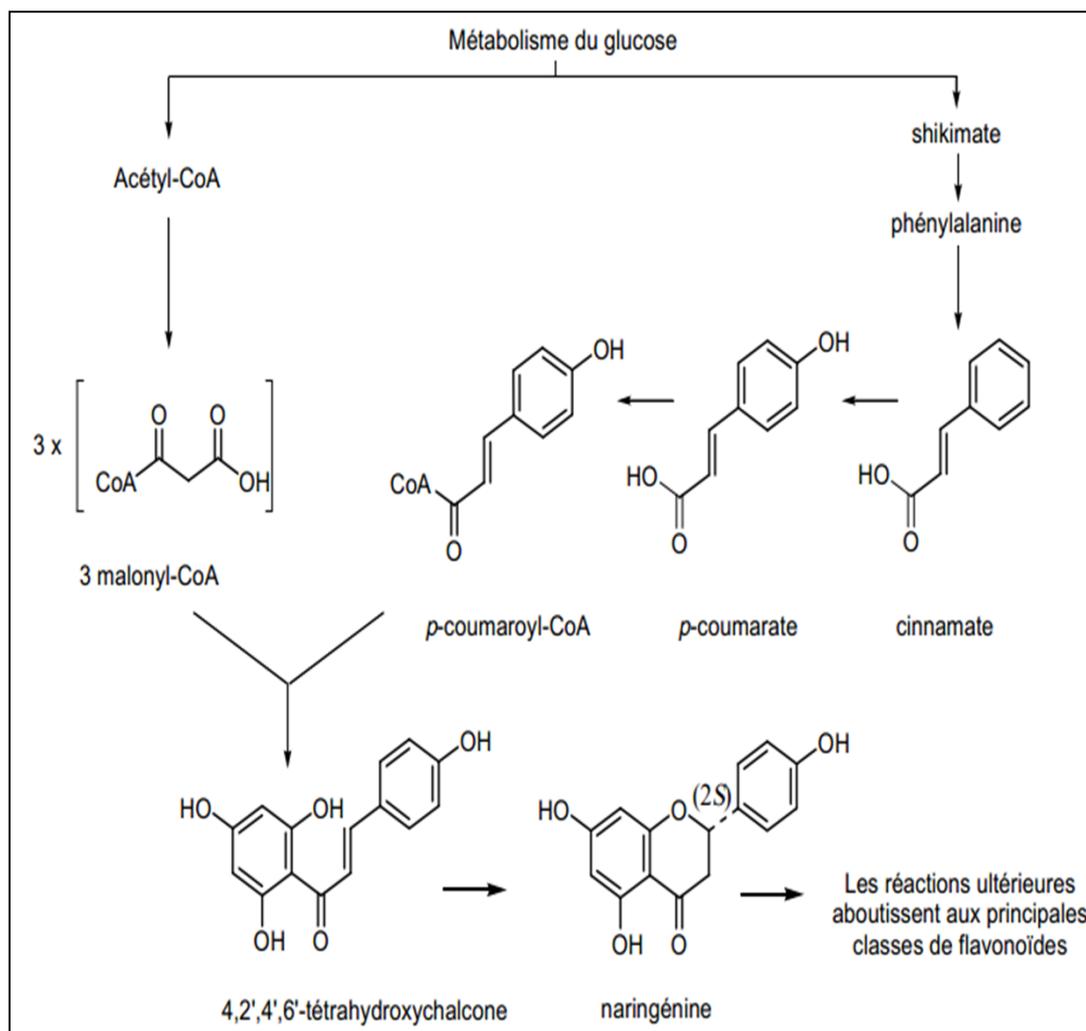


Figure 16 : Voies de la biosynthèse des flavonoïdes (Heller et Forkmann, 1993).

Cycle A = formé par la voie de l'acétyl-CoA à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA).

Cycles B et C = formés par la voie du shikimate à partir de la phénylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p-coumaroyl-CoA.

II. 7. 3-Activité antibactérienne des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une activité antibactérienne très vaste et très diversifiée. En effet, ils s'attaquent à un grand nombre de bactéries avec une intensité différente selon le microorganisme et l'écosystème dans lequel il se trouve : les flavonoïdes sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries : *Staphylococcus aureus* (Babayi et al. 2004), *Escherichia coli* (Ulanowska et al. 2006), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Heliotropium sinuatum*, *Proteus mirabilis* ... etc. (Didrak .1999, Modak 2001, Okigbo et al. 2005).

Chaque composé agit spécifiquement sur un ou plusieurs germes. Exemple : sur plusieurs bactéries testées l'apigénine n'a montré une faible activité que contre *Staphylococcus aureus*, toutes les autres ont été fort sensibles à ce flavonoïde. Au contraire, la galangine n'a donné une activité que sur *Staphylococcus aureus* ; les autres microorganismes se sont avérés résistants contre cette molécule (**Basile et al. 1999, Cushnie et al. 2003, Martini et al. 2004**). Aussi dans certains travaux, il a été cité que les flavonoïdes extraits avec du méthanol 95 % étaient actifs sur certaines bactéries, alors que ceux extraits avec du méthanol 60 % de la même plante ne l'étaient pas, comme c'était le cas des flavonoïdes de *Linum capitatum* contre *Staphylococcus aureus* (**Slavica et al. 2004**).

La diffusion radiale souvent demeure utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne in vitro, même si la mesure par le biais de cette méthode est parfois difficile à cause des zones diffusionnelles (**Ilic et al. 2004**).

Bien que le mécanisme d'action des flavonoïdes sur les microorganismes demeure encore imprécis, certaines études ont commencé à donner un début d'explication de leur activité antibactérienne en citant des exemples bien explicites ; comme celui de la quercétine censée agir sur l'ADN gyrase d'*Escherichia coli* (**Dadi et al. 2009**).

En effet, selon les travaux de Dadi et ses collaborateurs, la quercétine serait capable d'inhiber la gyrase bactérienne par deux mécanismes :

- Elle se fixe sur l'ADN au niveau des sites d'insertion de l'enzyme bloquant ainsi son activité.
- Elle bloque le site de fixation de l'ATP se trouvant sur l'ADN gyrase.

Dans les deux cas l'action du flavonoïde se manifeste par le clivage de l'ADN bactérien, désormais incapable de subir les modifications topologiques nécessaires à son bon fonctionnement.

II. 8- Flavonoïdes du genre *Pélargonium*

En plus de l'huile essentielle, les trichomes des feuilles de *Pélargonium* contiennent d'autres composés chimiques, notamment des flavonoïdes (**Williams et Harborne, 2002**).

La **figure 17** montre les différents flavonoïdes extraits de différentes espèces de ce genre (*Pelargonium*).

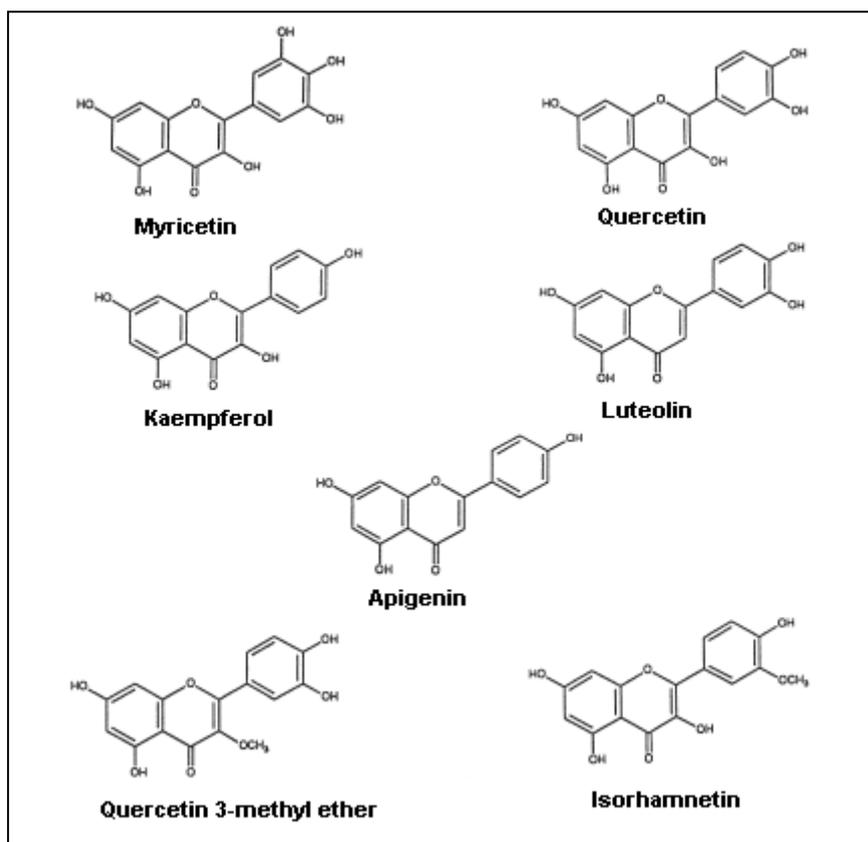


Figure 17 : Flavonoïdes extraits de différentes espèces de *Pélargonium* (Williams et Harborne, 2002).

Ben Hsouna et Hamdi, 2012, ont déterminé les composés phénoliques totaux dans les extraits organiques de *P. graveolens*. Ils ont trouvé que la teneur totale de ces composés est en fonction des polarités des solvants (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Flavonoïdes et composés phénoliques totaux extraits à partir des feuilles de *Pélargonium graveolens*

Extract	Yield (%)	Phenolic content mg GAE/g	Flavonoid content mg QE/g
n-Hexane	5.70	59.50 ± 3.95	11.50 ± 1.95
Ethyl acetate	14.25	144.25 ± 2.75	12.25 ± 3.70
Methanol	17.25	145 ± 4.00	10.90 ± 3.00
Water	21.50	140.75 ± 8.25	21.75 ± 4.70

(mg GAE /g): mg of gallic acid equivalent per g of dry plant extract.
(mg QE/g): mg of quercetin equivalent per g of dry plant extract.

Matériel et méthodes

III. Matériel et méthodes

III. 1- Plan d'expérimentation

Le plan d'expérimentation de cette étude est représenté dans l'organigramme suivant :

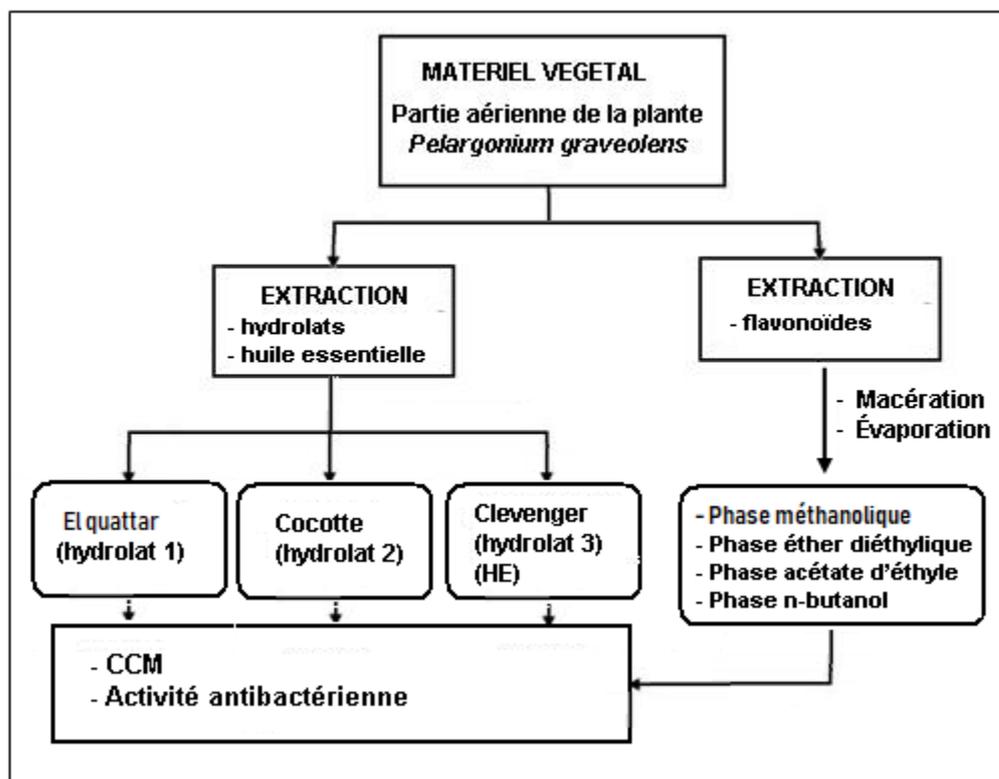


Figure 18 : Plan expérimental.

III. 2- Matériel végétal

Dans cette étude, les échantillons du matériel végétal (*Pelargonium graveolens*) utilisé ont été collectés en mois de mars (2019) auprès d'un jardin de la ville Didouche Mourad (ديدوش مراد), située à quelques kilomètres de la ville de Constantine -Est de l'Algérie (36° 26' 54" Nord, 6° 38' 02" Est).

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne fraîche de la plante géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) (Figure 19).

Une partie du matériel végétal a été placée dans un sachet en plastique et conservée à la température ambiante pendant une nuit avant d'être utilisée.

La seconde partie a été séchée à la température ambiante dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière pendant 22 jours.



Figure 19 : La plante géranium rosat (*Pélargonium graveolens*)
(Jardin de la ville Didouche Mourad)

III. 3- Souches bactériennes et réactifs

III. 3. 1- Souches bactériennes

Les microorganismes utilisés dans ce travail sont généralement deux bactéries (Gram+ et Gram-).

Gram positif : *Staphylococcus sp*

Gram négatif : *Escherichia coli*

Les deux bactéries sont pathogènes et sont connues pour leur forte antibiorésistance et leur pouvoir invasif et toxique chez l'homme (**Bencheqroun et al., 2012**).

Ces deux souches bactériennes ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université frères Mentouri – Constantine 1.

III. 3. 2- Produits et réactifs chimiques

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont : Ethanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) ; Sulfate de Sodium (Na_2SO_4) ; Vanilline ($\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$) ; Hexane (C_6H_{14}) ; Méthanol (CH_3OH) ; Ether de pétrole ($\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CH}_3$) ; Ether diéthylique ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$) ; Acétate d'éthyle ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) ; n-

butanol ($C_4H_{10}O$) ; Toluène (C_7H_8) ; Acétate diéthylique ; Acétone (C_3H_6O) ; Chloroforme ($CHCl_3$) ; Acide sulfurique (H_2SO_4)

III. 4- Extraction d'huile essentielle et d'hydrolat par Clevenger

Les huiles essentielles ont été extraites à partir des feuilles de la plante *Pélagonium graveolens* selon la méthode décrite par **Demarne, 1989** et **Lalli, 2005**.

III. 4. 1-Hydrodistillation

Cette manipulation a été effectuée à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation Clevenger (**figure 20**).

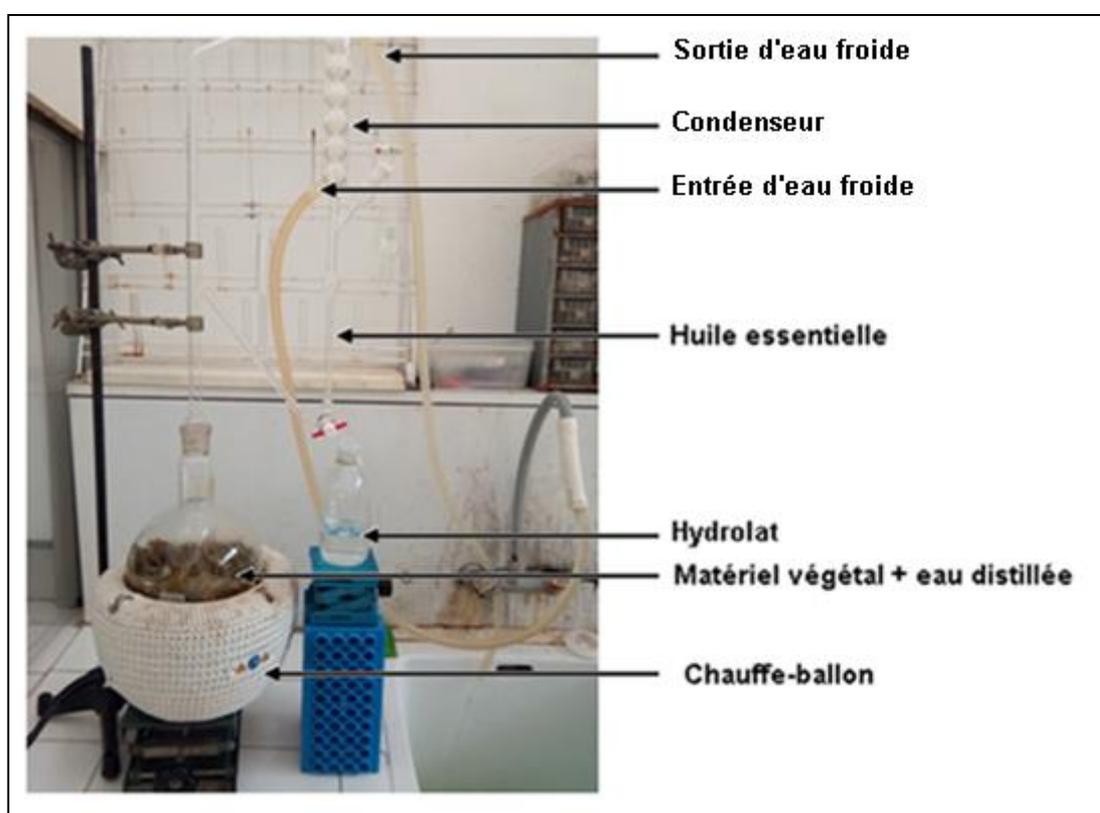


Figure 20 : Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger.

Le principe de fonctionnement du Clevenger est basé sur l'extraction des huiles essentielles sous l'effet de l'eau chaude. Cette dernière provoque la libération des molécules volatiles (HE) qui s'évaporent et se condensent ensuite à travers un réfrigérant. Le mode d'emploi de cet appareil est le suivant :

- Placer 100g des feuilles fraîches de la plante dans le ballon à fond rond de 2L ;
- Imprégner ces feuilles dans 1000 ml eau distillée ;

- Ouvrir le robinet d'eau froide reliait au réfrigérant ;
- Faire bouillir doucement le mélange matière végétale et eau distillée ;

- mettre le trait blanc sur 1
- ensuite sur 3, quand l'eau va commencer à bouillir



Transformateur électrique

- La vapeur remonte dans une colonne et par la suite dirigée vers le condensateur ;
- Le dispositif de condensation réalise la cohabitation des eaux de distillation, et permet la séparation et la récupération aisée de l'huile essentielle.
- Deux phases sont récupérées, une inférieure aqueuse et l'autre supérieure organique contenant l'huile essentielle.

III. 4. 2-Récupération d'huile essentielle et d'hydrolat

- Afin de récupérer l'huile essentielle de manière significative, ajouter 1,4 ml du solvant hexane directement à la phase organique (huile essentielle) dans le dispositif de hydrodistillation ;
- Récupérer l'hydrolat dans un flacon de 250 ml et ensuite l'huile essentielle avec environ 9 ml d'hydrolat dans un tube à essai ;
- Conserver l'hydrolat à 4 °C ;
- Conserver le tube à essai contenant l'huile essentielle et l'hydrolat à la température ambiante pendant une nuit, l'huile (insoluble dans l'eau) flotte à la surface de l'hydrolat sous forme d'une phase organique fine ;
- A l'aide d'une micropipette de 1 ml, récupérer soigneusement la phase organique (huile essentielle et hexane) dans un petit flacon en verre ;
- Conserver ce mélange à l'abri de la lumière et à 4 °C.

III. 5- Extraction d'hydrolat par un alambic traditionnel (El Qattar)

La **figure 21** montre les différentes parties de cet appareil traditionnel.

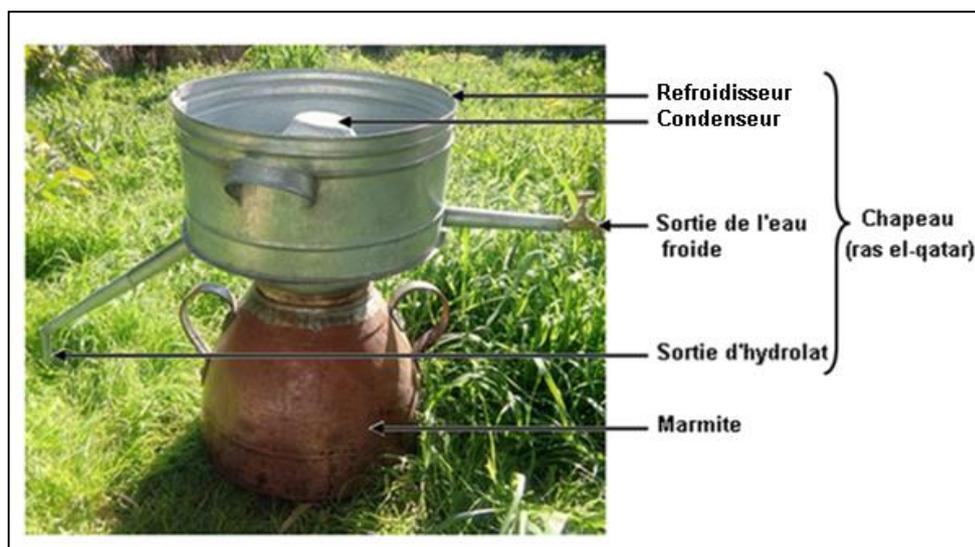


Figure 21 : Hydrodistillation par alambic traditionnel (El Qattar).

Le principe de fonctionnement de l'alambic traditionnel est le même de celui de l'appareil Clevenger ; chauffage, évaporation et condensation (hydrolat). Seulement, il n'y a pas de processus de cohobation des eaux de distillation.

III. 6- Extraction d'hydrolat par une cocotte

La **figure 22** montre les différentes parties de ce dispositif d'hydrodistillation.

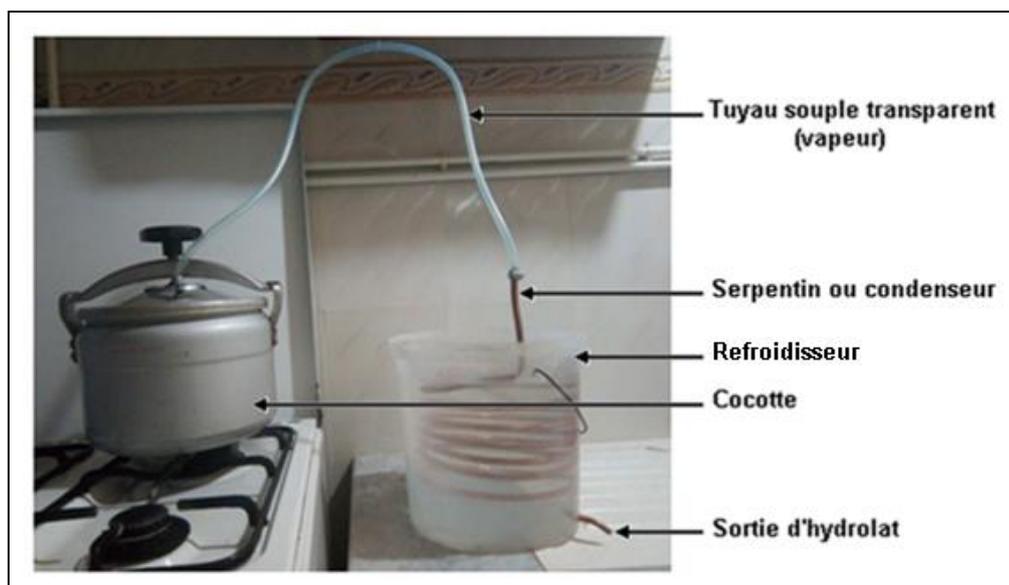


Figure 22 : Hydrodistillation par cocotte.

Le principe de fonctionnement de ce dispositif d'hydrodistillation est le même de celui de l'appareil traditionnel (El Qattar).

III. 7- Augmentation de la concentration d'hydrolat par extraction liquide-liquide

Afin de pouvoir analyser les échantillons des hydrolats obtenus (CCM et activité antibactérienne), nous avons augmenté leurs concentrations par la méthode d'extraction liquide-liquide.

Le protocole de cette méthode est le suivant :

- Ajouter 50 ml de l'hydrolat aux 5 ml d'hexane (10 :1 ; V/V) ;
- Bien agiter pendant au moins 30 minutes et laisser reposer le mélange jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique ou hexane (coté supérieur) et une phase aqueuse (coté inférieur) ;
- Répéter la procédure pour la deuxième fois ;
- Recueillir la phase organique dans un petit erlenmeyer ;
- Afin d'éliminer toute trace d'eau, introduire une spatule de sulfate de sodium anhydre directement dans la phase organique ;
- Agiter manuellement avec des mouvements circulaires. Si les cristaux ont tendance à s'agglomérer et à coller aux parois, il faut ajouter une nouvelle spatule et recommencer l'agitation. Il ne reste plus d'eau lorsque les particules de sel restent en suspension ;
- Filtrer la phase organique sèche obtenue sur un papier filtre (Whatman N° 1) dans un petit flacon en verre sec pour éliminer le sulfate de sodium partiellement hydraté.
- Conserver la phase organique sèche à 4 °C.

III. 8- Extraction des flavonoïdes

III. 8- 1- Macération dans le méthanol aqueux (extraction solide/liquide)

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat de la *P. graveolens*) dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes).

Le protocole de la macération de cette plante est le suivant :

- Peser 16 gramme de la matière végétale ;
- Chauffer le méthanol aqueux (70:30) dans un bécher de 500 ml jusqu'à ébullition ;
- Mettre la matière végétale (16g) sur le méthanol aqueux bouillant (70:30) ;
- Agiter de temps en temps jusqu'à parfaite refroidissement ;
- Laisser macérer pendant 24 h, ensuite filtrer sur un papier filtre Whatman (N° :1) ;
- Récupérer le filtrat dans un flacon ;
- Répéter la procédure trois fois (fraction retenue par le filtre dans 330 ml méthanol aqueux bouillant) ;
- Les trois filtrats de chaque temps d'extraction sont placés dans un seul récipient.

III. 8- 2- Évaporation

Le filtra obtenu a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif, ou rotavap qui permet à éliminer le solvant sous vide.

Le protocole d'évaporation est le suivant :

- Peser le ballon d'évaporation vide ;
- Placer le macéra dans le ballon d'évaporation ;
- Procéder à l'évaporation jusqu'à disparition complète du solvant (Solution 1 ($T^{\circ} = 45^{\circ}\text{C}$ et vitesse de rotation = 3), Solution 2 et 3 ($T^{\circ} = 65^{\circ}\text{C}$ et vitesse de rotation = 27) ;
- Retirer le ballon du rotavap et attendre qu'il soit froid ;
- Peser le ballon afin de calculer le rendement d'extraction ;
- Recueillir l'extrait dans l'eau chaude (100 ml) (l'intérêt de l'utilisation de l'eau distillée bouillante c'est pour assurer la récupération des composés restés accolés à la paroi du ballon d'évaporation) ;
- Ajouter 100 ml d'eau distillée en plusieurs quantités ;
- Laisser le tout à décanter pendant 24 h à température ambiante ;
- Sur un papier filtre Wathman N°1, filtrer l'extrait aqueux (résidu + eau) pour éliminer les boues (graisse et résine).

III. 8- 3- Détermination du rendement

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation) (Mohammedi, 2006).

$$R\% = \frac{\text{Masse d'extrait sec}}{\text{Masse de la matière végétale}} \times 100$$

III. 8- 4- Affrontement par l'éther de pétrole

Avant l'extraction des différents flavonoïdes, la phase aqueuse obtenue après évaporation a été débarrassées des cires, des lipides et de la chlorophylle par trois lavages successifs avec l'éther de pétrole (Kebièche *et al*, 2011) (élimine tous les composés non phénolique : les caroténoïdes et les pigments chlorophylliens, les graisses).

Le protocole de cette manipulation est le suivant :

- Ajouter 1/3 volume d'éther de pétrole au volume de filtrat obtenu (v/v) ;
- Bien agiter et laisser reposer le mélange, aux moins 20 minutes jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique ou éther de pétrole (coté supérieur) et une phase aqueuse (coté inférieur) ;
- Récupérer la phase organique dans un récipient en verre ;
- Répéter la procédure trois fois ;
- La phase éther de pétrole est rejetée.

III. 8. 5-Extraction des différent types de flavonoïdes

50 ml de la phase aqueuse, obtenue après affrontement par l'éther de pétrole, ont été évaporé par rotavap et l'extrait sec a été récupérer dans 6 ml de méthanol et conserver à 4°C.

Le reste de cette solution aqueuse (50 ml) a été utilisée pour l'extraction des différents types de flavonoïdes : Affrontement par l'éther diéthylique, affrontement par l'acétate d'éthyle et affrontement par le n-butanol.

III. 8. 5. 1- Affrontement par l'éther diéthylique

Cette phase a été réalisée avec l'éther diéthylique qui permet d'extraire les aglycones (composés simples tels que les acides phénols et les flavonoïdes).

Dans ce cas, le mode opératoire de cette phase est comme suit :

- Ajouter 50 ml de la solution (v/v) aux 1/3 ml d'éther diéthylique ;
- Bien agiter et laisser reposer le mélange au moins 20 minutes jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique ou éther diéthylique (coté supérieur) et une phase aqueuse (coté inférieur) ;
- Répéter la procédure trois fois ;
- Évaporer la phase organique obtenue ($T^{\circ}=35^{\circ}\text{C}$, $R=3$) ;
- Recueillir l'extrait par 6 ml de méthanol.

III. 8. 5. 2- Affrontement par l'acétate d'éthyle

Cette phase a été réalisée par l'acétate d'éthyle. Elle a été effectuée selon le même protocole précédent.

Dans ce cas la phase aqueuse utilisée est celle qui a été obtenue à partir de la phase éther diéthylique et la phase organique obtenue a été évaporé au rotavap ($T^{\circ}=40^{\circ}\text{C}$, $R=3$).

Nous rappelons que cette phase permet d'extraire les monoglycosides et partiellement les diglycosides.

III. 8. 5. 3- Affrontement par le n-butanol

Cette manipulation a été effectuée selon le même protocole précédent. La phase aqueuse utilisée est celle qui a été obtenue à partir de la phase d'acétate d'éthyle et la phase organique a été évaporé également au rotavap ($T^{\circ}=45^{\circ}\text{C}$, $R=3$).

Cette phase permet d'extraire le reste de di-glycoside et le tri-glycoside.

Enfin, l'extrait sec de chaque phase a été conservé dans 6 ml de méthanol jusqu'à son utilisation (activité antibactérienne et CCM).

III. 9- Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une méthode biochimique très utilisée en biologie notamment dans la séparation 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.

La chromatographie sur couche mince repose sur des phénomènes d'adsorption et la répartition sélective des constituants, dans ce cas est en fonction :

- de la nature de la phase mobile,
- de la nature de la phase stationnaire,
- des propriétés physico-chimiques des constituants à séparer.

Dans ce travail, la CCM a été utilisée pour la séparation et la mise en évidence des composés de l'huile essentielle, de l'hydrolat et des flavonoïdes obtenus.

III. 9. 1- Les principaux éléments du CCM

Cuve à chromatographie : Un b cher de 1 litre recouvert de papier d'aluminium.

Phase mobile ( luant ou système solvant) :

a) **Huile essentielle et hydrolats :** Toluène : Acétate diéthylique (9,3 :0,7) ;

b) **Flavono ides :**

Extrait	Système solvant (v : v : v)
Phase aqueuse	AcOET /MeOH/H ₂ O (7 : 2.7 : 0.3)
Phase éther diéthylique	CHCl ₃ /Acétone (9.5 : 0.5)
Phase acétate d'éthyle	CHCl ₃ / MeOH (9 : 1)
Phase n-butanol	CHCl ₃ / MeOH/H ₂ O (6.5 : 3.2 : 0.3)

Phase stationnaire : Le plus utilisé est le gel de silice, c' st une couche d'environ 0,25 mm fixée sur une plaque d'aluminium.

Echantillons :

- 1) **H 1** (hydrolat El qattar), **H 2** (hydrolat Cocotte), **H 3** (hydrolat Clevenger), **HE** (huile essentielle Clevenger).
- 2) **PH** (Phase aqueuse), **EX1** (phase éther diéthylique), **EX2** (phase acétate d'éthyle), **EX3** (phase n-butanol).

Révélateurs :

- 1) **Huile essentielles et hydrolats :** Révélation chimique : Solution de la vanilline sulfurique + chaleur. Cette solution est préparée comme suit :

Solution 1 : 1 g de vanilline a été dissoute dans 100 ml d'éthanol absolu.

Solution 2 : 10 ml d'acide sulfurique ont été ajoutés à 90 ml d'éthanol absolu.

2) Flavonoïdes :

- Révélation à UV (254 nm) ;
- Révélation chimique : Solution acide sulfurique (50 ml acide sulfurique : 50 ml eau distillée) + chaleur.

III. 9. 2- Développement du Chromatogramme

Le protocole de cette manipulation est le suivant :

- Introduire le système solvant choisi dans la cuve à chromatographie (bêcher de 1 litre) ;
- Fermer la cuve (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant) ;
- Tracer la ligne de dépôt à environ 1,5 cm du bord de la plaque ;
- A l'aide d'une micropipette, déposer 1 goutte de chaque échantillon. Effectuer plusieurs dépôts (3 à 5 gouttes) au même point, en laissant l'évaporation d'hexane après chaque dépôt ;
- Placer la plaque dans la cuve à chromatographie contenant le système solvant ;
- Recouvrir la cuve et suivre le développement du chromatogramme ;
- Arrêter la chromatographie, lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1 cm de l'extrémité supérieure ;
- Sécher le chromatogramme dans l'étuve à 110 °C.

III. 9. 3- Révélation et calcul du rapport frontal (R_f)

Huile essentielle et hydrolats : Après séchage, les plaques ont été pulvérisées par 10 ml de solution I, suivis immédiatement de 10 ml de solution II. Les plaques ont été ensuite placées dans l'étuve à 110 °C pendant 5-10 minutes sous observation.

Flavonoïdes : Les plaques ont été pulvérisées par la solution acide sulfurique et placées dans l'étuve à 110 °C jusqu'à l'apparition des taches.

Les positions des taches (spots) colorées doivent être notées en les cerclant juste à la fin de la manipulation, car certains produits disparaissent avec le temps.

Enfin calculer le rapport frontal (R_f) pour chaque spot par la relation suivante :

$$R_f = \frac{\text{distance parcourue par le constituant}}{\text{distance parcourue par l'éluant}}$$

III. 10- Activité antibactérienne

Le but de cette manipulation est d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits obtenus (huile essentielle, hydrolat et flavonoïdes) à partir de la partie aérienne de la plante étudiée (*Pélagonium graveolens*), vis-à-vis des germes pathogènes contaminant les denrées alimentaires et responsables de certaines infections.

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Athamena, 2009 ; Bassolé *et al.*, 2011).

Le principe de cette méthode est comme suit :

La souche bactérienne utilisée est étalée sur la surface d'une boîte de pétri contenant le milieu gélosé adéquat, par la suite le disque de papier filtre « Whatman N° 1 » imbibé d'huile essentielle testé est déposé sur la surface de cette boîte de pétri. Après la période d'incubation à l'étuve, la zone d'inhibition de croissance apparaît autour de disque est mesurée à l'aide d'une règle graduée. Le diamètre de la zone est proportionnel à l'efficacité antibactérienne de l'extrait testé. Cette manipulation comporte plusieurs étapes :

a) Préparation d'inoculum

L'inoculum de chaque bactérie (*Escherichia coli* et *Staphylococcus sp*) a été préparé par le laboratoire de microbiologie (RDC). Faculté SNV. Université Constantine 1.

b) Préparation des disques

- Préparer les disques de papier filtre de 6 mm de diamètre (Whatman N° 1),
- Stériliser les disques à l'autoclave, à 120°C pendant 20 minutes.

c) Test d'activité antibactérienne

- Mettre la gélose nutritive au bain-marie (100°C) ; une fois fondue la maintenir dans l'étuve jusqu'à ce que la température atteigne environ 45 ° C,
- Couler dans les boîtes de pétri une quantité de gélose nutritive équivalente à 18 ml ;
- Laisser les boîtes entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification (15minute),
- Ouvrir le tube contenant l'inoculum devant le bec bunsen et étaler les bactéries sur toute la surface de la gélose à l'aide d'une tige cotonnée stérile ;
- Déposer les disques sur la surface de gélose (Trois disques par boîte) (**figure 23**) ;

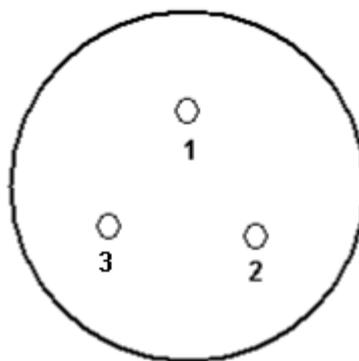


Figure 23 : Ensemencement et dépôt des disques imprégnés d'HE obtenue

- 1 = disque imprégné de témoin (hexane ou méthanol)
- 2 = disque imprégné d'échantillon
- 3 = disque imprégné d'échantillon (2^{ème} répétition)

- Placer les boîtes de pétri à basse température (+4°C) pendant 15 à 30 min afin de permettre aux extraits de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier ;
- Retirer les boîtes du réfrigérateur et les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendant 24 h. Les boîtes doivent être placées couvercle en bas.

d) Lecture des résultats

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.

Résultats et discussion

IV. 1- Extraction d'huile essentielle et d'hydrolat

IV. 1. 1- Extraction d'huile essentielle par Clevenger

Nous rappelons que l'huile essentielle a été extraite à partir de la partie aérienne fraîche de la plante géranium rosat (*Pelargonium graveolens*), à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger.

La séparation de cette huile est normalement effectuée par la technique de décantation, c'est-à-dire la séparation sous l'effet de la gravitation de deux phases non-miscibles dont l'une forme la phase supérieure ou organique contenant l'huile à séparer.

Dans ce travail la petite quantité d'huile obtenue (**figure 24**) ne permet pas de la séparer par décantation. Afin de la récupérer de manière significative, 1 ml du solvant hexane a été ajouté directement à la phase organique (huile essentielle) dans le dispositif d'hydrodistillation. La couche organique formée a été récupérée avec environ 9 ml d'hydrolat dans un tube à essai. Afin de récupérer toute la quantité d'huile obtenue, la paroi du tube de Clevenger a été rincée par 0,4 ml du solvant hexane, ce dernier a été ajouté au même tube à essai.

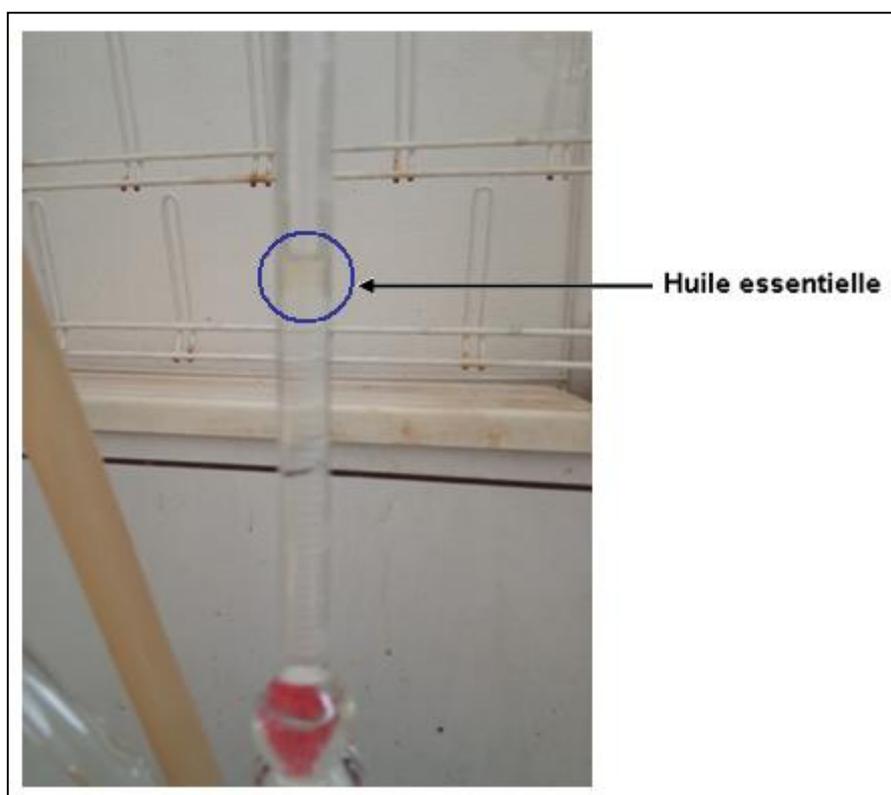


Figure 24 : Phase supérieure organique contenant l'huile essentielle.

La couche organique obtenue (huile + hexane) a été ensuite récupérée à l'aide d'une micropipette et conservée à 4 °C.

BOUKHATEM *et al*, 2010, ont également utilisé un autre solvant (éther diéthylique) pour la séparation d'huile essentielle de cette plante d'une manière significative. Ils ont récupéré une quantité aussi importante (0,25%) par rapport à une simple décantation (0,2%).

L'huile essentielle obtenue est de couleur jaune (**figure 24**) avec une odeur tend vers celui de la rose.

Selon l'organisation internationale de normalisation (**ISO 4731 :2006 E**), la couleur de cette huile est jaune ambre à jaune verdâtre. L'odeur est comme une rose avec une note de menthe variable.

IV. 1. 2- Extraction d'hydrolat

Le processus d'hydrodistillation de la matière végétale aromatique donne l'huile essentielle en tant que produit principal (huile primaire ou huile essentielle) et l'eau distillée, également appelée hydrosol (hydrolat) en tant que sous-produit (**Verma *et al*, 2012**).

La partie légèrement hydrophile de l'huile essentielle, qui passe dans la phase aqueuse pendant le processus de distillation, donne un arôme agréable à l'hydrolat résultant (**Verma *et al*, 2012**).

Dans cette étude, trois hydrolats ont été récupérés : Hydrolat 1 (H1) par un alambic traditionnel (El Qattar), hydrolat 2 (H2) par une cocotte et hydrolat 3 (H3) par Clevenger. Dans le cas de Clevenger l'hydrolat a été récupéré à la fin de processus d'hydrodistillation (après environ 3 h 30 min), exactement après l'arrêt de la cohobation.

Les trois hydrolats obtenus ont les mêmes caractéristiques organoleptiques, notamment la couleur blanchâtre et l'odeur aromatique caractéristique.

IV. 2- Mise en évidence des composés de l'huile essentielle et de l'hydrolat

L'analyse qualitative après CCM, révélation chimique, a permis de mettre en évidence de 6 taches (spots) dans le cas huile essentielle et 3 taches dans le cas H3 (hydrolat, Clevenger). Ces taches sont colorées surtout en bleu, violet et rose (**figure 25** et **Tableau 5**).

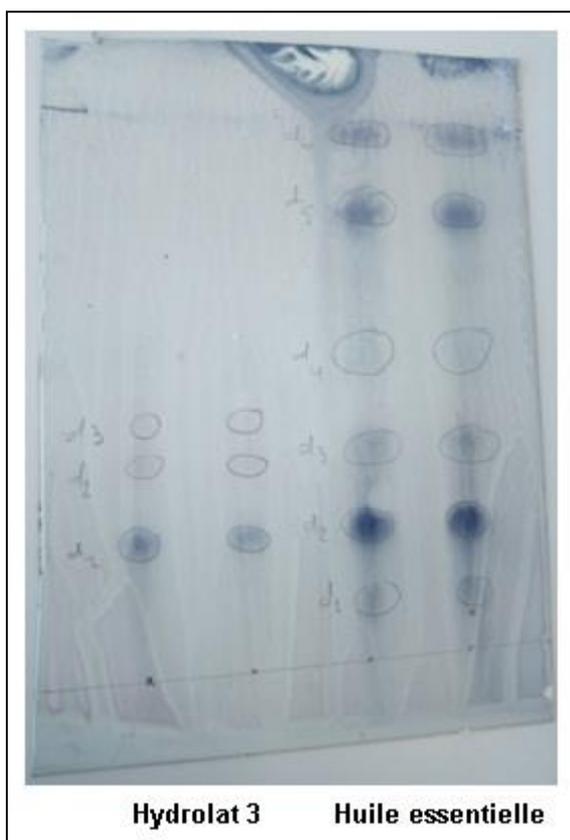


Figure 25 : Chromatogramme CCM analytique de l'huile essentielle et hydrolat 3 de *Pélagonium graveolens*

Tableau 5 : Mise en évidence des composés d'huile essentielle et d'hydrolat de *Pélagonium graveolens* (Résultat de la CCM)

Extrait	Spot	Rf	couleur
Hydrolat 1	1	0,18	Bleu foncé
	2	0,3	Violet
	3	0,38	Rose
Hydrolat 2	1	0,18	Bleu foncé
	2	0,29	Violet
	3	0,37	Rose
Hydrolat 3	1	0,18	Bleu foncé
	2	0,27	Violet
	3	0,35	Rose

Tableau 5 : (Suite...)

Huile essentielle	1	0,18	Bleu
	2	0,31	bleu foncé
	3	0,46	Violet
	4	0,73	bleu Clair
	5	0,96	Bleu
	6	0,98	Violet

Hydrolat1= El Qattar ; Hydrolat2= Cocotte ; Hydrolat3= Clevenger

La composition chimique de cette huile essentielle présentée dans ce chromatogramme est presque identique à celle obtenue par **Lalli, 2005**, que ce soit avec la plante *Pélargonium graveolens* ou *Pélargonium tomentosum*.

Lalli, 2005 a pu identifier, par chromatographie en phase gazeuse, les différents composés chimiques contenus dans l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens*. Ces composés comprennent l' α -pinène, le p-cymène, la menthone, l'isomenthone, le linalol, le cryptone, l' α -terpinéol, le p- cymène -8-ol et le caryophyllène. L'isomenthone représente plus de 80% du rendement total en huile de cette plante.

La composition chimique des huiles essentielles de cette plante est affectée par plusieurs facteurs, notamment son origine, les conditions climatiques et les caractéristiques physico-chimiques du sol de culture (**Lalli, 2005 ; Lis-Balchin, 2002**).

Pour cette raison, les composés principaux de l'huile essentielle de *Pélargonium graveolens* cultivée en Algérie, par rapport à ce qui a été mentionné ci-dessus, sont : Linallol L, citronellol, géranol, le 6-octène-1-ol, le 3,7-diméthyle, le formiate et le sélénène (**Ben Hsouna et Hamdi, 2012**).

Par ailleurs, le nombre de taches indique que la quantité des composés aromatiques volatils (huile essentielle) est plus élevée que celle des composés aromatiques non volatils (hydrolat). Ce résultat est en accord avec ceux de certains travaux soit avec cette plante ou avec d'autres plantes aromatiques (**Verma et al, 2012 ; Hay et al., 2018**).

D'après **Boukhatem *et al*, 2010**, l'hydrolat de cette plante est caractérisé par la prédominance des composés oxygénés et hydrophiles (géraniol, oxyde de linalool, hydroxylinalool), alors que les composés hydrocarbonés sont quasi-absents.

La **figure 26** montre que les composés chimiques des trois hydrolats sont les mêmes, qu'ils soient extraits par l'appareil Clevenger ou par les deux dispositifs traditionnels El Qattar et la cocotte.

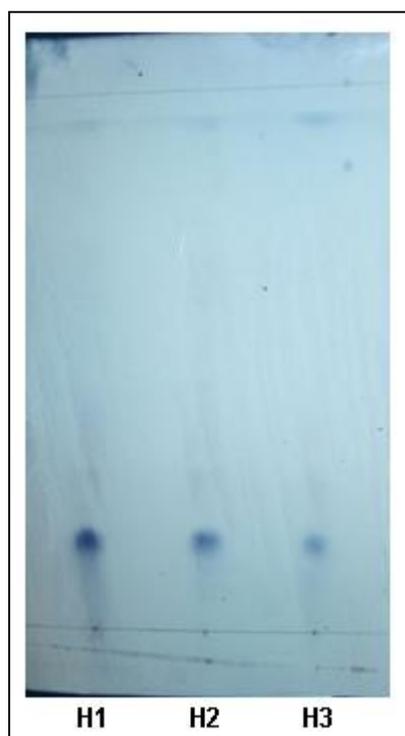


Figure 26 : Chromatogramme CCM analytique des trois hydrolats de la partie aérienne de *Pélargonium graveolens* (Révélation chimique)

IV. 3- Extraction des flavonoïdes de *Pélargonium graveolens*

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires responsables de la couleur des fleurs et des fruits des plantes, qui jouent un rôle clé dans le processus de pollinisation et de protection des plantes contre les maladies et les infections. Ils ont de grands avantages, principalement l'activité antibactérienne et antioxydante.

Dans cette étude, l'extraction des flavonoïdes de *P. graveolens* a été réalisée par macération dans le méthanol aqueux (extraction solide / liquide).

D'après **Ben Hsouna et Hamdi, 2012**, le méthanol était le meilleur solvant utilisé pour l'extraction des composés phénoliques de *P. graveolens* par rapport aux autres solvants étudiés (n-hexane, éthyle acétate).

L'extraction méthanolique a donné un rendement de 13,43 %, légèrement inférieur à celui de **Ben Hsouna et Hamdi, 2012** (17,25%).

IV. 4- Mise en évidence des flavonoïdes de *Pélargonium graveolens*

La séparation des flavonoïdes présents dans les différents extraits obtenus, a été effectuée à l'aide d'une chromatographie sur couche mince (CCM).

Les chromatogrammes obtenus sont examinés après pulvérisation d'une solution d'acide sulfurique (50%) et sous lumière ultra violette (254 nm). Les spots observés ont été entourés et les fluorescences visualisées à l'œil nu ont été notés.

Cette analyse qualitative a permis de mettre en évidence de nombreuses taches (spots) colorées, notamment en jaune et orange.

Les résultats de cette analyse chromatographique sont représentés sur la **figure 27** et dans le **tableau 6**.

A travers ces résultats, nous avons remarqué la présence des taches (présence de flavonoïdes) dans les trois phases : aqueuse (méthanolique), éther diéthylique et n-butanol et leur absence dans la phase acétate d'éthyle.

Nous avons également remarqué que le nombre de taches observé indique que la quantité des composés séparés dans la phase n-butanol est plus élevée que celle dans la phase éther diéthylique.

Selon **Kebièche et al, 2011**, les trois phases : éther diéthylique, acétate d'éthyle et n-butanol sont généralement réalisées pour l'extraction des génines libres (aglycones), des monoglycosides et des di- et tri-glycosides respectivement.

Sur cette base, nous pouvons conclure que notre plante *Pélargonium graveolens*, au moins dans cette manipulation, ne contient pas de flavonoïdes type monoglycosides et particulièrement riche en type di- et tri-glycosides.

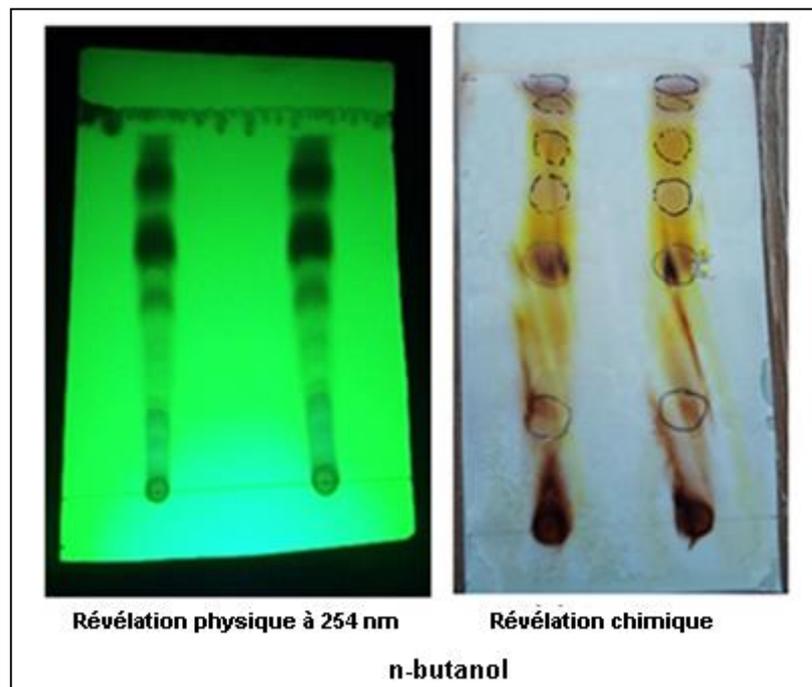
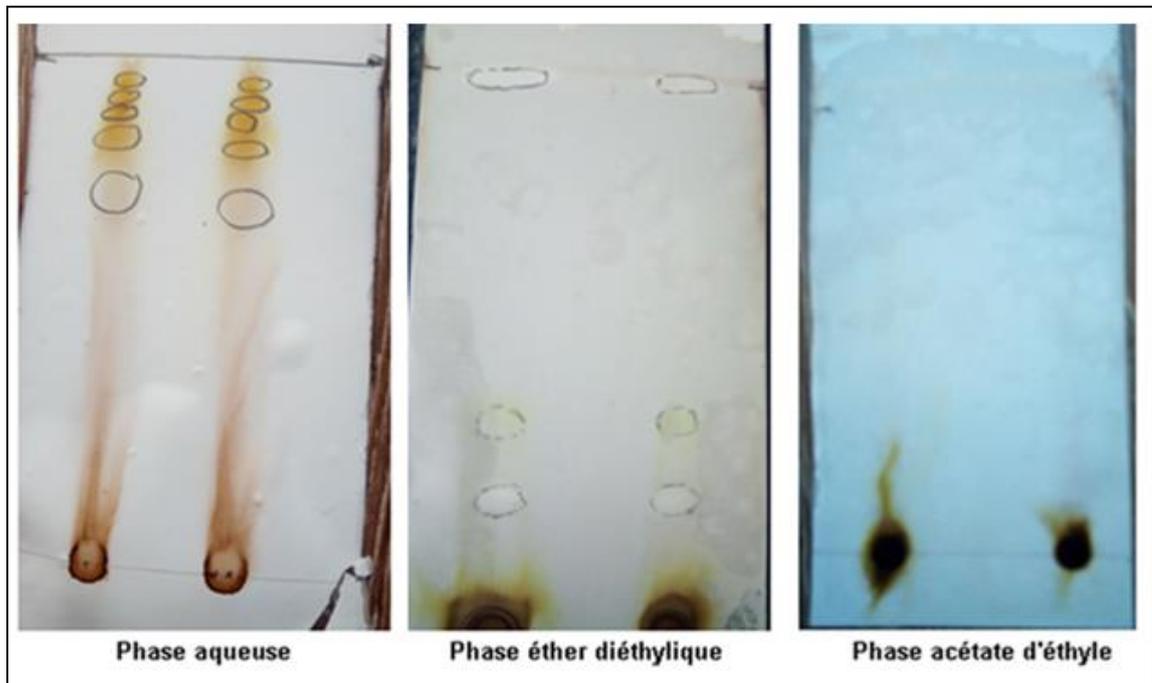


Figure 27 : Mise en évidence des flavonoïdes de *Pélargonium graveolens*
(Résultat de la CCM)

Tableau 6 : Mise en évidence des flavonoïdes de *Pélargonium graveolens* (Résultat de la CCM)

Phase d'extraction	Spot	Rf	couleur
Aqueuse	1	0,715	bleue
	2	0,884	orange
	3	0,978	jaune
Ether diéthylique	1	0,022	blanc
	2	0,317	jaune
	3	0,981	blanc
Acétate d'éthyle	-	-	-
n-butanol	1	0,23	marron
	2	0,54	orange
	3	0,7	marron claire
	4	0,81	noire
	5	0,856	jaune
	6	0,9	Marron orangé
	7	0,95	violet

IV. 5- Test d'activité antibactérienne

IV. 5. 1- Huile essentielle et hydrolat

La méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Mueller-Hinton) a pour but d'évaluer le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle (HE) et de trois hydrolats (H1, H2 et H3) obtenus de la partie aérienne de *Pélargonium graveolens*, contre les deux bactéries *Staphylococcus sp* (gram positif) et *E. coli* (gram négatif).

Le pouvoir antibactérien de chaque extrait contre les microorganismes testés a été évalué par la présence ou l'absence des zones d'inhibition

Les résultats obtenus sont représentés sur les deux **figures 28 et 29**.

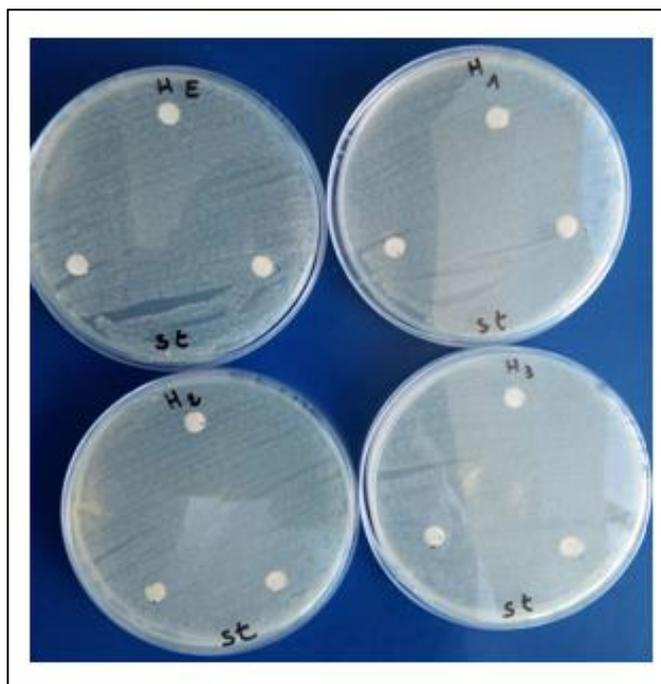


Figure 28 : Activité antibactérienne d'HE, H1, H2 et H3 de *Pélargonium graveolens* (contre *Staphylococcus sp*)
HE= huile essentielle ; H1, H2 et H3 (trois hydrolats obtenus)

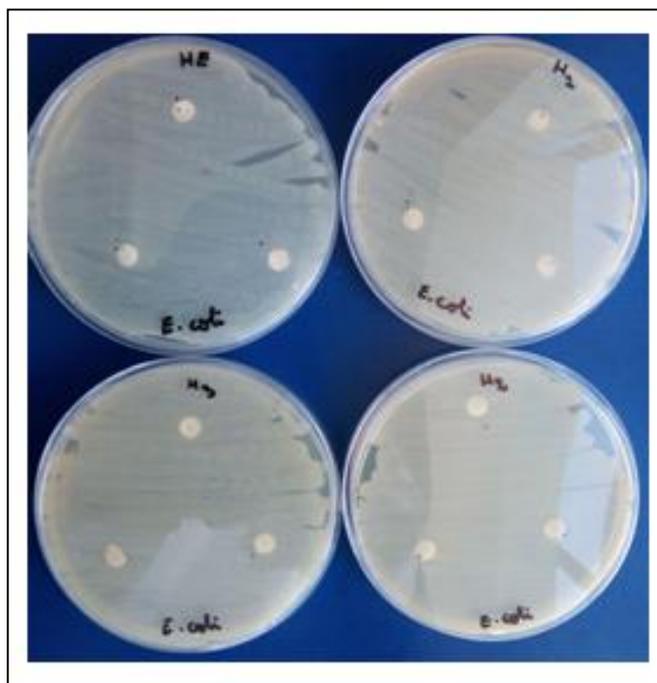


Figure 29 : Activité antibactérienne d'HE, H1, H2 et H3 de *Pélargonium graveolens* (contre *E. coli*)
HE= huile essentielle ; H1, H2 et H3 (trois hydrolats obtenus)

D'après ces résultats, on note que les extraits obtenus (huile essentielle et trois hydrolats) n'ont pas d'efficacité antibactérienne vis-à-vis de deux espèces bactériennes testées.

Ces résultats semblent contradictoires avec de nombreuses études qui confirment l'efficacité de ces composés (huile essentielle de cette plante et son hydrolat) contre de nombreuses bactéries, y compris *Staphylococcus sp* et *E. coli* (Lalli, 2005 ; Ben Hsouna et Hamdi, 2012 ; Ghannadi *et al.*, 2012 ; Atailia et Djahoudi, 2015).

Cette contradiction est peut être expliquée par :

- La concentration insuffisante en huile essentielle et en hydrolats nécessaire pour inhiber la croissance des bactéries testées. Dans ce contexte, Peter (2004) a rapporté que l'huile de *Pélarгонium* est efficace à 1000 ppm contre les deux bactéries *Staphylococcus sp* et *E. coli*.
- L'effet indésirable du solvant utilisé dans cette étude (l'hexane) sur le pouvoir antibactérien. Le solvant qui altère la qualité organoleptique d'huile essentielle (Boukhatem *et al.*, 2010), peut également avoir un effet sur l'efficacité des principes actifs de la plante.

L'une des explications possibles de la faible activité antibactérienne des huiles essentielles est que les composants de ces huiles sont volatils, ce qui entraîne une perte de principes actifs qui peut être considérable en raison de longues périodes d'incubation (Lalli, 2005).

IV. 5. 2- Flavonoïdes

Afin d'évaluer le pouvoir antibactérien de différents types de flavonoïdes de *P. graveolens* obtenus, nous avons utilisé la même méthode précédente, méthode de diffusion des disques sur milieu solide (Müller-Hinton).

Le pouvoir antibactérien des extraits a été déterminé en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (halos) autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis les deux bactéries *Staphylococcus sp* (gram positif) et *E. coli* (gram négatif) (figure 30).

Nous rappelons que le méthanol a été utilisé comme solvant d'extraction et de conservation des extraits obtenus, il a été également utilisé comme témoin dans ce test antibactérien.

Le diamètre réellement pris en compte est celui qui a été calculé par la différence entre le diamètre des zones inhibitrices de ces extraits et celui du témoin (méthanol).

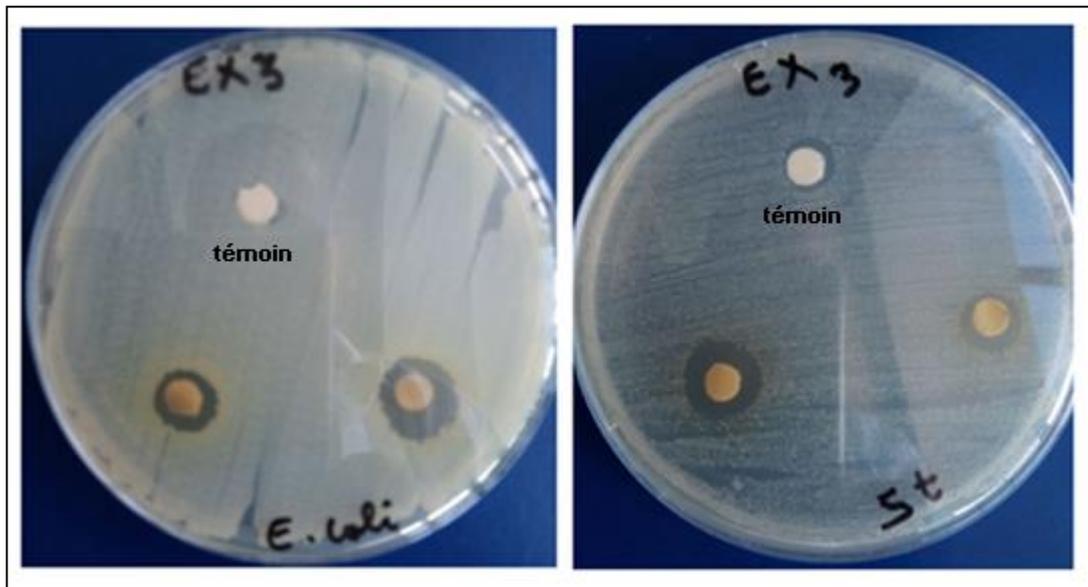


Figure 30 : Zones d'inhibition (halos) autour des disques imprégnés d'extrait n-butanol.

Les résultats de cette manipulation sont mentionnés sur les **figures 31 et 32**.

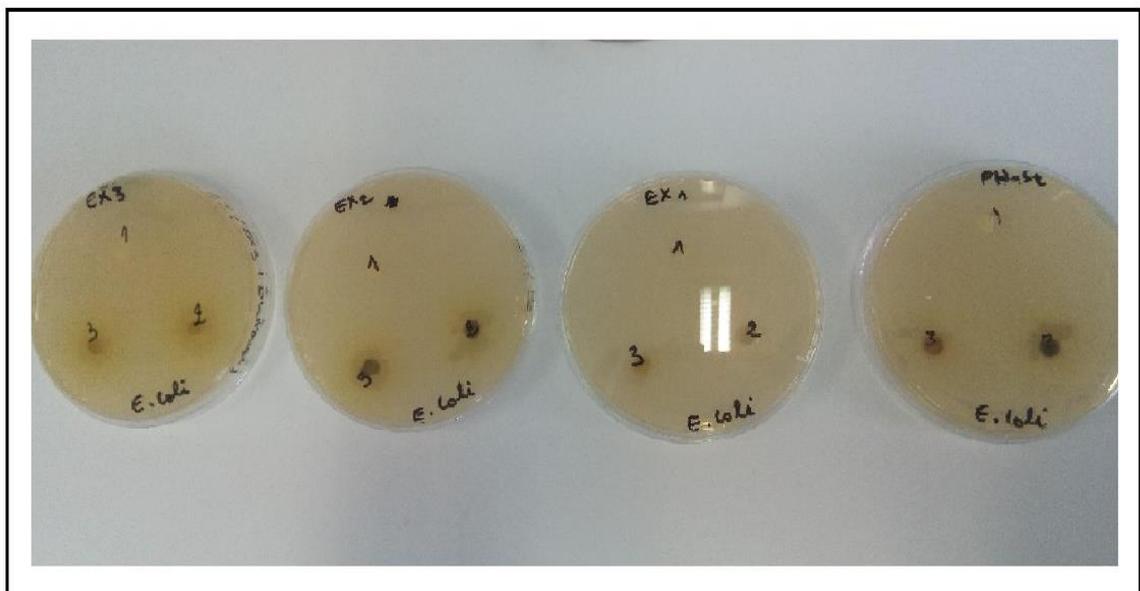


Figure 31 : Traduction de l'activité antimicrobienne sur *Escherichia coli* sous forme de zones d'inhibition.

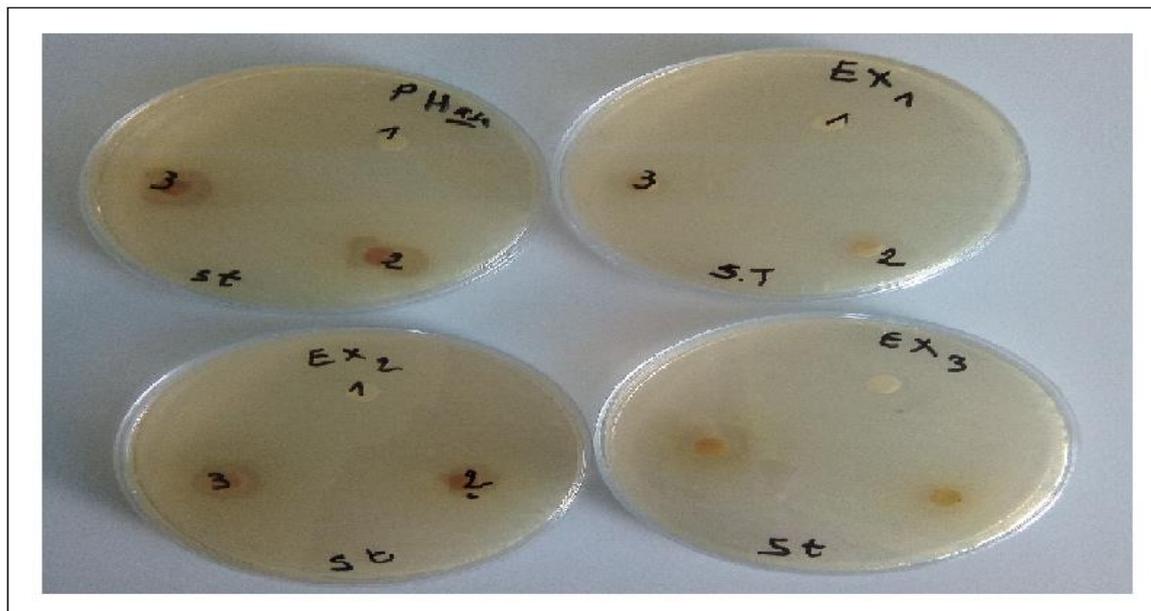


Figure 32 : Traduction de l'activité antimicrobienne sur *Staphylococcus sp* sous forme de zones d'inhibition.

Pour mieux élucider le pouvoir antibactérien des différentes fractions des extraits de la plante, les diamètres de la zone d'inhibition sont représentés graphiquement sur des histogrammes.

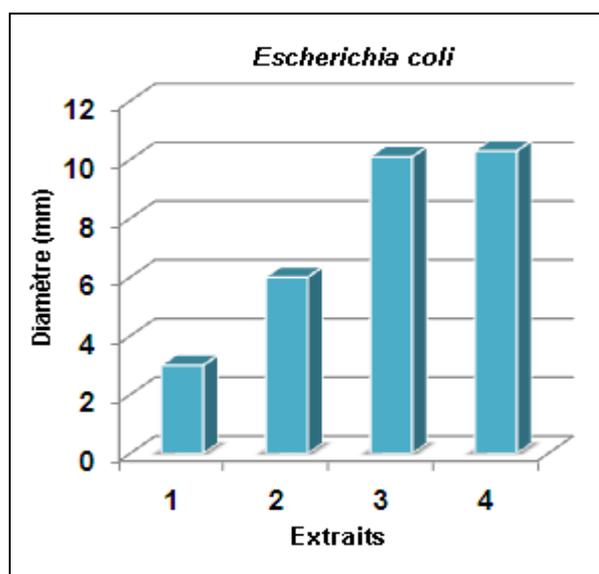


Figure 33 : Test antibactérien des extraits de *Pélargonium graveolens* contre *Escherichia coli*.

Extraits : 1= Aqueuse ; 2= Ether diéthylique ; 3=Acétate d'éthyle ; 4= n-butanol

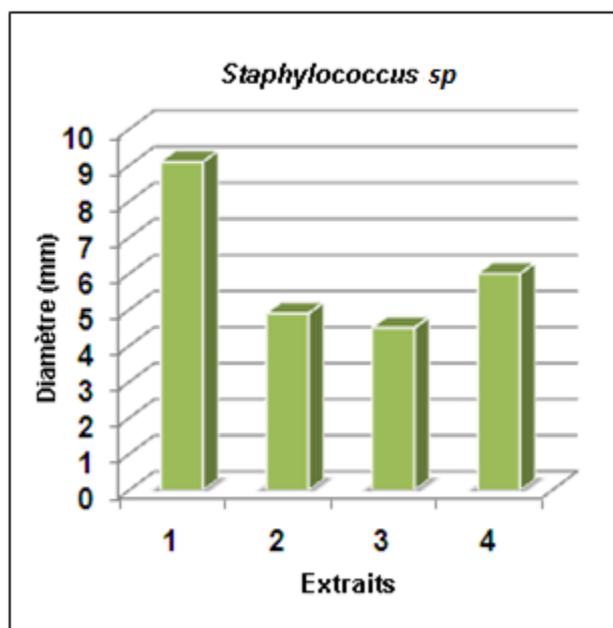


Figure 34 : Test antibactérien des extraits de *Pélargonium graveolens* contre *Staphylococcus sp.*

Extraits : 1= Aqueuse ; 2= Ether diéthylique ; 3=Acétate d'éthyle ; 4= n-butanol

D'après ces résultats, le diamètre des zones d'inhibition diffère d'un type de flavonoïde à un autre. Cette variation de l'activité antimicrobienne explique la diversité de leurs compositions chimiques (principes actifs).

La phase méthanolique (aqueuse) présente une activité inhibitrice importante contre la bactérie *Staphylococcus sp* (Gram positif) par rapport à la bactérie *Escherichia coli* (Gram négatif) (figure 35).

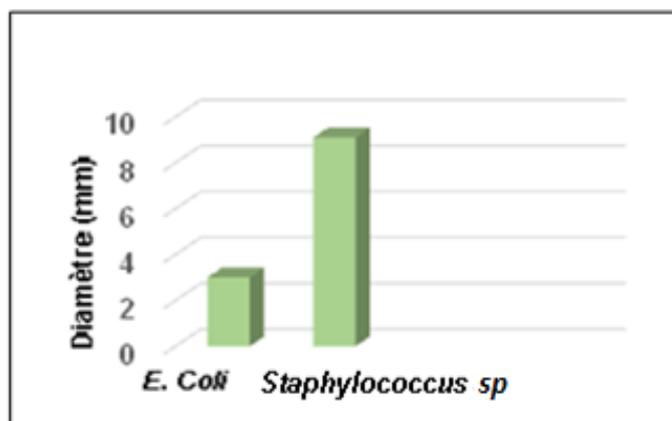


Figure 35 : Test antibactérien de la phase méthanolique (aqueuse) contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus sp.*

Cette différence peut être attribuée à la variation en composition chimique de la paroi cellulaire entre les deux bactéries, dans les cellules gram+ la membrane plasmique est pauvre en lipide et riche en peptidoglycane.

Cowan, 1999, a rapporté que les flavonoïdes forment un complexe irréversible avec les protéines, ce qui entraîne souvent l'inactivation de ces protéines et la perte de leurs fonctions. Selon la même référence, les cibles probables dans la cellule microbienne sont des protéines solubles, des adhésines exposées en surface, des polypeptides de paroi cellulaire et des enzymes liées à la membrane.

les résultats de ce test montrent également que la phase n-butanol a un pouvoir antibactérien, contre les deux bactéries, supérieur à celui des deux autres phases, éther diéthylique et acétate d'éthyle.

C'est-à-dire que la plante géranium rosat est riche en flavonoïdes type di et tri-glycosides, probablement les composés de base qui contribuent de manière significative à son activité antibactérienne globale.

Par ailleurs, ces résultats confirment ce que nous avons obtenu dans le cas de la mise en évidence des flavonoïdes par CCM, où la composition chimique de cette phase était supérieure.

En général, nous pouvons conclure que les différents types des flavonoïdes ont un rôle très important dans l'intérêt particulier des extraits de la plante *Pélargonium graveolens*, notamment son activité biologique.

Dans ce contexte, **El Ouadia et son équipe (2018)** ont trouvé que l'activité antioxydante est principalement liée aux composés phénoliques et flavonoïdes présents dans cette plante.

Enfin, nous pouvons conclure que les résultats obtenus, en particulier l'odeur d'hydrolat caractéristique et l'activité antibactérienne des flavonoïdes, supportent la proposition de certains travaux encourageant l'utilisation d'extraits de cette plante dans l'industrie pharmaceutique, la parfumerie et la lutte contre la contamination bactérienne (**Atailia et Djahoudi, 2015 ; Asgarpanah et Ramezanloo, 2015**).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif de ce travail, réalisée sur la partie aérienne de la plante géranium rosat (*Pélargonium graveolens*), était : (i) l'extraction de l'huile essentielle, de l'hydrolat et des flavonoïdes ; (ii) la mise en évidence des composés chimiques de l'huile essentielle, de l'hydrolat et des extraits de différents types des flavonoïdes (iii) la mise en évidence de l'activité antibactérienne de ces composés contre deux bactéries pathogènes, *Staphylococcus sp* (gram positif) et *E. coli* (gram négatif).

Dans la première partie, l'huile essentielle a été extraite à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger et les trois hydrolats H1, H2 et H3 ont été extraits à l'aide de trois dispositifs : l'alambic traditionnel (dit "El Qattar"), la cocotte et le Clevenger, respectivement.

Nos résultats indiquent que l'huile essentielle obtenue est de couleur jaune avec une odeur tendant vers celle de la rose et que les trois hydrolats obtenus ont les mêmes caractéristiques organoleptiques, notamment la couleur blanchâtre et l'odeur aromatique caractéristique.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons mis en évidence les composés chimiques des différents extraits obtenus (huile essentielle, hydrolats et flavonoïdes) par chromatographie en couche mince (CCM).

Les chromatogrammes obtenus montrent que la composition chimique de l'huile essentielle est presque identique à celle obtenue par **Lalli, 2005** et que les compositions chimiques des trois hydrolats sont identiques, que ces derniers soient extraits par l'appareil Clevenger ou par les deux appareils traditionnels El Qattar et la cocotte.

En dernière partie, nous avons évalué l'activité antibactérienne des différents extraits obtenus vis-à-vis de *Staphylococcus sp* et *Escherichia coli*, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats de cette manipulation montrent que l'huile essentielle et les trois hydrolats n'ont donné aucune activité antibactérienne vis-à-vis des deux espèces bactériennes testées. Cela peut être expliqué par la concentration insuffisante d'huile essentielle et d'hydrolats testés nécessaire à l'inhibition des bactéries. Elle peut aussi être associée au solvant utilisé dans cette étude, en l'occurrence l'hexane, qui peut avoir un effet sur l'efficacité des principes actifs extraits de la plante.

Les données de ce test révèlent également que l'extrait au n-butanol présente un pouvoir antibactérien contre les deux bactéries supérieur à celui des deux autres extraits, réalisés à l'aide de l'éther diéthylique et de l'acétate d'éthyle, respectivement. Cela signifie que les flavonoïdes de type di- et tri-glycosides sont probablement les composés de base, ceux qui contribuent de la

manière la plus significative, à l'activité antibactérienne globale de la plante *Pélargonium graveolens*.

En conclusion, nos résultats supportent la proposition de certains travaux encourageant l'utilisation d'extraits de cette plante (huiles essentielles, polyphénols et flavonoïdes), notamment dans le domaine pharmaceutique, et plus particulièrement dans la lutte contre la contamination bactérienne.

Enfin, afin de compléter ce travail, il convient de réaliser les études suivantes :

- Identifier les composés chimiques des extraits obtenus, notamment l'huile essentielle et l'hydrolat.
- Évaluer les autres activités biologiques de ces extraits, particulièrement l'activité antioxydante et l'activité antifongique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

(A)

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

Atailia I., Djahoudi A. (2015) Chemical composition and antibacterial activity of geranium essential oil (*Pelargonium graveolens* L'Hér.) cultivated in Algeria. *Phytothérapie*, 13:156-157.

Athamena S (2009) Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *cuminum cyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de magister, université El-Hadjlakhdar, Batna.

(B)

Babayi H, Kolo I, Okogum JI (2004) The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biochemistri*, 16 (2) : 102-5.

Basile A, Giordano S, Lopez Saez JA, Cobianchi BC (1999) Antibacterial activity of pure flavonoïds is olated from mosses. *Phytochem*, 2 (8) : 1419-82.

Bassolé IHN, Lamien-Meda A, Bayala B, Obame LC, Ibouido AJ, Franz C, Novak J, Nebié RC, Dicko MH. (2011) Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedecine*, 18(12) : 1070-1074.

Ben Hsouna. A, Hamdi. N. (2012) Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium graveolens* growing in Tunisia *Lipids Health Dis*, 11 , p. 167.

Bencheqroun H.K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A. & Chaouch A., (2012) Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia atlantica*, plante endémique du Maroc. (Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco, *Artemisia mesatlantica*). *Bull. Soc. R. Sci. Liège*, 81: 4-21.

Boukhatem M, Hamaidi MS, Saidi F, Hakim Y (2010) Extraction, composition et propriétés physicochimiques de l'huile essentielle du géranium rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nat Technol* 3: 37–45.

Boukhatem MN, Saidi F, Hamaidi MS, Hakim Y, Mekarnia M (2011) Culture et exploitation industrielle du géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) en Algérie : état des lieux et perspectives. *Phytothérapie* 9: 304–305.

Borges F. (2014) Sécurité sanitaire des aliments. ENSAIA, Université de Lorraine : 55 pages.

Burt, S., (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.*94: 223–253

(C)

Couic-Marinier, F. A. Lobstein (2013) Mode d'utilisation des huiles essentielles. *Actual pharm;* 52 (525): 26-30.

Cowan, MM (1999) Plant products as antimicrobial agents. *ClinMicrobiol Rev* 12: 564– 582.

Cushnie TP, Hamilthoh VES, Lamb AJ. (2003) Assessment of the antimicrobial activity of selected flavonoïds and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiol. Res,* 158(4) : 281-9.

(D)

Dadi PK, Ahmad M, Ahmad Z (2009) Inhibition of ATPase activity of *Escherichia coli* ATP synthase by polyphenols. *Int. J. Biol. Macromol,* 45 (1) : 72-9.

Demarne. F (1989) L'amélioration variétale du "GERANIUM ROSAT" (PELARGONIUM SP) contribution systématique, caryologique, et biochimique. Thèse de doctorat en sciences. Université de Paris XI.

Demarne. F (2002) Geranium and Pelargonium. 'Rose-scented geranium' a Pelargonium grown for the perfume industry (Ed) Taylor & Francis. South Bank University, London, UK, 193-211.

Didrak M (1999) Antimicrobial activities of the extracts of various plants (Valex, Mimosa bark, Gallnut powders, Salvia sp and Phlomis sp). *J. Biol,* 23: 241-8.

Džamić. AM;Soković. MD;Ristić. MS;Grujić. SM;Mileski. KS; Marin. PD (2014) Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil. *Journal of Applied Pharmaceutical Science,* 4 (03): 001-005.

(E)

Ebadi M (2001) Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. CRC Pres LLC.

El Ouadi. Y, Bendaif. H, Mrabti. H.N, Elmsellem. H, Kadmi. Y, Shariati. M.A, Abdel-Rahman. I, Hammouti. B, Bouyanzer. A (2017) Antioxidant activity of phenols and flavonoids contents of aqueous extract of *Pelargonium graveolens* origin in the North-east Morocco. *Jmbfs*, 6 (5): 1218-1220.

El Ouadi. Y, Bouyanzer. A, Elmsellem. H, Hammouti. B, Bendaif. H (2018) Comparative Study of the Antioxidant Activity of Phenols and Flavonoids Content of the Aqueous Extract of *Salvia Officinalis* and *Pelargonium Graveolens* from Northeastern Moroccan. *EJCEES*, 2(2): 1-13.

(F)

FORNET. N (2016) Le GÉRANIUM ROSAT BOURBON. Mémoire de fin d'études «Conseil en aromathérapie» HIPPOCRATUS. Île de La Réunion.

Franz, C. Novak, J (2010) Sources of Essential Oils. In « Essential oils in food preservation, flavor and safety» edited by Preedy, Victor R. Elsevier: 39-82.

(G)

Ghannadi. A, Bagherinejad. M, Abedi. D, Jalali. M, Absalan. B, Sadeghi. N (2012) Antibacterial activity and composition of essential oils from *Pelargonium graveolens* L'Her and *Vitex agnus-castus* L. *Iran J Microbiol*, 4 (4), pp. 171-176.

Ghedira k (2005) Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, role prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 3(4): 162-169.

(H)

Handa, S.S., S.P.S. Khanuja, G. Longo and D.D. Rakesh (2008) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology, Trieste: Page 40.

Hart. S et Lis-Balchin. M (2002) Geranium and Pelargonium. Pharmacology of Pelargonium essential oils and extracts in vitro and in vivo (Ed) Taylor & Francis. South Bank University, London, UK, 116-131.

Hay. Y, Abril-Sierra. M, Sequeda-Castañeda. L, Bonnafous. C, Raynaud. CH (2018) Evaluation of combinations of essential oils and essential oils with hydrosols on antimicrobial and antioxidant activities. *J Pharm Pharmacogn Res*, 6(3): 216-230.

Heller W and Forkmann G (1993) Biosynthesis of flavonoids. In: The Flavonoids: Advances in research since 1986. Chapman and Hall. London: 499-535.

(I)

Ilic SB, Konstrantinovic SS, Todorovic ZB (2004) Antimicrobial activity of bioactive component from flower of *Linum capitatum* Kit. Physics Chem. Technol, 3 (1) : 73-7.

International Organization for Standardization (ISO). Oil of geranium (*Pelargonium X ssp*). ISO 4731 :2006.

(J)

Janin J (2006) Intoxication volontaire par ingestion d'huile essentielle de Géranium bourbon (*Pelargonium Graveolens*). A propose d'un cas réunionnais. Thèse de doctorat en médecine. Université Henri Poincaré NANCY I : 108 p.

(K)

Kebèche M., Lakroun Z., Mraïhi Z et Soulimani R (2011) Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. Phytothérapie. 9: 274-282.

KONE S. (2001) Extraction des huiles essentielles par distillation, gate Information Service, Eschborn, Germany : 6 Pages.

Kubitzki. K (2007) The Families and Genera of Vascular Plants. IX Flowering Plants. Eudicots. Springer Berlin Heidelberg New York: 503 p

(L)

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

Lis-Balchin M (2002) Geranium and Pelargonium. The genera Geranium and Pelargonium (Ed) Taylor & Francis. South Bank University, London, UK, 11-19.

(M)

Martini A, Katerere DR, Eloff JN (2004) Seven flavonoïdes with antibacterial activity isolated from *Combretum erythrophyllum*. J. Ethnopharmacol., 93 (2-3) : 207-12.

Miller M (2002) Geranium and Pelargonium. The taxonomy of Geranium species and cultivars, their origins and growth in the wild (Ed) Taylor & Francis. South Bank University, London, UK, 49-79.

Modak B (2001) Actividad antibacteriana de flavonoides aislados des exudado resinoso de Heliotropium sinuatum. Efecto del tipo d'estructura. Bol. Soc. Quim, 47 (1) : 366-421.

Mohammedi Z (2006) Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, 155p.

(O)

Okigbo RN, Mbajinka CS, Njoku CO (2005) Antimicrobial potentials of (UDA) Xylopiya aethopica and Occinum gratissimum L. some pathogenous of man. Int. J. Mol. Med. Adv. Sci, 1 (4) : 392-7.

(P)

Panche. A.N, Susan. A.D, Chandra.S.R (2016) Flavonoids: an overview. jns. 5 (47):1-15

Peter. K. V (2004) Handbook of herbs and spices. Woodhead Publishing Ltd. Cambridge England. Volume 2.

(U)

Ulanowska K, Traczyk A, Konopa G, Wegrzym G (2006) Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. Arch. Microbiol, 184 (5) : 271-8.

(R)

Ranjitha J., Vijiyalakshmi S (2014) Facile methods for the extraction of essential oil from the plant species - a review, *IJPSR*, Vol. 5(4): 1107-1115.

Ríos J (2016) Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. In: *in* «Essential oils in food preservation, flavor and safety» edited by Preedy, Victor R. Elsevier: 3-9.

Rose J (2003) Aromatherapy, Essential oils & hydrosols produits of distillation .Aromatic plant project. San Fransisco,CA 94117.

(S)

SaraswathiJ, VenkateshK, BaburaoN, Hill MH, RojaRA, et al (2011)

Phytopharmacological importance of Pelargonium species. Journal of Medicinal Plants Research 5: 2587-2598.

Simpson. M. G. (2010). Plant Systematics, Second Edition, Academic Press is an imprint of Elsevier: 428-432.

Slavica B, Ilic SSK, B. Zoran BT (2004) Flavonoids from flower of Linum capitatum kit. Phys. Chem. Technol, 3: 67-71.

Stalikas C D (2007) Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. J. Sep. Sci, 30, 3268–3295.

(V)

Verma. Ram S, Rajendra C. Padalia and Amit Chauhan (2012) Analysis of the Hydrosol Aroma of Indian Oregano. Med Aromat Plants, 1:7.

(W)

WHO (World Health Organization) (2007) The World Health Report 2007 - A safer future: global public health security in the 21st century. Geneva: WHO.

Williams CA, Harborne JB (2002) Phytochemistry of the genus Pelargonium. In : Lis-Balchin, M. (Ed.), Geranium and Pelargonium. London : Taylor and Francis, p. 172-205.

Les sites internet:

- <https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=PEGR11>

Résumé

La composition chimique et l'activité antibactérienne des extraits (huile essentielle, hydrolat et flavonoïdes) des feuilles de *Pélargonium graveolens*, ont été étudiées.

L'extraction d'huile essentielle a été réalisée à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger et celle des trois hydrolats H1, H2 et H3 à l'aide de trois dispositifs : l'alambic traditionnel (El Qattar), la cocotte et le Clevenger, respectivement. L'huile essentielle obtenue est de couleur jaune, sa senteur s'approchant de celle des roses, et les trois hydrolats obtenus présentent les mêmes caractéristiques organoleptiques, notamment la couleur, blanchâtre, et l'une odeur aromatique caractéristique.

La mise en évidence des composés chimiques de nos extraits a été effectuée par chromatographie sur couche mince (CCM). Les résultats obtenus ont montré que la composition chimique de l'huile essentielle était presque identique à celle obtenue par **Lalli, 2005** et que les compositions chimiques des trois hydrolats étaient exactement identiques.

Le pouvoir antibactérien de ces extraits vis-à-vis de *Staphylococcus sp* et *Escherichia coli* a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats ont montré que l'extrait n-butanolique présente un pouvoir antibactérien, contre les deux bactéries, supérieur à celui des autres extraits. Il en a été déduit que les flavonoïdes de type di- et tri- glycosides sont probablement les composés de base qui contribuent de manière significative à l'activité antibactérienne globale de la plante *Pélargonium graveolens*.

En conclusion, nous approuvons pleinement la proposition de certains travaux qui encouragent l'utilisation d'extraits de cette plante (huiles essentielles, hydrolat et flavonoïdes), notamment dans le domaine pharmaceutique, et plus particulièrement dans la lutte contre la contamination bactérienne.

Mots clés : *Pélargonium graveolens*, huile essentielle, hydrolat, flavonoïdes, activité antibactérienne.

Abstract

The chemical composition and the antibacterial activity of the extracts (essential oil, hydrolate and flavonoids) of the *Pelargonium graveolens* plant were studied.

The essential oil extraction was carried out using a Clevenger type hydrodistillation apparatus and that of the three hydrolates H1, H2 and H3 using three devices: the traditional still (El Qattar), the casserole and the Clevenger, respectively. The essential oil obtained is yellow, its scent approaching that of roses, and the three hydrolates obtained have the same organoleptic characteristics, especially the whitish color, and the characteristic aromatic odor.

The detection of the chemical compounds of our extracts was carried out by thin layer chromatography (TLC). The results obtained showed that the chemical composition of the essential oil was almost identical to that obtained by Lalli, 2005 and that the chemical compositions of the three hydrolates were exactly the same.

The antibacterial power of these extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was evaluated by the diffusion method on agar medium. The results showed that the n-butanolic extract has an antibacterial power, against both bacteria, higher than that of the other extracts. It has been deduced that di- and tri-glycoside flavonoids are probably the basic compounds that contribute significantly to the overall antibacterial activity of the *Pelargonium graveolens* plant.

In conclusion, we fully support the proposal of some works that encourage the use of extracts of this plant (essential oils, hydrolat and flavonoids), especially in the pharmaceutical field, and more particularly in the fight against bacterial contamination.

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

ملخص

تمت دراسة التركيب الكيميائي والنشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات (الزيوت العطرية والهيدروولات والفلافونويدات) نبات العطرشة.

استخدم جهاز التقطير بالبخار من نوع Clevenger من اجل استخلاص الزيت الأساسي و ثلاثة اجهزة لاستخلاص الهيدروولات الثلاثة H1 ، H2 ، H3: القطار التقليدي، قدر الضغط (Cocotte)، Clevenger على الترتيب.

الزيت الأساسي الذي تم الحصول عليه كان اصفر اللون ورائحته تقترب من رائحة الورود. وكانت الهيدروولات الثلاثة لها نفس الخصائص الحسية ، خاصة اللون الأبيض والرائحة العطرية المميزة.

تم الكشف عن المركبات الكيميائية لمستخلصاتنا بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، و قد أظهرت النتائج المتحصل عليها بأن التركيب الكيميائي للزيت الأساسي كان تقريبا متطابقا مع ذلك الذي تحصل عليه **Lalli, 2005** ، و أن التراكييب الكيميائية للهيدروولات الثلاثة كانت متطابقة تماما.

تم تقييم قوة هذه المستخلصات المضادة للبكتيريا *Staphylococcus sp* و *Escherichia coli* بواسطة طريقة الانتشار على بيئة الأجار. و قد أظهرت النتائج بان المستخلص n-butanol له قوة مضادة بكتيرية ، ضد كلا النوعين، أعلى من المستخلصات الأخرى.

و علاوة على ذلك تم الاستنتاج بأن المركبات الفلافونويدية ثنائية و ثلاثية الجليكوسيد هي على الأرجح المركبات الأساسية التي تساهم بشكل كبير في النشاط المضاد للبكتيريا لنبات العطرشة.

في الختام، نحن نؤيد تماما اقتراح بعض الأعمال التي تشجع على استخدام مستخلصات هذا النبات (الزيوت الأساسية، والهيدروولات، والفلافونويدات) في مجال المستحضرات الصيدلانية وبشكل خاص في مكافحة التلوث البكتيري.

الكلمات المفتاحية : *Pélargonium graveolens*، الزيت العطري ، الهيدروولا، الفلافونويد، النشاط المضاد للبكتيريا.

Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle, de l'hydrolat et des flavonoïdes extraits des feuilles de *Pélargonium graveolens*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée

Résumé

La composition chimique et l'activité antibactérienne des extraits (huile essentielle, hydrolat et flavonoïdes) de la plante *Pélargonium graveolens*, ont été étudiées.

L'extraction d'huile essentielle a été réalisée à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger et celle des trois hydrolats H1, H2 et H3 à l'aide de trois dispositifs : l'alambic traditionnel (El Qattar), la cocotte et le Clevenger, respectivement. L'huile essentielle obtenue est de couleur jaune, sa senteur s'approchant de celle des roses, et les trois hydrolats obtenus présentent les mêmes caractéristiques organoleptiques, notamment la couleur, blanchâtre, et l'une odeur aromatique caractéristique.

La mise en évidence des composés chimiques de nos extraits a été effectuée par chromatographie sur couche mince (CCM). Les résultats obtenus ont montré que la composition chimique de l'huile essentielle était presque identique à celle obtenue par **Lalli, 2005** et que les compositions chimiques des trois hydrolats étaient exactement identiques.

Le pouvoir antibactérien de ces extraits vis-à-vis de *Staphylococcus sp* et *Escherichia coli* a été évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats ont montré que l'extrait n-butanolique présente un pouvoir antibactérien, contre les deux bactéries, supérieur à celui des autres extraits. Il en a été déduit que les flavonoïdes de type di- et tri- glycosides sont probablement les composés de base qui contribuent de manière significative à l'activité antibactérienne globale de la plante *Pélargonium graveolens*.

En conclusion, nous approuvons pleinement la proposition de certains travaux qui encouragent l'utilisation d'extraits de cette plante (huiles essentielles, hydrolat et flavonoïdes), notamment dans le domaine pharmaceutique, et plus particulièrement dans la lutte contre la contamination bactérienne.

Mots clés : *Pélargonium graveolens*, huile essentielle, hydrolat, flavonoïdes, activité antibactérienne.

Jury d'évaluation :

Président du jury :	K. BAZRI	(MC-A - UFM Constantine).
Rapporteur :	B. BOUSEBA	(MC-B- UFM Constantine).
Examineur :	S. CHIBANI	(MC-A - UFM Constantine).

Date de soutenance : 17/07/2019