



EPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ KASDI MERBAH OUARGLA



Faculté des Sciences Appliquées  
Département de Génie des procédés  
Mémoire

MASTER ACADEMIQUE  
Domaine : Sciences et Technologies  
Filière : Génie Procédés  
Spécialité : Génie Chimique

Présenté Par :

Rezzag Lagraa Maroua  
Bouznada Nour Elhouda

Thème :

EXTRACTION ET CARACTÉRISATION DE L'HUILE ESSENTIELLE  
DE LA PLANTE AROMATIQUE CITRONNELLE DE LA RÉGION  
D'OUARGLA

Devant le jury composé de :

Mr. Ladjel Segni

Pr. (UKM OUARGLA)

Encadreur

Mme. Hacini Zineb

MCA. (UKM OUARGLA)

Président

Mr. Goudjil Mohamed Bilal

MCA. (UKM OUARGLA)

Examineur

Année Universitaire : 2022/2023

# DÉDICACE

*Louange à Dieu, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail*

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde à mes très chers parents, secrets de ma force.*

*A ma mère, qui représente la lumière de notre existence. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.*

*Que Dieu le tout puissant, te préserve et t'accorde santé, longue vie et bonheur. Pour son amour infini et pour votre soutien tout le long de ma vie scolaire, que dieu te protège et Merci maman sans toi je ne serais pas ici aujourd'hui Je t'aime.*

*A mon cher Père à qui je dois tout et tout symbole de courage et du sacrifice sa patience et son aide qui mont toujours en courage et soutenue au cours de la période de mes études je souhaite que travail soit un témoignage de ma profonde affection et reconnaissance du sacrifice de mon Père.*

*A la mémoire de ma grande père décédé trop tôt, qu'il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de ta petit- fille, j'aurais aimé que tu sois à mes côtés pour ma à voir la fierté dans tes yeux que dieu l'accueil dans son vaste paradis.*

*Avec toute ma tendresse. À mes chéris frères Hamza Bachir Youcef Aymen Yazid et mes chers sœurs Anfal Khadîdja et Nawal.*

*Qui me font oublier tous mes soucis avec leurs douces à rôles.*

*À mon deuxième père Hamza son amour infini j'ai remerciement pour tout ce que tu as fait pour moi je vous aime.*

*À mon oncle « RIAD » qui m'as toujours soutenu et encouragé.*

*A tout Ma famille Rezzag Lagraa et Zedik ; mes grandes parents, mes oncles, mes tantes, mes cousines.*

*Spéciale dédicace à toutes mes chères amies surtout Nour Sarah Imane Maria Kounouz Yousra Rania Karima Ichrak et Hadjer.*

*À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

*À tous ceux qui me sont chers.*

*Maroua Rezzag Lagraa*

# اهداء

لكل من أضاء بعلمه عقل غيره أو هدى بالجواب الصحيح خبرة سائله  
فأظهر بسماحته تواضع العلماء، وبرحابته سماحة العارفين  
إلى قدوتي الأولى، ونبراسي الذي ينير دربي، إلى من أعطاني ولم يزل  
يعطيني لا حدود، إلى من رفعت رأسي عاليا افتخارا به {أبي العزيز أدامه  
الله فخرا لي}

إلى التي رأني قلبها قبل عينيها، وحضنتني أحشاؤها قبل يديها، إلى شجرتي  
التي لا تدبل، إلى الظل الذي أوي إليه في كل حين {أمي الحبيبة حفصها  
الله}

إلى الشموع التي تنير لي الطريق اخوتي {شافية، رقية، حسام، إيمان،  
علاء} هم من شجعوني وواصلوا العطاء دون مقابل  
إلى رفيقة رحلة النجاح {مروة}

إلى من لم تربطني بهن علاقة النسب، بل عطر الصداقة وورد المحبة  
{ياسمين، سلسبيل، أنفال، إيمان، ماريان}

وأخيرا وليس آخرا أهدي هذا العمل المتواضع إلى كل من يتكبد عناء قراءته  
سواء لتقييمه أو لنقده أو لزيادة علمه أو لإشباع فضوله  
بوزناده نور الهدى

# REMERCIEMENTS

*Nous remercions notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donnés pour mener ce travail à terme.*

*Je tiens à remercier le Professeur **Ladjel Segni**, le promoteur de ce mémoire, pour avoir encadré ce travail.*

*J'adresse mes remerciements aux membres de Jury*

*Mr **Goudjil Mohamed Bilal** et Melle **Hacini Zineb** qui me font l'honneur de juger ce mémoire.*

*Je tiens à remercier le personnel de laboratoire de recherche de Génie des Procédés pour leur soutien et leurs conseils.*

*Et à tous ceux qui m'ont apporté leur aide ne serait-ce que par un simple mot d'encouragement.*

*Nous n'oublions pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience. Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.*

## ملخص

يعتمد هذا العمل بشكل أساسي على دراسة خصائص الزيت العطري لنبته الليمون المزروعة في منطقة حاسي ميلود – ورقلة.

تعرف نبتة الليمون أيضا باسم *Cymbopogon citratus* وهي نبتة عطرية تستخدم في عدة مجالات (الصيدلانية والتجميلية والطبية).

عملية استخلاص الزيت العطري تم بواسطة التقطير المائي واعطت عائدا بنسبة 0.41

نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية للزيت العطري موافقة للمعايير الدولية AFNOR .

تم تحليل الزيت العطري بواسطة كروماتوغرافيا الطيف الكتلي المقترن بالطور الغازي وقد أظهرت النتائج وجود السترال الذي يعتبر المادة الفعالة والمسؤولة عن فعالية هذا الزيت.

الكلمات المفتاحية: زيت أساسي, عشبة الليمون, التقطير المائي, السترال.

## Résumé

Ce travail se base principalement sur une étude de caractérisation de l'huile essentielle de la plante *Citronnelle*, cultivés de la région de Hassi Miloud - Ouargla.

La plante *Citronnelle* également connue sous le nom *Cymbopogon citratus*, l'huile de cette plante populaire dans l'aromathérapie et ces divers utilisations et propriétés dans différents domaines (pharmaceutiques, cosmétiques et médicales).

L'extraction d'huile essentielle réalisée par hydrodistillation a donné un rendement de 0.41.

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'huile essentielle sont conformes avec les normes AFNOR.

L'huile essentielle a été analysée par GC/MS. Les résultats ont montré la présence de *Citral* comme Chemotype ; la substance active responsable de l'efficacité de cette huile.

**Mots-clés : Huile essentielle, citronnelle, hydrodistillation, citral.**

## **Abstract**

This work is mainly based on a characterization study of essential oil of the *Lemongrass* plant, grown in the region of Hassi Miloud-Ouargla.

The *Lemongrass* plant also known as *Cymbopogon citratus*, the oil of this popular plant in aromatherapy and its various uses and properties in different fields (pharmaceutical, cosmetic and medical).

The essential oil extraction carried out by hydrodistillation gave a yield of 0.41.

The results of the physico-chemical analyze of the essential oil are compliant with AFNOR standards.

The essential oils are, analyzed by GC/MS, the results showed the presence of *Citral* as chemotype which finds the active substance responsible for the effectiveness of this oil.

**Key words:** Essential oil, *lemongrass*, hydrodistillation, *Citral*.

## *Liste des tableaux*

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
<i>Chapitre IV : Matériels et Méthodes</i>		
<b>IV.1</b>	Matériels et produits utilisés	22
<i>Chapitre V : Résultats et Discussions</i>		
<b>V.1</b>	propriété organoleptique d'HE de <i>citronnelle</i>	33
<b>V.2</b>	Rendement d'huile essentielle de <i>citronnelle</i>	34
<b>V.3</b>	Résultat d'analyses physico-chimiques d'HE de citronnelle	35
<b>V.4</b>	les produits majoritaires	37

## *Liste des figures*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Chapitre I : Etude bibliographique</b>		
<b>I.1</b>	<i>Cymbopogon citratus</i>	4
<b>I.2</b>	Structure chimique des principaux constituants de l'huile essentielle de <i>citronnelle</i>	5
<b>Chapitre II : Les huiles essentielles</b>		
<b>II.1</b>	Structure chimique de quelques mono terpènes	11
<b>II.2</b>	Structure chimique de quelques composés aromatiques	11
<b>II.3</b>	Structure de quelques composés azotés et soufrés	12
<b>II.4</b>	Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle	13
<b>Chapitre III : Techniques d'extraction des huiles essentielles</b>		
<b>III.1</b>	Montage d'extraction par Hydro distillation	15
<b>III.2</b>	Montage d'entraînement à la vapeur d'eau	16
<b>III.3</b>	Montage d'Hydro diffusion	16
<b>III.4</b>	Montage d'extraction par la méthode d'expression à froid	17
<b>III.5</b>	Montage Extraction par solvants	18
<b>III.6</b>	Montage d'extraction par les fluides supercritiques.	19
<b>III.7</b>	Montage d'extraction assistée par micro-ondes	19
<b>Chapitre IV : Matériels et Méthodes</b>		
<b>IV.1</b>	Localisation de la zone d'étude « Hassi Miloud »	20
<b>IV.2</b>	Diagramme générale de la procédure expérimentale	21
<b>IV.3</b>	la plante <i>citronnelle</i> (G fraîche, D séché) (photos originales)	22
<b>IV.4</b>	Montage d'hydrodistillation	23

<b>IV.5</b>	Protocole d'extraction par hydrodistillation	25
<b>IV.6</b>	Le volume de KOH utilisé	27
<b>IV.7</b>	Couleur de la solution à titré avant et après l'équivalence, respectivement	27
<b>IV.8</b>	Papier d'indicateur de pH	28
<b>IV.9</b>	Réfractomètre Abbé de Carl Zeiss	28
<b>IV.10</b>	Champ de vision du refractomètre	29
<b>IV.11</b>	Ajustement de la position de la frontière claire-sombre	29
<b>IV.12</b>	Masse de la seringue vide	30
<b>IV.13</b>	Masse de la seringue remplie d'HE	31
<b>IV.14</b>	L'appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à spectromètre de masse GC/MS	32
<b><i>Chapitre V : Résultats et Discussions</i></b>		
<b>V.1</b>	Récupération de l'huile essentielle	33
<b>V.2</b>	Résultat de pH	34
<b>V.3</b>	Point de virage de titrage de la solution de l'huile d'extrait	34
<b>V.4</b>	profile chromatographique	36

## *Liste des abréviations*

***C.citratus*** : *Cymbopogon citratus*.

**GC-MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

**HE** : Huile essentielle.

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

**pH** : Potentiel d'hydrogène.

**ISO** : Organisation internationale de normalisation.

**R%** : Rendement.

**m (HE)** : Masse d'huile essentielle obtenue en gramme (g).

# Sommaire

Dédicace.....	I
Remerciements.....	III
Liste des tableaux.....	VI
Liste des figures.....	VII
Liste des abréviations.....	IX
Sommaire .....	X

## INTRODUCTION GENERALE

### INTRODUCTION GENERALE :

### ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

## CHAPITRE I : DESCRIPTION BOTANIQUE

I.1 INTRODUCTION .....	2
I.2 GENERALITE SUR <i>CYMBOPOGON</i> : .....	2
I.3 DEFINITION :.....	2
I.4 HISTOIRE : .....	3
I.5 DESCRIPTION BOTANIQUE : .....	3
I.6 CLASSIFICATION BOTANIQUE : [13].....	4
I.7 ORIGINE : .....	4
I.8 HUILE ESSENTIELLE DE LA <i>CITRONNELLE</i> : .....	5
I.9 EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES : .....	5
I.10 UTILISATIONS TRADITIONNELLES.....	6
<i>I.10.1 Phytothérapie</i> :.....	6
I.11 UTILISATIONS TRADITIONNELLES DE LA <i>CITRONNELLE</i> .....	6
I.12 ANALYSE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE : .....	7
I.13 TOXICITE : .....	7

## CHAPITRE II : NOTIONS GENERALES SUR LES HUILES ESSENTIELLES

II.1 DEFINITION ET HISTORIQUE : .....	8
<i>II.1.1 Définition</i> : .....	8
<i>II.1.2 Historique</i> : .....	8
II.2 ROLE ET PROPRIETES DES HUILES ESSENTIELLES CHEZ LES PLANTES : .....	9
II.3 COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELLES : .....	9
<i>II.3.1 Terpènes</i> :.....	10
<i>II.3.2 Les composés aromatiques</i> :.....	11
<i>II.3.3 Composés d'origines diverses</i> :.....	11
II.4 CLASSIFICATION ET ORIGINE DES HUILES ESSENTIELLES .....	12
II.5 DOMAINES D'UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES : .....	13
<i>II.5.1 Industrie agro-alimentaire</i> .....	13
<i>II.5.2 Industrie parfumerie et cosmétique</i> :.....	13

II.5.3 Industrie pharmaceutique : .....	14
---	----

## **CHAPITRE III : TECHNIQUES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES**

III.1 EXTRACTION PAR L'HYDRODISTILLATION : .....	15
III.2 EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU : .....	15
III.3 HYDRO-DIFFUSION : .....	16
III.4 EXPRESSION À FROID : .....	17
III.5 EXTRACTION PAR SOLVANTS : .....	17
III.6 ENFLEURAGE : .....	18
III.7 L'EXTRACTION AU CO <sub>2</sub> SUPERCRITIQUE : .....	18
III.8 EXTRACTION ASSISTEE PAR MICRO-ONDES : .....	19

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES**

IV.1 INTRODUCTION : .....	20
IV.1.1 Présentation de la zone d'échantillonnage : .....	20
IV.2 MATERIEL : .....	22
IV.2.1 Matériel biologique : .....	22
IV.3 EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES : .....	23
IV.4 DETERMINATION DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES ET CARACTERISATION CHROMATOGRAPHIQUES	26
IV.4.1 Détermination le rendement d'extraction : .....	26
IV.4.2 L'indice d'acide : .....	26
IV.4.3 Mesure du Ph : .....	27
IV.4.4 L'indice de réfraction : .....	28
IV.4.5 La densité : .....	30
IV.4.6 Détermination de la composition chimique des huiles par GC/MS : .....	31

### **CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

V.1 CARACTERISTIQUES ORGANOLEPTIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE DE CITRONNELLE : .....	33
V.2 RENDEMENT D'EXTRACTION : .....	33
V.3 ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES : .....	34
V.4 LES CONDITIONS DE SEPARATIONS CHROMATOGRAPHIQUES DES HUILES ESSENTIELLES : .....	35
V.4.1 The operating conditions are: .....	35
V.4.2 Les produits majoritaires : .....	37
Il y a 37 produits dont 04 majoritaires.....	37

## **CONCLUSION GENERALE**

Conclusion générale : .....	38
-----------------------------	----

## **RECOMMANDATIONS**

Recommandations : .....	39
-------------------------	----

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**



# Introduction Générale

## **Introduction générale :**

L'Algérie possède une richesse non négligeable en plantes aromatiques et médicinales qui susceptible d'être utilisées dans différents domaines tels qu'en pharmacie, parfumerie, cosmétique et en agroalimentaire pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont à l'origine des produits à forte valeur ajoutée (huiles essentielles, extraits, résines...) qui se présentent très souvent comme des mélanges complexes.

[1]. Une plante est dite aromatique quand elle contient des substances odorantes volatiles appelées « Huile essentielle » que l'on peut obtenir suivant des techniques d'extractions connues. Les plantes aromatiques sont utilisées dans la cuisine, l'industrie alimentaire, la cosmétique et la parfumerie où leur saveur et leur odeur sont appliquées [2].

L'objectif principal visé par ce travail est la mise en valeur d'une plante aromatique et médicinale; c'est le *Citronnelle*, et en particulier, le *Citronnelle* de la région d'Ouargla, le village de Hassi Miloud - Ouargla, Afin de déterminer leur composition et d'évaluer leur pour bénéficier de cette plante médicinale dans la pharmacie, la cosmétique, l'industrie alimentaire et dans la lutte biologique.

Ce présent document est présenté en deux parties, une théorique et l'autre pratique.

On a commencé notre travail par le 1er chapitre qui aborde la présentation de la systématique botanique de la plante étudiée. La première partie est relative à l'étude bibliographique des plantes et des huiles essentielles.

Le deuxièmement chapitre, on a présenté les différentes méthodes et techniques d'extractions des huiles essentielles.

En fin de cette partie théorique, on a présenté les méthodes physico-chimiques d'analyses appliquées aux l'huile essentielle.

Dans la partie expérimentale on a extrait l'huile essentielle de *Citronnelle* ; ensuite on a établi les analyses physico-chimiques.

La deuxième partie où nous avons présentés les techniques utilisées :

Extraction de l'huile essentielle de *citronnelle* par l'hydrodistillation. Détermination de quelques caractéristiques physico-chimiques, organoleptiques et de la composition chimique de l'huile essentielle, par la méthode chromatographique GC/MS.

Enfin, présentation de nos résultats et discussions. On termine notre travail avec une conclusion générale et quelques recommandations.



**Etude bibliographique**



Chapitre I :  
Description botanique

## **I.1 Introduction**

Les médicaments les plus importants et les plus sûrs depuis divers sont les plantes médicinales et ils jouent un rôle remarquable dans les soins de santé publics et primaires [3]. Un nombre croissant de consommateurs recherchent de nouveaux produits à base de plantes avec des caractéristiques uniques qui offrent des moments acceptables tout en ayant suffisamment de bienfaits pour la santé [4,5].

Les médicaments à base de plantes ont été produits à partir d'une étude scientifique ou systématique des constituants bioactifs, de l'ethnopharmacologie ou des connaissances indigènes des herbes médicinales [6].

Cela constitue le fondement de l'avancement de la phytochimie. Ces derniers temps, près de 10 000 herbes médicinales ont été documentées et environ 4 500 ont été examinées pour les composants bioactifs et les dosages pharmacologiques [3]. L'une des herbes médicinales aux activités pharmacologiques incommensurables est *C. citratus*. *La citronnelle* (Poaceae) est une graminée vivace uniformément dispersée et trouvée dans les régions tropicales [7], en Amérique du Sud et centrale largement utilisée pour son goût agréable et ses propriétés thérapeutiques [4,8]. Il est largement connu sous le nom de *citronnelle* ou *citratus* mais en raison de sa distribution, il porte plusieurs noms. *Cymbopogon* provient du mot grec « kymbe - pogon » signifiant barbiche (en raison de sa configuration en épi floral) et *citratus* (latin) signifie feuilles parfumées au citron [9].

## **I.2 Généralité sur *Cymbopogon* :**

D'après JACQUES-FELIX (1962) il n'existe que trois espèces du genre *Cymbopogon* en Afrique tropicale occidentale et centrale : *Cymbopogon proximus*, Stapf ; appelé aussi *Cymbopogon schoenanthus* (L) Spreng, *Cymbopogon Giganteus* Chiov. Et *Cymbopogon densiflorus* Stapf, alors que la région du Nil et L'Afrique orientale sont plus riches. *La citronnelle*, *Cymbopogon nardus* Rendl et le Iemon grass, *Cymbopogon citratus* Stapf, probablement d'origine indienne, sont cultivés partout mais ne fleurissent normalement pas en Afrique intertropicale [10].

## **I.3 Définition :**

*Cymbopogon schoenanthus* est une herbe aromatique qui dégage une agréable odeur forte, surtout lorsqu'elle est séchée. Apparaît en colonies étalées constituées de grappes individuelles partant d'une souche en forme de rhizome avec des feuilles allongées enroulées sur elles-mêmes et des tiges florales dressées pouvant atteindre 60 à 80 cm. La base est dure et gonflée. Les tiges poussent à partir de la base de chaque ensemble de feuilles, formant des panicules terminales

allongées composées de plusieurs épis. Les longues inflorescences sont constituées d'agrégats [11].

#### **I.4 Histoire :**

Le nom botanique de la *citronnelle*, *Cymbopogon*, est dérivé des mots grecs kymbe "nacelle" et pogon : "barbe" ; il fait référence à ses oreilles en forme de gousse avec de nombreuses fleurs rappelant les barbes. Originnaire d'Inde, du Sri Lanka et de toute l'Asie du Sud, la *citronnelle* a une longue tradition et est utilisée depuis des siècles, pas seulement à des fins culinaires ou médicinales. La *citronnelle* ou verveine indienne, nommée "Lemongrass" d'après les anglophones, est une herbe très commune en Asie du Sud-Est, d'où elle est originaire.

À partir de 1820, la distillation de l'HE de l'espèce *Cymbopogon* a commencé à être utilisée à des fins commerciales sur le marché mondial. La plante est cultivée pour son huile utilisée comme parfum, arôme et médicament (Iserin, 2001). Son parfum rappelle celui des citrons, d'où vient le nom de la plante. Cette plante vient des tropiques et pousse également en Afrique, en Amérique du Sud et centrale et à Madagascar [12].

#### **I.5 Description botanique :**

Originnaire du Sud de l'Inde et du Sri Lanka, *Cymbopogon citratus* (*C. citratus*), No. ITIS 41613 (Fig I.1) est une herbe aromatique vivace parfumée au citron, non ramifiée, qui pousse en touffes denses. Ces feuilles peuvent mesurer jusqu'à 90 cm de long et 1,25 cm de large. Ils sont solitaires, vert clair, fortement parfumés, allongés et liés ensemble dans une gaine sur une certaine partie de leur longueur. De plus, les bords des feuilles sont transparents, formés de nombreuses petites dents pointant vers le haut de la plante. La partie souterraine de *C. citratus* est constituée de bulbes de rhizomes. Bien que la plante fleurisse rarement, ses tiges florales peuvent atteindre jusqu'à 60 cm de long, avec de nombreuses branches se terminant par des épis verts conglomérés. *C. citratus* se reproduit par rhizomes et pousse bien dans les régions subtropicales et tropicales.



**Figure I.1 :** *Cymbopogon citratus*

**I.6 Classification botanique : [13]**

- Règne : Végétal ;
  
- Sous Règne : Tracheobionta ;
  
- Super Embranchement : Spermatophyta ;
  
- Embranchement : Magnoliophyta ;
  
- Classe : *Liliopsida*
  
- Sous classe : *Commelinidae* ;
  
- Ordre : *Cyperales*
  
- Famille : *Poaceae*
  
- Genre : *Cymbopogon*
  
- Espèce : *Citratus*.

**I.7 Origine :**

La *citronnelle* est une plante originaire du Sud de l'Inde et du Sri Lanka. Cette plante est cultivée dans tous les pays tropicaux ; Le genre *Cymbopogon* compte près de 55 espèces dont l'espèce très répandue *Cymbopogon citratus*, herbacée à longue feuille linéaire originaire de l'Inde [14]. La *citronnelle* est aujourd'hui très cultivée dans les zones tropicales et subtropicales notamment en Asie, en Amérique Central en, Amérique du Sud ainsi qu'en Afrique [14].

### I.8 Huile essentielle de la *citronnelle* :

La *citronnelle*, encore appelée *citronnelle* d'Inde ou de Madagascar ou de Java, est une plante herbacée tropicale de la famille des Poaceae, cultivée pour ses tiges et feuilles aux qualités aromatiques (goût de citron). Son HE est obtenu par distillation des feuilles hachées que l'on récolte plusieurs fois par an. Ses parties utilisées sont généralement les feuilles.

L'HE de *citronnelle* est obtenu par distillation à la vapeur d'eau à partir des feuilles et tiges fraîches ou sèches. La matière fraîche de *citronnelle* contient de 0.26 à 0.52 d'HE et parfois 0.7 et la matière sèche en contient 0.4.

### I.9 Extraction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* ont été extraites, juste après la collecte des feuilles, par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger à partir des feuilles fraîches (2,5 kg), ont été coupées en petits morceaux. Ce processus a été réalisé pendant 2 h après que la solution ait commencé à bouillir. L'hydrolat et l'huile essentielle sont séparés par décantation (Anvisa, 2010). HE a été récupéré dans une bouteille en verre ambré et stocké sous réfrigération à 80°C. Les rendements ont été calculés en fonction du poids du matériel végétal sèche avant distillation (exprimé en pourcentage, p/p, du matériel végétal sec).

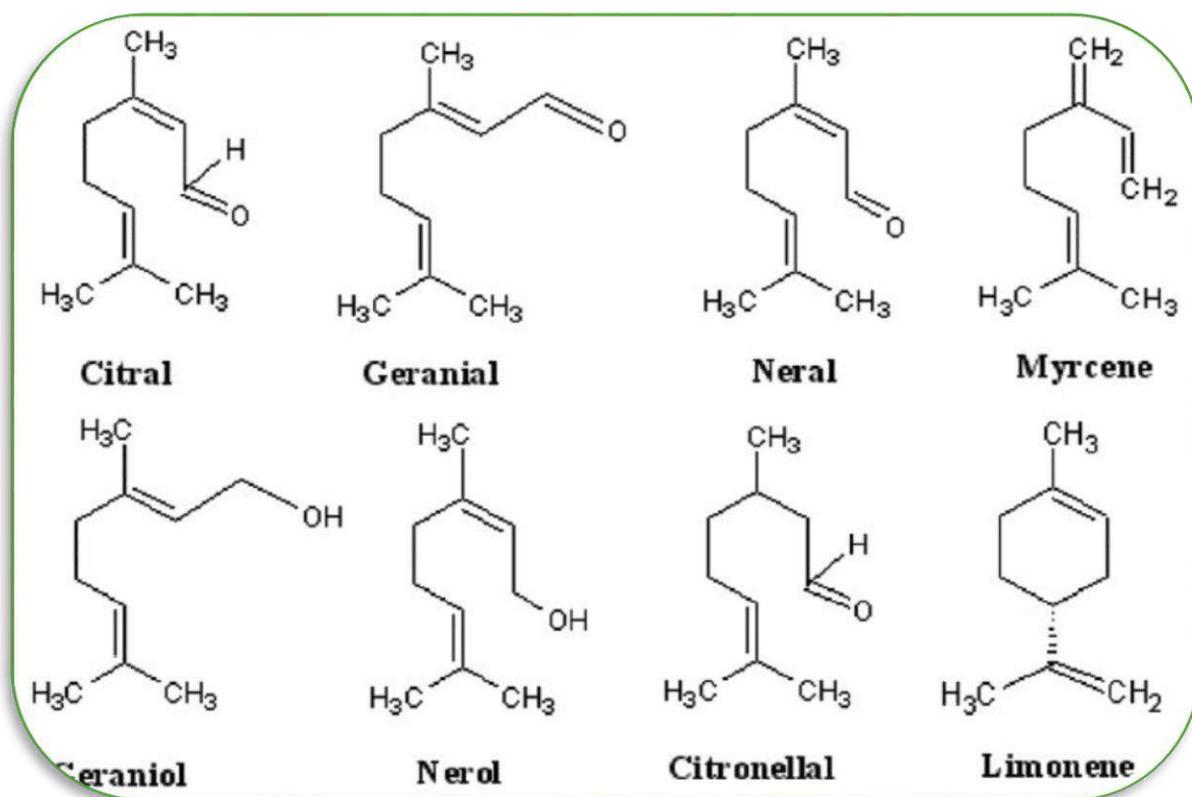


Figure I.2 : Structure chimique des principaux constituants de l'huile essentielle de *citronnelle*

## **I.10 Utilisations traditionnelles**

La *citronnelle* est une plante aromatique et un condiment qui est traditionnellement sollicitée en phytothérapie, dans l'alimentation ainsi qu'en cosmétique à travers le monde tropical à l'état de feuille et également sous forme d'huile essentielle [15,16].

### ***I.10.1 Phytothérapie :***

#### ***I.10.1.1 Utilisation interne :***

En Guyane, les feuilles sont traditionnellement utilisées sous forme de décoction autant chez les créoles que les Palikur pour soigner la fièvre, les maux de gorge et les symptômes grippaux par voie orale [17]. La décoction possède également des vertus anti diarrhéiques, elle facilite le transit gastro-intestinal et soulage les rhumatismes [16].

#### ***I.10.1.2 Utilisation externe***

Chez les Palikur, les feuilles de *citronnelles* sont mélangées avec une autre poacée (*Eleusine indica*), sous forme de macération pour prévenir la chute de cheveux au cours d'un shampoing [17]. En cas de têtes et fièvres sévères, un extrait d'eau chaude préparé à partir des feuilles sèches est utilisé sous forme de bain de tête [14]. L'huile essentielle de *citronnelle*, obtenue par hydrodistillation des feuilles, est traditionnellement employée comme répulsif et insecticide [17].

#### ***I.10.1.3 Alimentation***

La *citronnelle* est traditionnellement utilisée dans la production de certaines boissons. Elle intègre beaucoup la composition de plats, salades et marinades notamment en Thaïlande au Vietnam ou encore au Pérou [15].

#### ***I.10.1.4 Cosmétique***

Grâce à son odeur agréable, l'huile essentielle de *citronnelle* est utilisée comme un ingrédient aromatisant pour parfumer les savons, les bougies, les mosquitos ainsi que d'autres répulsifs [15].

## **I.11 Utilisations traditionnelles de la *citronnelle***

Les feuilles de *citronnelle* contiennent une quantité importante d'huile, qui a des effets antibactériens, carminatifs, fongicides, analgésiques, antiseptiques, astringents, bactéricides et antidépresseurs. En raison de sa capacité à fonctionner comme un antibiotique et un antiseptique, elle peut être utilisée pour traiter la teigne et la maladie du pied d'athlète. La *citronnelle* a un fort effet antimicrobien contre le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM). Elle peut aider à soigner les colites, les indigestions et les gastro-entérites. Elle aide à soulager les maux de tête, les malaises corporels, la fatigue nerveuse et d'autres symptômes liés au stress. Ses infusions sont fréquemment utilisées pour traiter des

maladies comme les maux de gorge, la laryngite et la bronchite. Il a été utilisé pour traiter les troubles gastro-intestinaux. En cas de fièvre, une décoction de feuilles de *citronnelle* est utilisée comme diaphorétique. La *citronnelle* revitalise le corps et améliore le bien-être général. Le thé de *citronnelle* est fréquemment utilisé pour traiter les maladies, la fièvre et la pneumonie. Il favorise la digestion et prévient la cancérogenèse induite par les produits chimiques en régulant les enzymes de métabolisation des xénobiotiques dans le foie et les reins [18,19].

### **I.12 Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle :**

L'analyse de l'huile essentielle de *Cymbopogon Citratus* a été faite par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) [20].

### **I.13 Toxicité :**

Dans le cadre des travaux menés par le TRAMIL, la toxicité d'un extrait aqueux (à 15-25g/L) préparé par décoction à partir des feuilles de *citronnelle* de l'espèce *Cymbopogon citratus* a été évaluée. Pour cela, 500 à 1 000 ml de décoction ont été consommées par des personnes et suite à cela, ces dernières ont ressenti une sensation d'abattement, de tranquillité mais aucun signe objectif ou subjectif de toxicité n'a été observé pendant le traitement phytothérapeutique.

La toxicité aiguë de l'huile essentielle de l'espèce *Cymbopogon citratus* a aussi été évaluée dans le cas d'études expérimentales *in vivo* effectuées sur des groupes de souris. Des doses uniques et des doses répétées sur 21 jours ont été administrées par voie orale chez ces animaux. Après l'injection d'une dose unique d'huile essentielle variant de 5 à 1 500 mg/kg, aucun signe de toxicité n'a été observé par comparaison au groupe de souris témoin. À la dose de 2000 mg/kg, un unique mort a été observé dans le groupe. En revanche, des signes de toxicités ont été relevés chez les animaux qui ont reçu des doses supérieures à 3 000 mg/kg. Aussi, l'administration de doses (1, 10 et 100 mg/kg d'huile essentielle) de *citronnelle* pendant 21 jours n'a induit aucune toxicité chez les groupes de souris testés.

L'ensemble de ces résultats reflètent une faible toxicité de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* qui peut être utilisée sans risques sur de longues périodes, en respectant les doses préconisées [21].

Chapitre III : Notons  
générales sur les huiles  
essentielle

## II.1 Définition et historique :

### II.1.1 Définition :

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles et odorants appelés également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur [22].

Le terme "huile essentielle" a été inventé au XVI<sup>e</sup> siècle par le médecin suisse Paracelsus Von HOHENHEIM pour désigner les composés actifs des médecines naturelles [23].

Le terme "huile" s'explique par la propriété de ces composés à se dissoudre dans les graisses et leur hydrophobicité. Le mot "essentiel" fait référence au parfum, en référence à l'odeur plus ou moins forte émise par les plantes [24].

C'est donc un liquide concentré, très complexe et hydrophobe. Il est obtenu par extraction mécanique, hydrodistillation ou distillation sèche de plantes aromatiques (fleurs, feuilles, bois, racines, écorces, fruits, etc.). Les huiles essentielles sont donc l'essence distillée des plantes aromatiques. Les huiles essentielles sont dérivées des feuilles des plantes et ont une composition chimique variable selon le type chimique, le sol, le climat, la période, le moment de la récolte et les conditions de stockage. [25].

-Une huile essentielle déterpénée est une huile essentielle privée, partiellement ou totalement, des hydrocarbures monoterpéniques.

-Une huile essentielle déterpénée et désesquiterpénée est une huile essentielle privée, partiellement ou totalement, des hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques.

- Une huile essentielle rectifiée est une huile essentielle qui a subi une distillation fractionnée dans le but de supprimer certains constituants ou d'en modifier la teneur.

- Une huile essentielle privée de « x » est une huile essentielle qui a subi une séparation partielle ou complète d'un ou plusieurs constituants [26].

### II.1.2 Historique :

Les premières preuves de la fabrication et de l'utilisation des huiles essentielles remontent à environ 3000 av. Il existe d'autres traces de la continuation et de l'évolution de ces pratiques.

Ainsi, les huiles essentielles semblent avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses origines les plus lointaines. Les Égyptiens, les Grecs et les Romains utilisaient une variété de matières végétales et de produits dérivés de celles-ci, y compris des huiles essentielles.

Ces usages recouvrent différents domaines : parfumerie, médecine, cérémonies religieuses, pratiques païennes, alimentation, etc. Par exemple, chez les Romains et les Grecs, le romarin et le thym étaient considérés comme des signes décoratifs de victoire dans la liturgie et les célébrations. Les Arabes utilisaient abondamment les médecines naturelles, c'est pourquoi la serpentine a été inventée au milieu du Moyen Âge pour améliorer la réfrigération et la distillation des produits distillés. Au 14<sup>ème</sup> siècle, des appareils de distillation ont été développés et trouvés dans les laboratoires médicaux et alchimiques. Seule la térébenthine est une véritable huile essentielle [23].

Cependant, les vrais fondateurs de l'aromathérapie sont les Arabes qui, avec l'invention de l'alambic ont affiné la technique de la distillation. Avicenne (980-1037), produit la première huile essentielle pure, l'huile essentielle de Rosa centifolia, et en décrit plusieurs autres dans le « Canon de la médecine ». Ibn khaldoun, pour sa part, donne de nombreux détails techniques sur l'art de la distillation à feu nu et sur la fabrication de sucres végétaux et des huiles par pression [26].

Aujourd'hui, des médecins (Valnet, Duraffourd, Lapraz, d'Hervincourt, Belaiche), des chercheurs (P. Franchomme) et des pharmaciens (D. Baudoux) ont définitivement établi la réputation, l'efficacité et l'extraordinaire richesse des huiles essentielles [23].

## **II.2 Rôle et propriétés des huiles essentielles chez les plantes :**

Le rôle des huiles essentielles dans la physiologie de la plante reste encore mal connu.

Toutefois, Elles sont en général considérées comme des déchets du métabolisme ou des sous-produits de l'activité métabolique d'une plante [27].

Cependant, plusieurs effets apparents utiles ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines. Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et les microorganismes, favorisaient ainsi la pollinisation [28]. D'autres auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal, assurer leur ultime défense et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement [29].

## **II.3 Composition des huiles essentielles :**

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles montre qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants est due exclusivement à deux groupes caractérisés par

des origines biogénétiques sont : les trapézoïdes et les composés aromatiques dérivés du phenyl propane [30].

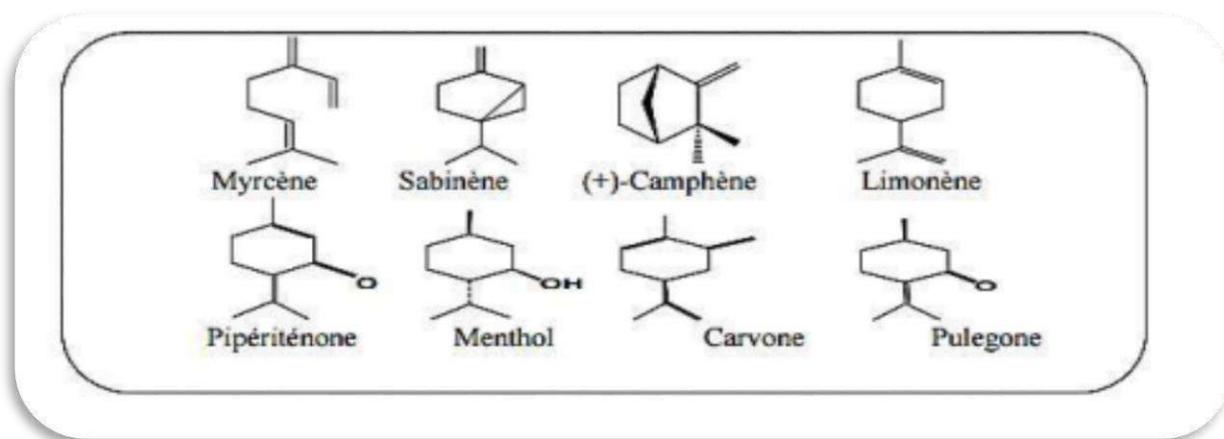
Les constituants des huiles essentielles possèdent un squelette hydrocarboné qui peut être linéaire, cyclique ou encore aromatique. Ils peuvent posséder toutes les grandes fonctions de la chimie organique : des alcools, des composés carbonylés (principalement aldéhydes et cétones), des esters, des phénols et, dans une moindre mesure, des dérivés azotés et soufrés. Néanmoins, Les terpènes (hydrocarbures en C10 ou C15) et terpénoïdes (terpènes fonctionnalisés) sont, de loin, les plus abondants [31].

### **II.3.1 Terpènes :**

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans L'essence de térébenthine. Les terpénoïdes Dans les huiles essentielles, sont celles qui ont la masse moléculaire n'est pas élevée c'est à dire, ceux dont les molécules les plus volatils. Ils portent dans la plupart des cas la formule générale  $(C_5H_8)_n$ . Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n =1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. Les constituants des huiles essentielles sont très variés On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres [32].

#### **✓ Monoterpènes :**

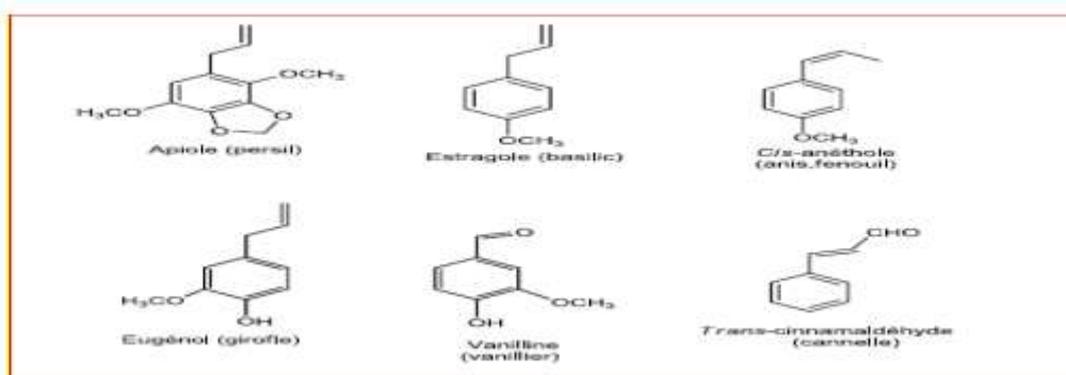
Les monoterpènes contiennent plus de 900 composés connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurelles : les monoterpènes linéaires (acyclique) : (myrcène, ocimènes), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) : ( $\alpha$ - et  $\gamma$ terpinène, p-cymène) et ceux avec deux cycles (Bi cycliques) : (pinènes,  $\Delta^3$ -carène, camphène, sabinène). Ils résultent d'une fusion typique tête-à-queue des unités d'isoprène [33]. Selon Brunet on (1999), la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions : alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols [34].



**Figure II .1:** Structure chimique de quelques monoterpènes [30]

### II.3.2 Les composés aromatiques :

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes (Figure II.2). Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénoïl, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les HE d'Apiaceae (anis, fenouil, cannelle, basilic) [34].



**Figure II.2 :** Structure chimique de quelques composés aromatiques [30]

### II.3.3 Composés d'origines diverses :

Compte tenu de leur mode d'extraction, l'huile essentielle peut renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation. Ces produits peuvent être azotés, soufrés, des carotènes ou des acides gras.

Alcools : Menthol, géranol, linalol,

Aldéhydes : Géraniale, citronellal,

Cétones : Camphre, pipéritone

Phénols : Thymol, carvacrol ...

Esters : Acétate de géranyle.

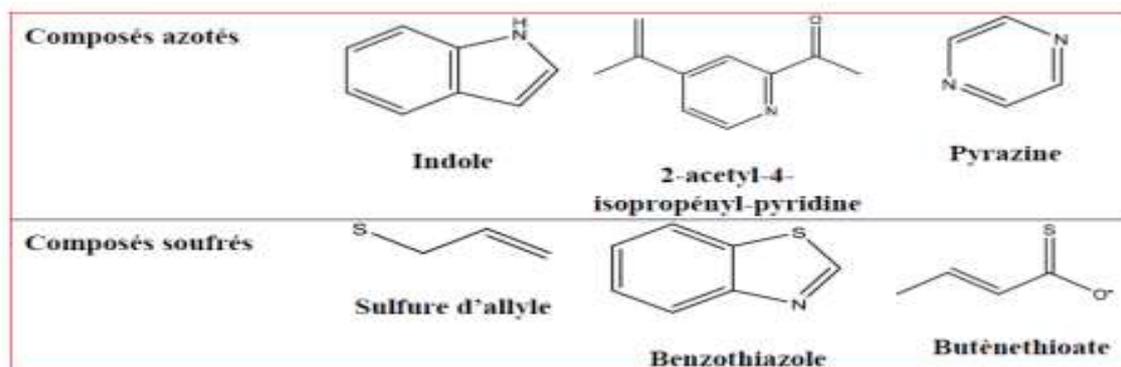
Acides : Acide géranique

Oxydes : 1,8-cinéole,

Phénylpropanoïdes : Eugénol.

Terpènes : Limonène, para-cymène

Autres : Ethers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpène, etc. [32]



**Figure II.3:** Structure de quelques composés azotés et soufrés [32]

#### II.4 Classification et origine des huiles essentielles

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens, et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogrammes, classent les huiles essentielles comme suit : [35].

- Les huiles majeures
- Les huiles médiums
- Les huiles terrains

Les huiles essentielles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à Huile essentielle, cellules à poils sécréteurs (comme dans la menthe), canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif : protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores [36].

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origine végétale restent identiques. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillat comme celillustré dans figure [37].

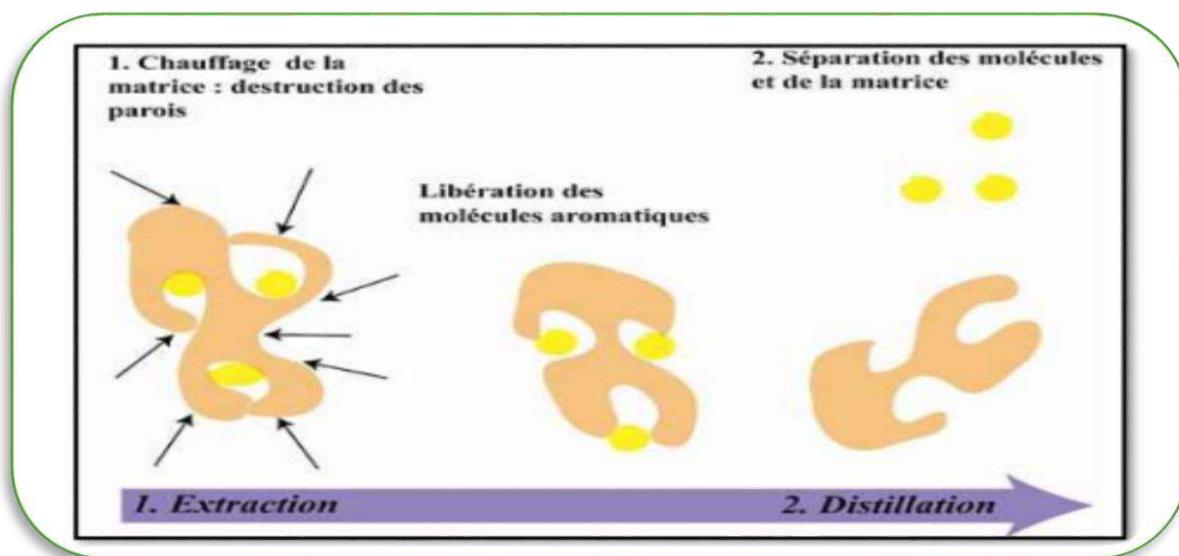


Figure II.4: Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle [37]

### II.5 Domaines d'utilisation des huiles essentielles :

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plants aromatiques et leurs essences trouvent leur emploi dans de multiples domaines tels que : l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie, l'aromathérapie [37].

#### II.5.1 Industrie agro-alimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées en agro-alimentaire comme aromates dans les Préparations culinaires. Plusieurs secteurs alimentaires sont consommateurs :

- De nombreux arômes de fruits sont utilisés dans les laitages,
- Les boissons non alcoolisées font appel aux huiles essentielles d'agrumes, de menthes, etc.
- Les plats cuisinés utilisent les plantes aromatiques sous toutes leurs formes : oléorésines et huile essentielles mais aussi sous formes fraîche, sèche ou surgelée ;
- La charcuterie, les sauces, vinaigres, moutardes font appel à de nombreuses formes de présentations des plantes aromatiques ;
- La liquoristerie utilise largement les huiles essentielles anisées (fenouil, anis, badiane, etc.)

Les huiles essentielles sont des concentrés à odeur et saveur très agréables qui présentent une alternative à l'usage des plantes entières, qu'il s'agisse de la menthe, du citron, du thym, du basilic, etc... [38].

#### II.5.2 Industrie parfumerie et cosmétique :

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique.

Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du par fumage, des savons et des cosmétiques.

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence d'huiles essentielles dans les préparations derme- pharmacologique (bais « calmant » ou relaxant »), et leur emploi

dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle, qui est utilisées. On notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques [39].

### ***II.5.3 Industrie pharmaceutique :***

Les huiles essentielles constituent le support d'une pratique de soins particulière :

L'aromathérapie. Elles ont grande intérêt en pharmacie, elles s'utilisent sous la forme de préparations galéniques, et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange etc.) Tout fois, il faut souligner que la majorité des constituants de ces derniers sont lipophiles, et de ce fait, rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, par voie cutanée ou par voie digestive [22].

# Chapitre III : Techniques d'extraction des huiles essentielles

### III.1 Extraction par l'hydrodistillation :

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat [41].

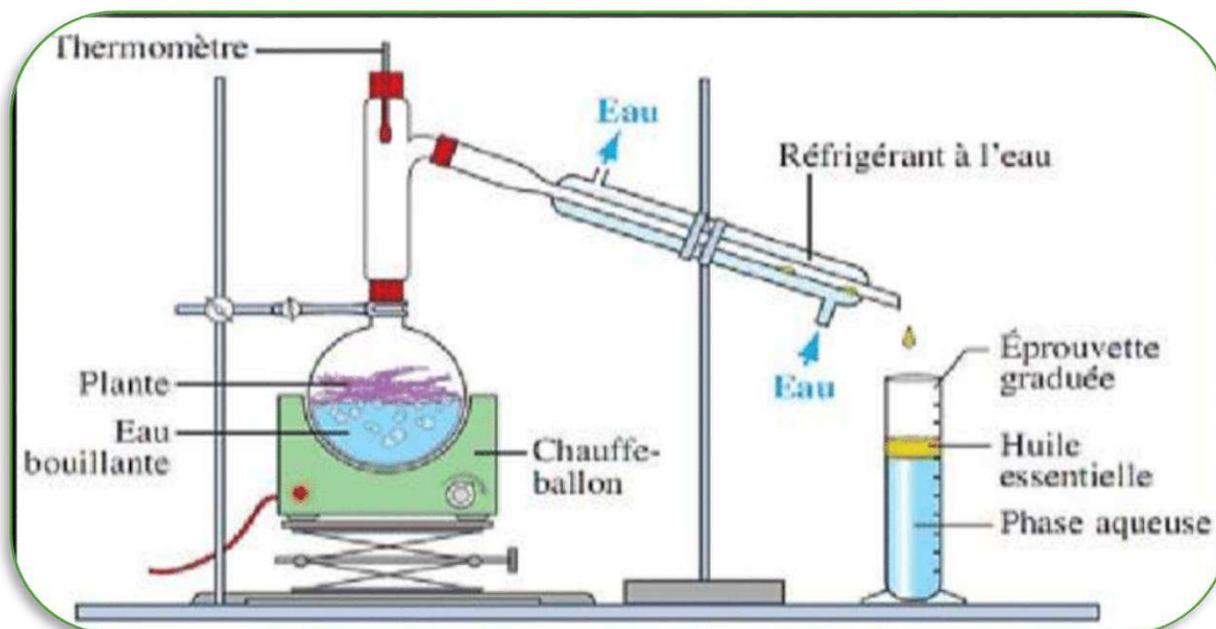


Figure III.1 : Montage d'extraction par Hydro distillation [40]

### III.2 Extraction par Entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur constitue la technique la plus utilisée et la plus aisée à mettre en œuvre pour la production d'huiles essentielles et demeure sans doute la plus rentable, vraisemblablement en raison de l'investissement matériel relativement peu important. L'extraction par distillation par entraînement à la vapeur d'eau sous basse pression. Le procédé consiste à mettre la partie souhaitée du végétal dans une cuve. Celle-ci va être traversée par de la vapeur d'eau qui va entraîner les molécules aromatiques de la plante. Ce mélange va passer dans une colonne réfrigérante où il va se condenser. L'huile essentielle se sépare par décantation. En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux :

- Au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau.
- Au niveau inférieur du distillat, si elle est plus dense que l'eau. [40, 42, 43].

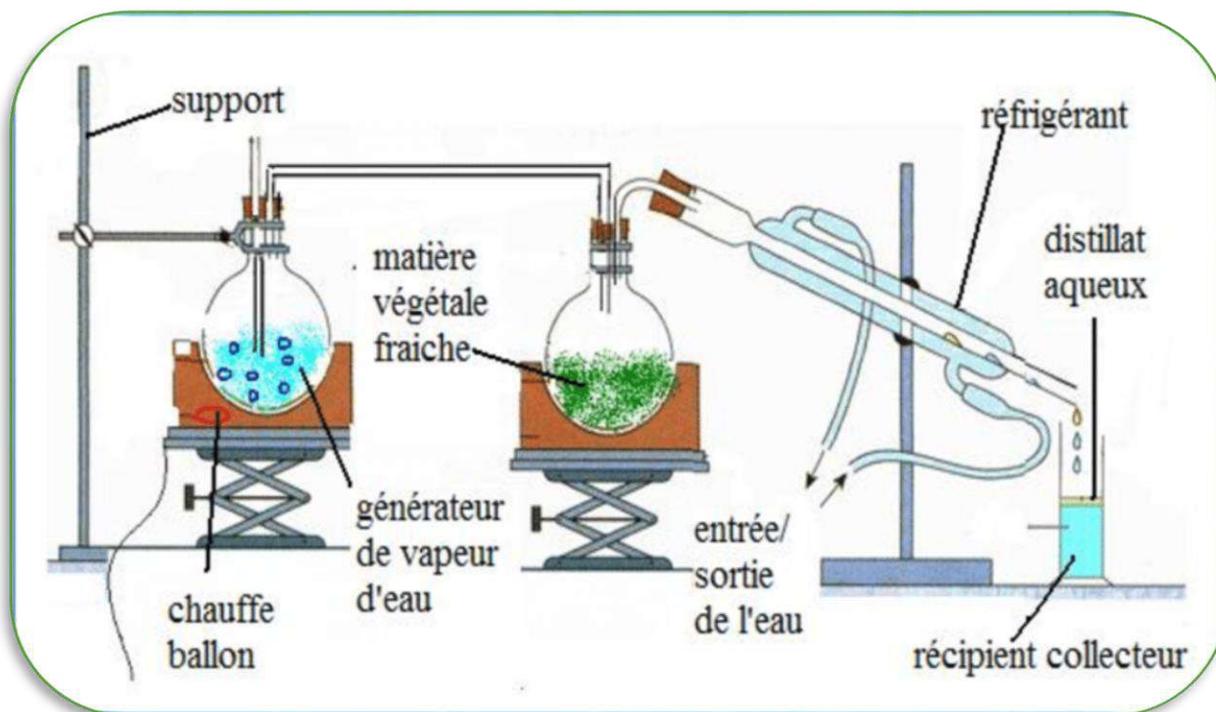


Figure III.2: Montage d'entraînement à la vapeur d'eau [42]

### III.3 Hydro-diffusion :

C'est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans le cas de l'hydro-diffusion, le courant de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eaux- HE » dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur, L'hydro-diffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact direct l'eau et la matière végétale [44].

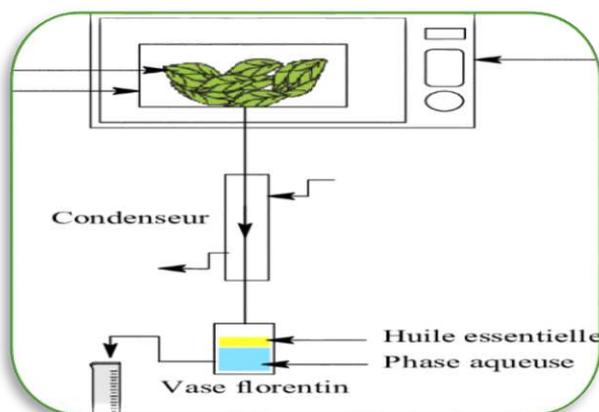


Figure III.3 : Montage d'Hydro diffusion

### III.4 Expression À froid :

L'extraction par expression à froid, est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Cette technique sans chauffage est réservée à l'extraction des zestes des agrumes. Le principe est mécanique. Il est fondé sur la rupture des péricarpes, réservoirs d'essences olfactives, en passant les agrumes sur des récipients dont les parois sont recouvertes de pics en métal. L'essence est libérée par un courant d'eau, puis décantée. La présence de l'eau peut entraîner des phénomènes d'hydrolyse, de contamination par des pesticides résiduels ou des micro-organismes. Une nouvelle technique physique basée sur l'ouverture des sacs oléifères par éclatement sous l'effet soit d'une dépression, soit par abrasion de l'écorce fraîche, éliminerait l'eau et diminuerait les effets d'oxydation des composés de ces essences [45].

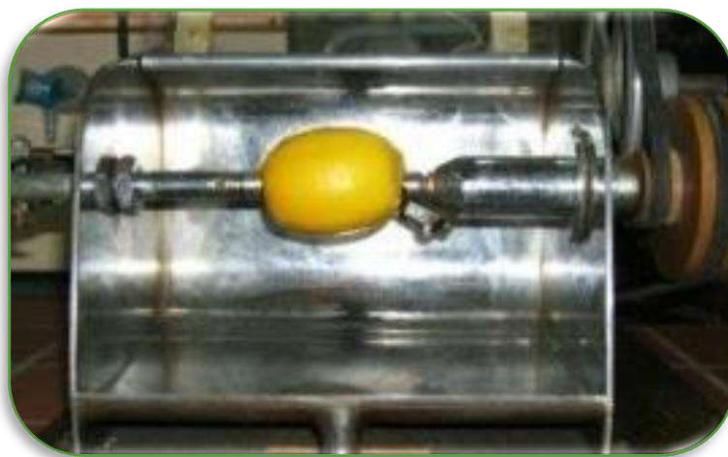


Figure III.4 : Montage d'extraction par la méthode d'expression à froid

### III.5 Extraction par solvants :

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les HE que l'on ne peut extraire par distillation. Elle consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, puis envoyé au concentrateur pour y être distillé, afin d'obtenir « concrète ». Cette dernière pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une concentration, on obtient une « absolue ». Le solvant choisi devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait [46, 47].

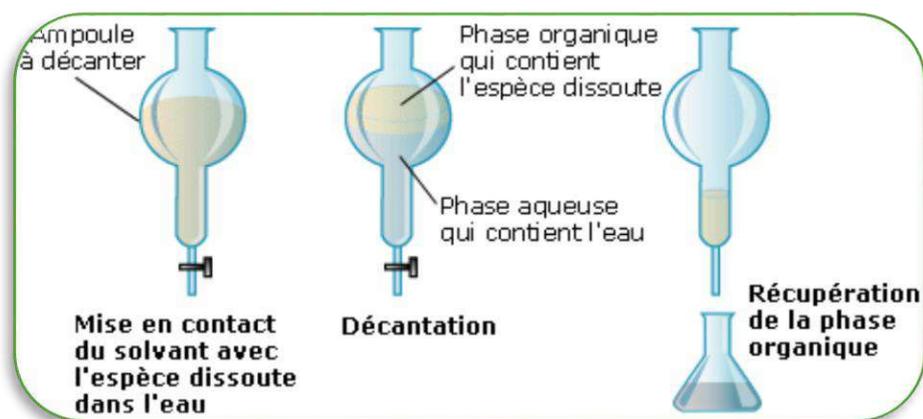


Figure III.5 : Montage Extraction par solvants

### III.6 Enflourage :

L'enflourage est l'un des plus anciens procédés. Il est basé sur l'affinité des parfums pour les graisses. Pratiquement, on dépose manuellement et délicatement les pétales de fleurs une à une sur des plaques de verre enduites d'une mince couche de graisse inodore. Puis, on superpose ces plaques sur des châssis de bois. Les substances volatiles diffusent et sont absorbées par la couche de graisse. Une fois la graisse parfumée recueillie, on la fond au bain-marie, on la décante et on la filtre. Après refroidissement on obtient une pommade florale qui restitue fidèlement l'odeur de la fleur et qui est ensuite épuisée à l'alcool. Dans ce système d'extraction, on distingue deux méthodes selon la résistance de la plante à la chaleur :

- L'enflourage à froid, permet de traiter les fleurs les plus délicates (comme le jasmin ou la tubéreuse).
- L'enflourage à chaud, consiste à faire infuser les fleurs les moins Fragiles (telles que la rose de Mai, la cassie, la violette ou la fleur d'oranger) [44, 48].

### III.7 L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique :

Le principe est d'utiliser le gaz CO<sub>2</sub> mis dans un état supercritique ( $T_c = 303^\circ\text{K}$ ,  $P_c = 73,8$  bars) qui est dans cet état capable de dissoudre de nombreux composés organiques tels que HE. La matière végétale est chargée dans l'extracteur et CO<sub>2</sub> supercritique (sous pression et réfrigéré). Ce mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO<sub>2</sub> s'évapore et il ne reste plus que l'huile essentielle. L'intérêt s'est porté tout particulièrement sur le CO<sub>2</sub> car, celui-ci présente atouts : naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, facile à éliminer totalement, sélectif, aisément disponible et peu coûteux [46].

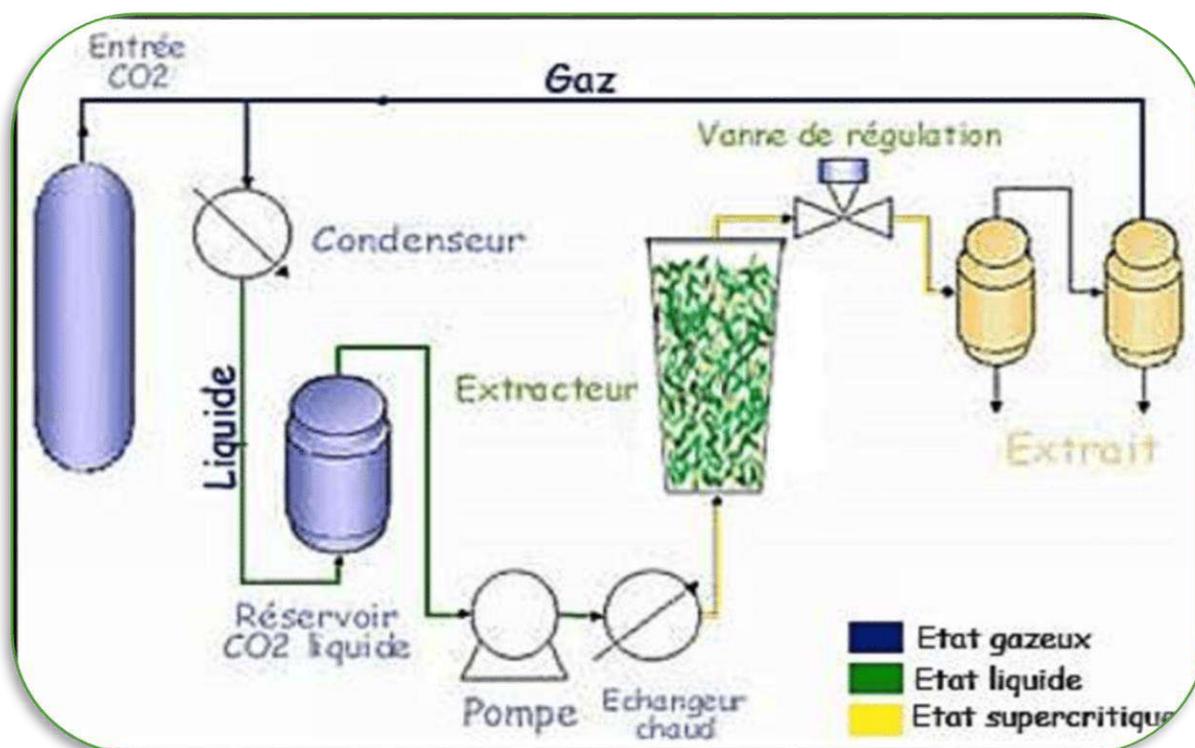


Figure III.6 : Montage d'extraction par les fluides supercritiques

### III.8 Extraction assistée par micro-ondes :

C'est un procédé utilisant les microondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances. Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé qui conduit à vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre ensuite l'extract [44, 49].

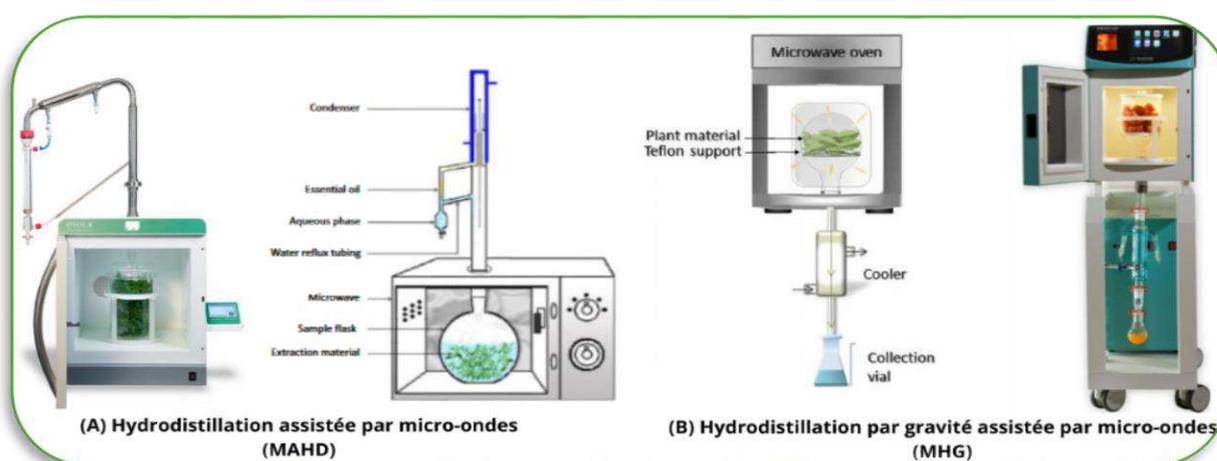
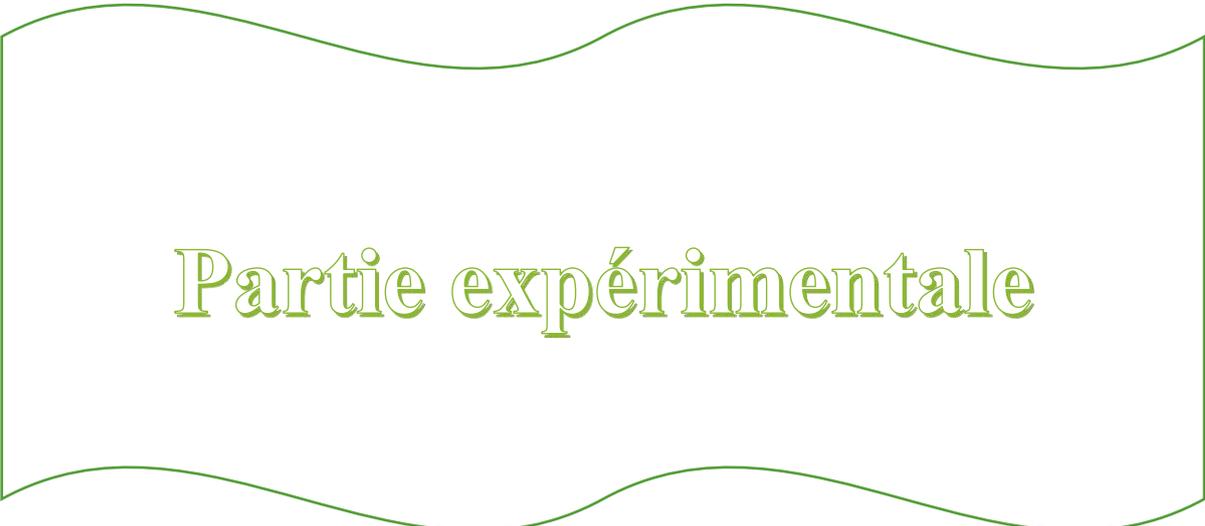
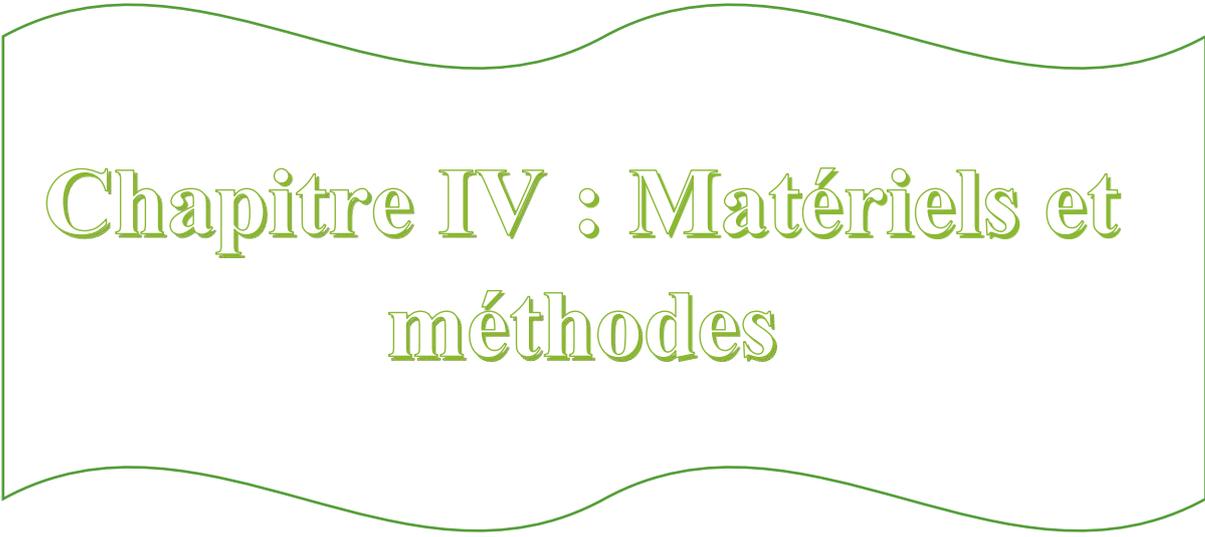


Figure III.7 : Montage d'extraction assistée par micro-ondes



# Partie expérimentale



# Chapitre IV : Matériels et méthodes

## **IV.1 Introduction :**

Dans ce mémoire, l'étude s'est portée sur l'HE de la *Citronnelle* provenant de Hassi Miloud (Wilaya d'Ouargla). Dans cette partie en présente, le matériel végétal à partir duquel l'HE a été obtenu, et les différents protocoles d'analyses employés pour la caractérisation d'HE.

### ***IV.1.1 Présentation de la zone d'échantillonnage :***

Hassi Miloud est un village de la wilaya de Ouargla, située à 13 km au Nord d'Ouargla.

Le territoire du village de Hassi Miloud est situé au Nord-Ouest de la wilaya.

Délimitée au Nord, par la commune de N'Goussa, à l'Est, par le village d'Aouinet Moussa, au Sud, par le village de Bour El Haicha.



**Figure IV.1 :** Localisation de la zone d'étude « Hassi Miloud »

Les différentes étapes de notre travail sont résumées dans le diagramme ci-dessous

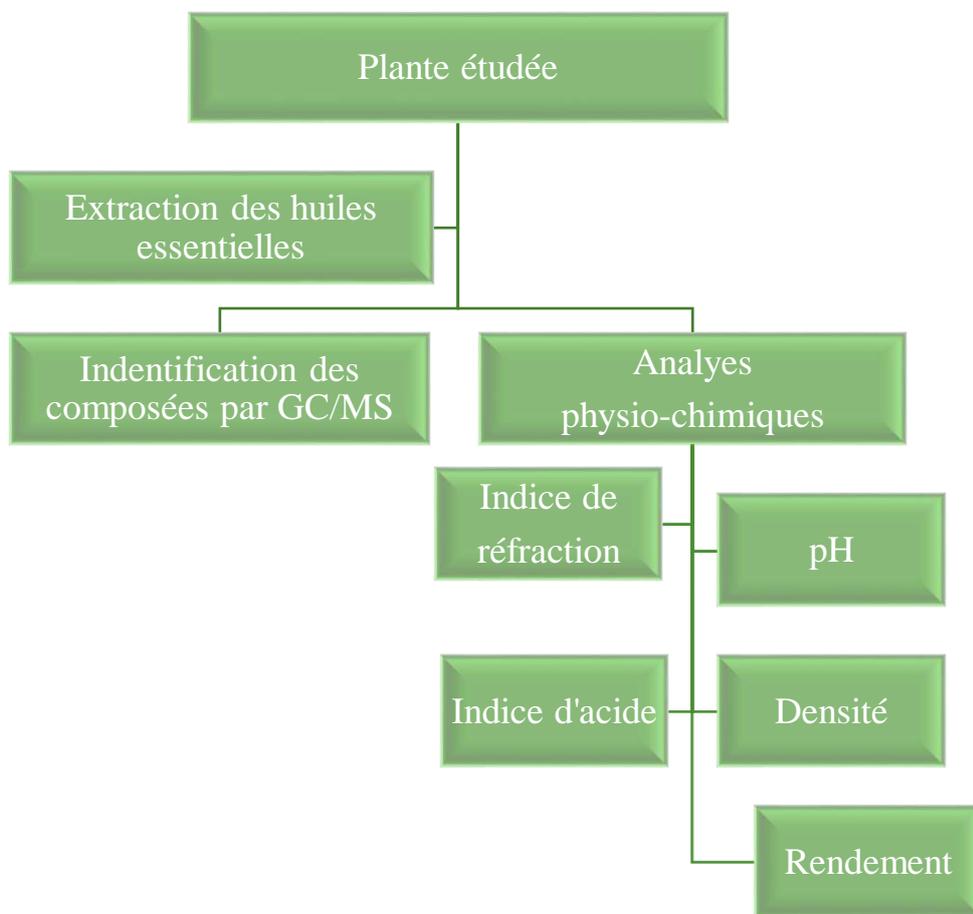


Figure IV.2 : Diagramme général du protocole expérimental

## IV.2 Matériel :

### IV.2.1 Matériel biologique :

#### IV.2.1.1 Matériel végétal :

Il est constitué de la plante *citronnelle* G fraîche et D séché qui est collectée au niveau de wilaya d'Ouargla (Sud-Est d'Algérie) en mars 2023. Le séchage de la plante fraîche est effectué pendant trois jours à l'air ambiant avant l'extraction (figure IV.3).



**Figure IV.3 :** La plante *citronnelle* (G fraîche, D séché)

#### IV.2.1.2 Matériel et produits du laboratoire :

**Tableau IV.1 :** Matériels et produits utilisés

Matériel	Produits
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ballon de 2000ml</li> <li>- Réfrigérant</li> <li>- Tête de colonne</li> <li>- Cristalliseur de 180ml</li> <li>- Ampoule à décanté de 60ml</li> <li>- Entonnoir</li> <li>- Fiole jaugée de 1000ml</li> <li>- Support élévateur</li> <li>- Chauffe ballon</li> <li>- Thermomètre</li> <li>- Condenseur Liebig</li> <li>- Balance Kern (<math>10^{-4}</math>)</li> <li>- Réfractomètre Abbé de Carl Zeiss</li> <li>- Papier d'indicateur de Ph</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Citronnelle</i> fraîche</li> <li>- <i>Citronnelle</i> séché</li> <li>- Eau</li> <li>- Eau déminéralisée</li> <li>- Ethanol 98°</li> <li>- Hydroxyde de potassium</li> <li>- Phénolphtaléine</li> <li>- Chlorure de sodium</li> </ul>

### IV.3 Extraction des huiles essentielles :

L'extraction d'huile de G fraîche et D séché a été réalisé au niveau du centre de recherche scientifique, laboratoire de génie de procédé à l'Université de Kasdi Merbah Ouargla par la méthode d'hydrodistillation.

#### a. Principe et procédé d'hydrodistillation :

La distillation est plus particulièrement l'hydrodistillation, est une technique basée sur le changement d'état liquide-vapeur des espèces chimiques.

Un échantillon de matière végétale est placé dans un ballon de 2000ml puis immergé dans l'eau (2/3 de la capacité du ballon) qui ainsi porté à ébullition. L'ensemble a été ensuite porté à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs générées après ébullition sont dirigées vers un réfrigérant ou elles vont se condenser pour former des gouttelettes d'huile essentielle. La récupération de cette dernière, accumulée dans l'essencier a été faite après 2h d'extraction. Le distillat est récupéré dans une ampoule à décanter.



Figure IV.4 : Montage d'hydrodistillation LGP-UKMO (photos originales)

**b. Séparation liquide liquide :**

Le distillat obtenu est trouble car il contient de *citronnelle* et l'eau. Afin de faciliter leur séparation, on ajout une solution aqueuse de chlorure de sodium dans le distillat recueilli. Pour séparer les deux phases on utilise une ampoule à décanter. Un récipient placé sous le robinet permet de récupérer l'eau qui reste dans l'ampoule peut ensuite être récupérer dans un deuxième récipient.

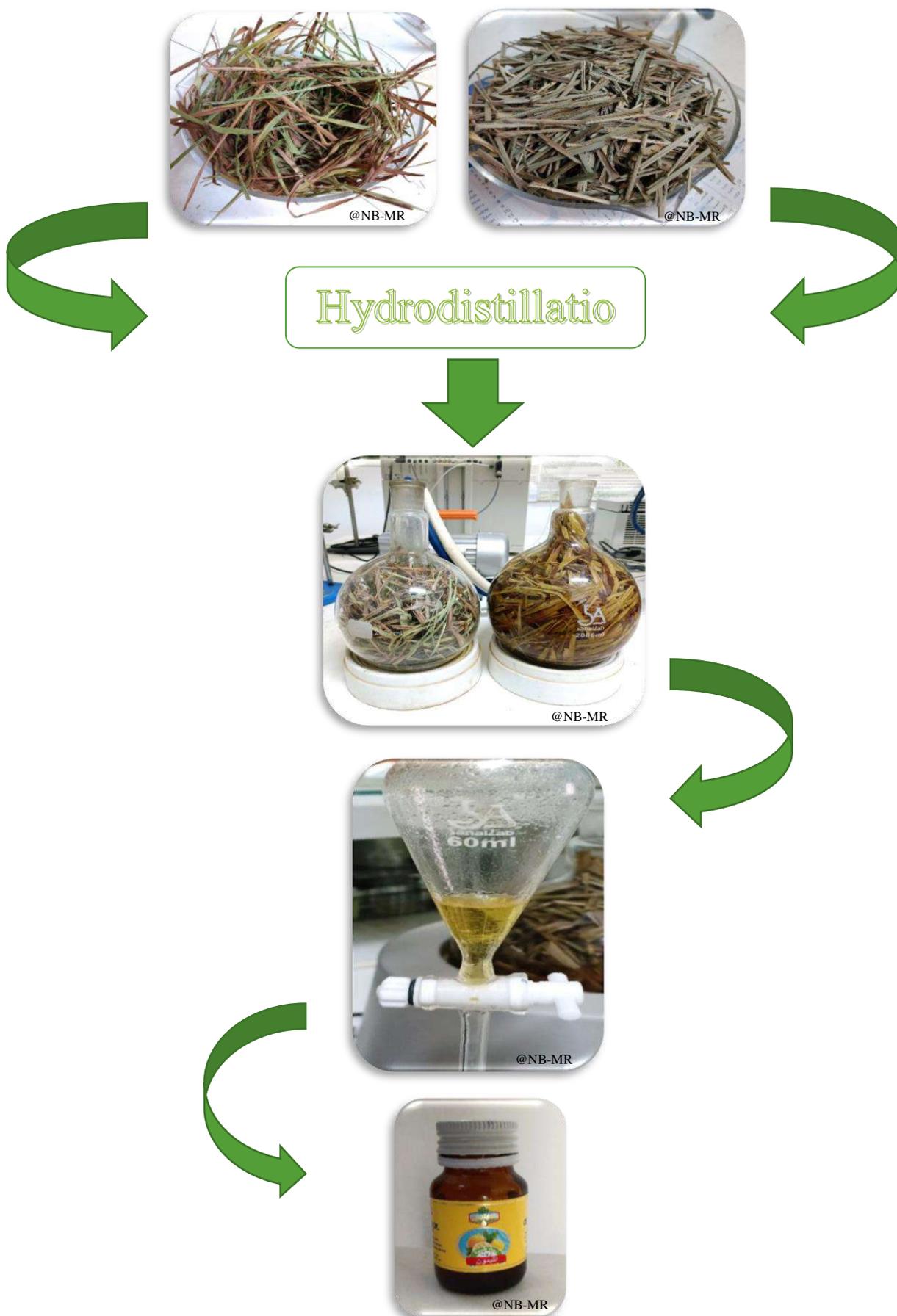


Figure IV.5 : Protocole d'extraction par hydrodistillation

#### **IV.4 Détermination des paramètres physico-chimiques et caractérisation chromatographiques :**

##### **IV.4.1 Détermination le rendement d'extraction :**

L'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles de la plante étudiée, pour définir la valeur maximale du rendement en fonction du temps de séchage et dans les mêmes conditions de travail. Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal sèche utilisé pour cent [50]. Après récupération des huiles essentielle, le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = \frac{m}{m_s} \times 100$$

**RHE** : rendement en HE de la plante %.

**m**: masse d'HE obtenus en gramme g.

**ms**: masse de la plante utilisée en gramme g.

##### **IV.4.2 L'indice d'acide :**

L'indice d'acide est le nombre de milligramme de potasse nécessaires à la neutralisation des acides organiques libres contenues dans un gramme d'huile (Mg KOH/ g d'huile)

L'acidité est un l'un des critères importants à prendre en compte dans les procédures de surveillance de la qualité des HEs. Elle augmente généralement lorsque des acides organiques se forment par suite de l'oxydation

La formule suivante sert à calculer cette mesure chimique :

$$\text{IA} = \frac{V \cdot N \cdot M}{m}$$

**V** : le volume en millilitre, de solution de KOH à utiliser pour le titrage.

**M** : masse molaire de KOH (56.11 mol /l) ;

**N** : normalité de la solution de KOH ;

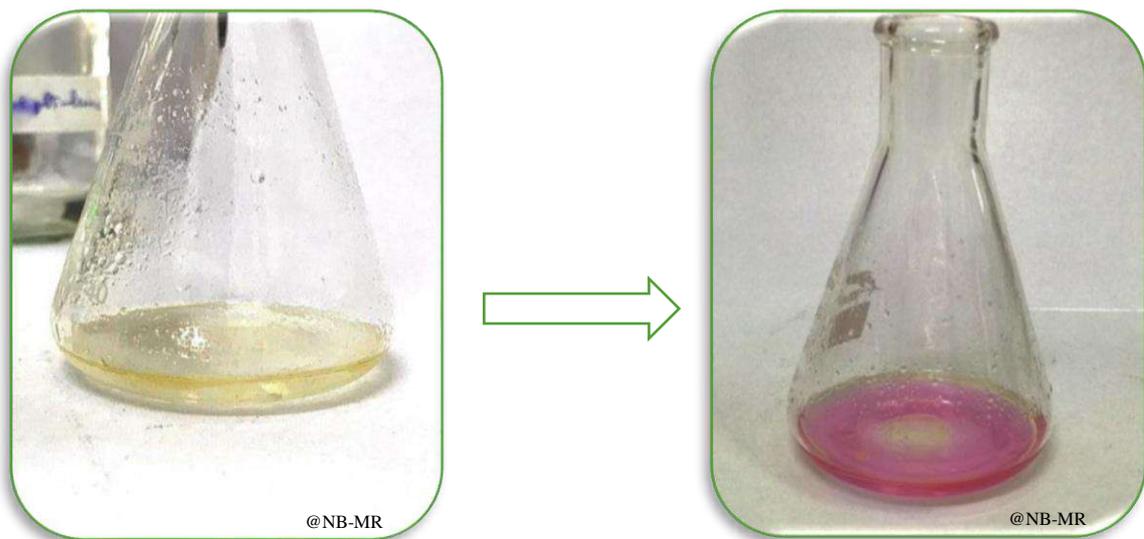
**m**: la masse, en gramme de la prise d'essai ;

##### **Mode opératoire :**

- Peser 1ml d'HE dans un bécher
- Introduire dans ce bécher 10 ml d'éthanol et 5 gouttes de phénolphtaléine pour trouver la zone de virage.
- Procéder au titrage du liquide avec une solution de KOH (0,1N) contenue dans une burette de 10 ml jusqu'à obtention d'une couleur rose persistante
- Noter le volume de la solution de KOH utilisé.



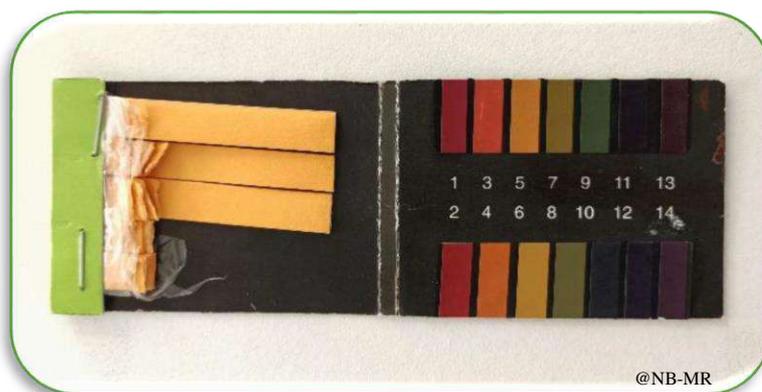
**Figure IV.6 :** Le volume de KOH utilisé



**Figure IV.7:** Couleur de la solution à titré avant et après l'équivalence, respectivement

#### ***IV.4.3 Mesure du Ph :***

Le pH abréviation de potentiel d'hydrogène mesure l'activité chimique des ions hydrogènes ( $H^+$ ). Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre.



**Figure IV.8:** Papier indicateur de pH

**Mode opératoire :**

- En déposant une goutte d'huile essentielle (de pH inconnu) sur un morceau de papier pH.
- On détermine une valeur approximative de la valeur du pH en comparant la couleur obtenue avec celle de l'échelle.

**IV.4.4 L'indice de réfraction :**

L'indice de réfraction d'huile essentielle est mesuré avec un réfractomètre Abbé de Carl Zeiss. Ce réfractomètre est basé sur le principe de déviation angulaire provoquée par la réfraction de la lumière.

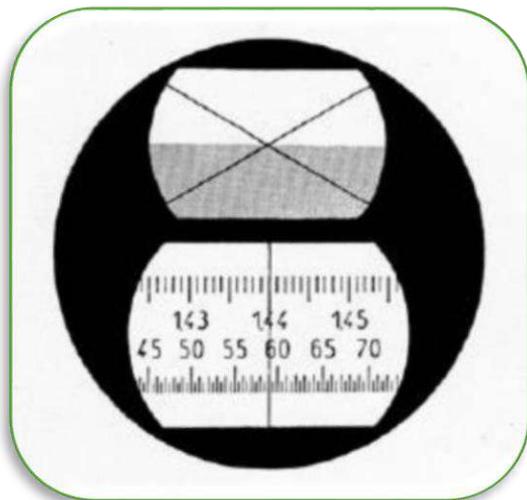


**Figure IV.9 :** Réfractomètre Abbé de Carl Zeiss

**Mode opératoire :**

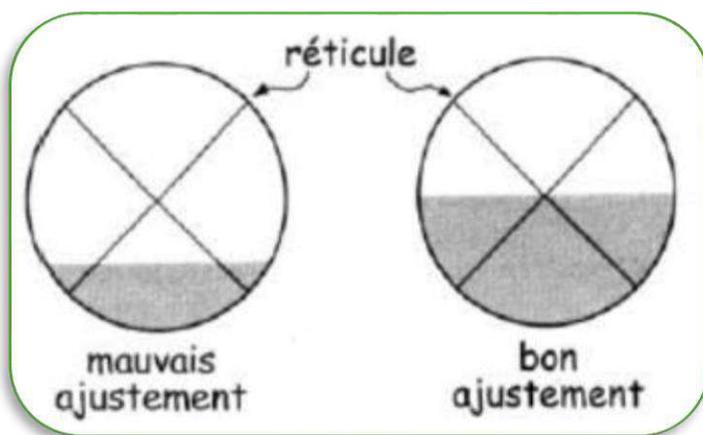
- Etalonner l'appareil par l'eau distillée.
- Nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant un papier.

- Déposer quelques gouttes d'HE dans la lame et régler le cercle de chambre, sombre et claire dans la moitié.
- Vérifier que la lumière peut entrer dans l'instrument.
- Regarder dans l'oculaire, vous verrez deux zones.



**Figure IV.10:** champ de vision du refractomètre

Il faut d'abord ajuster le refractomètre en se servant de la zone du haut. On ajuste la position de la frontière entre la partie supérieure claire et la partie inférieure sombre de façon à ce qu'elle se trouve au centre du réticule (IV.10), à l'aide de la grosse molette d'ajustement située en bas à droite (IV.11) .



**Figure IV.11:** Ajustement de la position de la frontière claire-sombre

- Effectuer la lecture en prenant compte la température (20 °C).
- Vers la fin en calcule l'indice de réfraction par la formule suivante :

$$nD^{20} = nD^T + (T - 20) \times 0.045$$

$nD^{20}$  : l'indice de réfraction de référence ;

$nD^T$  : l'indice de réfraction mesurée ;

$T$  : Température de l'échantillon lors de mesure.

#### IV.4.5 La densité :

La densité ou la masse volumique est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume, donc c'est le rapport du poids d'un certain volume d'un corps et le poids du même volume d'un corps de référence (eau) (AFNOR, 2000).

A l'aide d'une balance peser une seringue vide puis peser la même seringue contenant 1 ml d'HE, le calcul de cette grandeur est effectuée par la formule suivante.

$$d^{20} = d^T + (T - 20)0.00073$$

$d^{20}$  : la densité à 20°C ;

$d^T$  : la densité expérimentale ;

$T$  : température expérimentale.



Figure IV.12 : La masse la seringue vide



**Figure IV.13** : La masse de la seringue remplie d'HE

***IV.4.6 Détermination de la composition chimique des huiles par GC/MS :***

Cette étape a été réalisée au niveau de laboratoire de génie de procédé université Kasdi Merbah Ouargla pour qualifier la composition chimique de nos échantillons. L'analyse chromatographique de l'HE a été effectuée avec un chromatographe en phase gazeuse type (Bruker Scion 436 GC) couplé à un spectromètre de masse (IV.14). La fragmentation est effectuée par impact électronique. (70 eV).



**Figure IV.14 :** Appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse GC/MS – LGP/UKMO



Chapitre V :  
Résultats et Discussions

### V.1 Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *citronnelle* :

Les caractéristiques organoleptiques de notre huile essentielle sont résumées dans le

Tableau suivant :

**Tableau V.1** : propriété organoleptique d'HE de *citronnelle*

	Aspect	Couleur	Odeur
Notre huile	Relativement liquide	Jaune	Citronnée

### V.2 Rendement d'extraction :

Le rendement en huile essentielle atteint un maximum de 0.41. Il faut noter que le rendement et la composition chimique des HE dépendent de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, le milieu de récolte, la période de récolte, les pratiques culturales et la technique d'extraction.



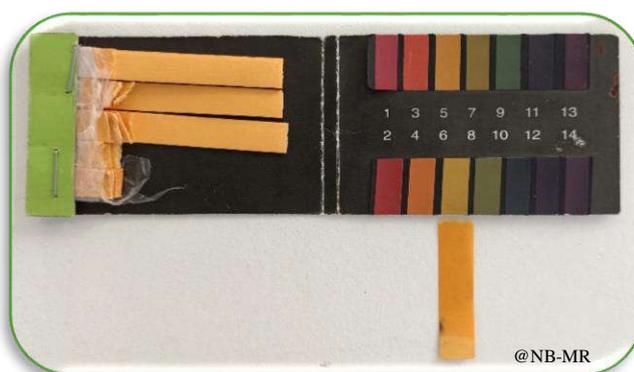
**Figure V.1** : Récupération de l'huile essentielle

**Tableau V.2** : le rendement d'huile essentielle de *citronnelle*

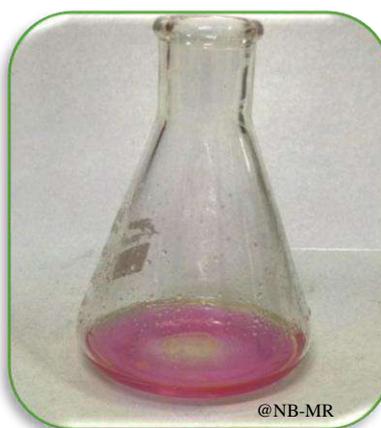
	Résultat pratique	AFNOR ISO
Rendement %	0,41	0.3 - 5

**V.3 Analyses physico-chimiques :**

Les résultats des analyses physico-chimiques d'huile essentielle de *citronnelle* sont résumés dans le tableau suivant :



**Figure V.2** : Résultat de Ph



**Figure V.3** : Point de virage de titrage de la solution de l'huile d'extrait

**Tableau V.3:** résultat d'analyses physico-chimiques d'HE de *citronnelle*

	Résultats pratique	AFNOR ISO
pH	5,5	5 - 6
Densité	0.8726	< 1
Indice de réfraction	1.48078	> 13300
Indice d'acide	0.002350	≤ 2

**V.4 Les conditions de séparations chromatographiques des huiles essentielles :**

Appareil: Bruker GC/MS model 436; Spectrometer quadrupole ionization voltage of 70 eV

Gaz vecteur : He (99%)

Débit : 1.2ml/min

Pression : 5bars

Colonne : C18 à phase inverse HP-5 MS ; 5% Phenyl Methyl Siloxan ; longueur : 30 m and Diamètre interne 0.25 mm. Epaisseur phase stationnaire e= 0.25 mm.

Mode d'élution: Gradient

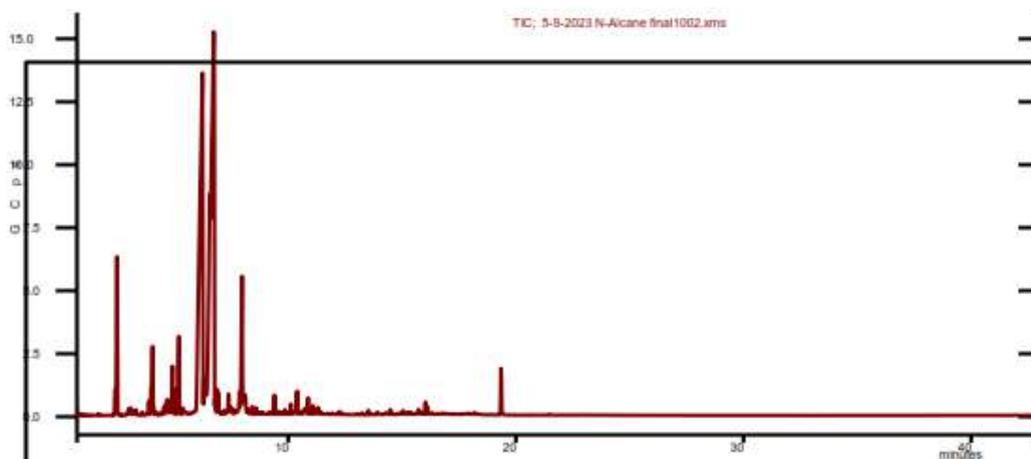
**V.4.1 The operating conditions are:**

- La température de l'injecteur (split mode 1:50) : 250 °C
- Temperature programming : from 50 °C to 280 °C at a rate of 5 °C/min.
- Le gaz vecteur utilisé est l'hélium avec un débit de 1.2 ml/min.
- Les températures de la source quadripolaire sont fixées respectivement à 250 °C et 280 °C. Les indices de rétention linéaire (RI) pour tous les composés ont été déterminés en utilisant des n-alcane comme étalons. (C10-C35).

L'identification des composés individuels a été réalisée en faisant correspondre leurs modèles de fragmentation spectrale de masse avec les données correspondantes disponibles (bibliothèque Wiley 275 (6e édition), NIST 2015).

**Cas de la plante *citronnelle* :**

**Sample Name:** Citronelle

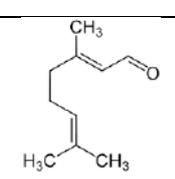
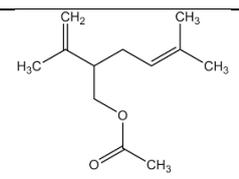
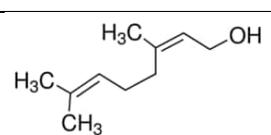
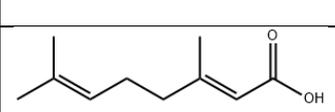


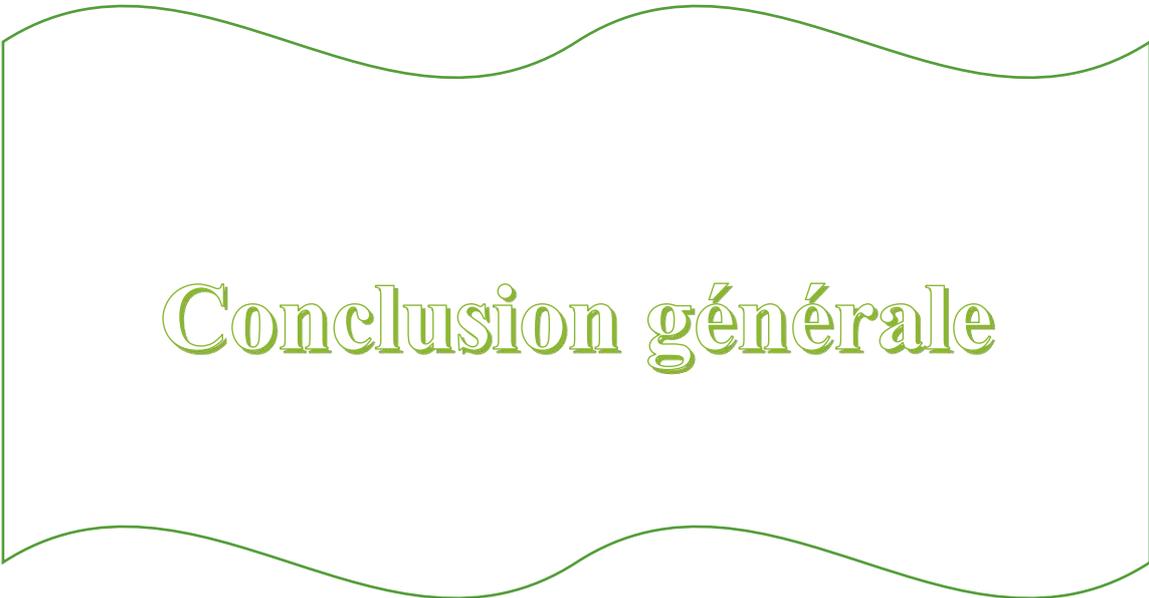
**Figure V.4 :** profile chromatographique

**V.4.2 Les produits majoritaires :**

Il y a 37 produits dont 04 majoritaires

**Tableau V.4 : les produits majoritaires**

Produits	% PM	N CAS	Structure chimique
<i>Citral</i>	<b>42,79</b>	5392-40-5	
(R)-lavandulyl acetate	<b>3.81</b>	919	
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-	<b>1.95</b>	106-25-2	
2,6-Octadienoic acid, 3,7-dimethyl-, (E)	<b>1.17</b>	4698-08-2	



# Conclusion générale

### **Conclusion générale**

L'objectif visé par ce mémoire de fin d'études est de valoriser le *Citronnelle* de la région de Hassi Miloud de la wilaya d'Ouargla, pour bénéficier de cette plante aromatique et médicinale dans des applications pharmaceutiques et la cosmétologiques.

L'extraction de l'huiles essentielle de *Citronnelle*, a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un extracteur type Clevenger au laboratoire de recherche de Génie des Procédés, avec un rendement de 0,41

Les propriétés physico-chimiques telles que les propriétés organoleptiques, la Densité, l'indice de réfraction sont conformement aux huile essentielle de *citronnelle*, en outre sont conformes aux normes AFNOR.

Dans cette étude, nous avons découvert que l'huile essentielle de la plante *citronnelle* contient 37 produits, dont 4 produits majoritaires, et il est constaté que le *Citral* est la substance essentielle et le chémotype responsable de l'efficacité de cette huile essentielle.



# Recommmandations

**Recommandations :**

- Une étude des paramètres physico-chimiques de la *Citronnelle* dans les quatre saisons, pour avoir la différence dans les propriétés de cette plante et son rendement.
- Une étude comparative entre les régions de l'Algérie.
- Une étude technico-économique pour valoriser le projet.

# Références bibliographiques

### Références bibliographiques

- [1]- PATRICE DE BONNEVAL. FRANK DUBUS. Manuel pratique d'aromathérapie au quotidien. Édition DésIris paris ; 2014.
- [2]- Paradiso VM, Summo C, Pasqualone A, Caponio F. Evaluation of different natural antioxidants as affecting volatile lipid oxidation products related to off-flavours in corn flakes. Food Chemistry. 2009 ; 113 (2): 543-549.
- [3]- S.O. Oladeji, K.A. Odelade, J.K. Oloke, Phytochemical screening and antimicrobial investigation of Moringa oleifera leaf extracts, Afr. J. Sci. Tech. Innov. Dev. 2020; 12: 79-84.
- [4]- Asioli D, Aschemann-Witzel J, Caputo V, Vecchio R, Annunziata A, Næs T, Varela P. Making sense of the “clean label” trends : A review of consumer Food choice behavior and discussion of industry implications. Food Research International.2017 ; 99 :58-71.
- [5]- Yasmeeen R, Fu Kagawa NK, Wang TT. Établir les avantages pour la santé des composants alimentaires bioactifs .le point de vue d'un chercheur en recherche fondamentale Curr. Opin. Biotechn. 2017 ; 44 :109-114.
- [6]- Román S, Sánchez-Siles LM, Siegrist M. L'importance de la naturalité des aliments pour les consommateurs. Résultats d'une revue systématique. Trends Food Sci.2017 ; 67 :44-57.
- [7]- Francisco V, Figueirinha A, Névés B, García-Rodríguez C, Lopes M, Cruz M, Batista M. Cymbopogon citratus comme source de nouveaux médicaments anti-inflammatoires sûrs. Essai bio-guidé utilisant des macrophages stimulés par le lipopolysaccharide J. Ethnopharmacol. 2011 ; 33 :818-827.
- [8]- Coelho M, Rocha C, Cunha LM, Cardoso L, Alves L, Lima RC, Pintade M. Influence des facteurs de récolte sur les attributs sensoriels et la composition en composés phénoliques et aromatiques des infusions de feuilles de Cymbopogon citratus. Food Res. Int.2016; 89:1029-1037.
- [9]- Shah G, Shri R, Panchal V, Sharma N, Singh B. Mann Base scientifique pour l'utilisation thérapeutique de Cymbopogon citratus, staff (Lemongrass) J. Adv. Pharmacie. Technologie.2011 ; 2 (1) :3-8.
- [10]- Sambourou Diallo Mohamed. Biologie et écologie de Cymbopogon Schoenanthus (L.) Spreng dans la zone soudanienne du Burkina Faso. Cas de Bondoukou (province du mouhoun).Université d'Ouagadougou (Borkina Faso). 1995 ; 112.
- [11]- Alfa, keitadjibo. Analyses des huiles essentielles de quelques plantes de flore appartenant aux familles des lamiaceae et des poaceae. [Thèse de doctorat].Borkina Faso : Université d'Ouagadougou Borkina Faso ; 2000.
- [12]- Kouame NM, Kamagate M, Koffi C, Die-kakou HM, Yao RNA, et Kakou A. Cymbopogon citratus (OC) Stapf Ethnopharmacologie phytochimie activités pharmacologiques et toxicologie. Springer phytothérapie. 2016 ; 14:384-392.
- [13]- Gbogbo KA, Batawila K, Anani K, Prince-David M, Gbéasor M, Bouchet P, Akpagana K. Activité antifongique des huiles essentielles de Ocimum basilicum L. (Lamiaceae) et

Cymbopogon Schoenanthus (L.) Spreng. (Poaceae) sur des micromycètes influençant la germination du Maïs et du Niébé.2006 ; 153 :115-124.

[14]- Shah G, Shri R, Panchal V, Sharma N, Sinh B, Mann AS. Base scientifique pour l'utilisation thérapeutique du Cymbopogon citratus, Stapf (Citronnelle). J Adv Pharm Tech Res.2011 ; 2 :3-8.

[15]- Nambiar VS, Matela H. Fonctions potentielles de la citronnelle (Cymbopogon citratus) dans la santé et la maladie. IJPBA. 2012 ; 3 (5) :1035-1043.

[16]- Manvitha K, Bidya B. Examen de l'activité pharmacologique de Cymbopogon citratus. Journal international de phytothérapie. 2014 ; 1(6) : 5-7.

[17]- Grenand P, Moretti C, Jacquemin H, Prévost MF. Pharmacopées traditionnelles en Guyane. IRD Editions.2004 ; 1 : 816.

[18]- Chopra RN, Chopra IH, Kapur LD. Drogues indigènes de l'Inde U N Dhur and Sons. Private Ltd. Calcutta. 1958 ; 67:502.

[19]- Nambiar VS, Matela H. Fonctions potentielles de Citronnelle (Cymbopogon citratus) en Santé et Maladie. Journal international des archives pharmaceutiques et biologiques. 2012 ; 3 (5):1035-1043.

[20]- Adams RP. Identification des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse spectroscopie de masse quadripolaire. Société d'édition séduisante carol Stream. 2007 ; 4 : 804.

[21]- Costa CARA, Bidinotto LT, Takahira RK, Salvadori DMF, Barbisan LF, Costa M. Réduction du cholestérol et absence d'effets génotoxiques ou toxiques chez la souris après un apport oral répété d'huile essentielle de citronnelle (Cymbopogon citratus) pendant 21 jours. Toxicologie alimentaire et chimique.2011 ; 49 (9) : 2268-2272.

[22]- Kasbi Amrane. Etude des propriétés physico chimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles D'eucalyptus Globuls Dans la région de. Ouargla : Université Kasbi Merbah (Ouargla) ; 2001.

[23]- Bey, sonne. Composition chimique activités anti oxydantes et antifongiques des huiles essentielles de deux espèces végétales du genre Artemisia (herba alba et a campos tris) [Mémoire de Master]. Laghouat : Université Amar Thelidji Laghouat ; 2018.

[24]- L'Abboub Asma, Etude Comparative de la composition chimique et L'activité biologique des huiles essentielles d'une espèce d'Artemisia [Mémoire de master] Laghouat : Université d'Ammar Thelidji Laghouat ; 2017.

[25]- Achour Aoul Siham. Criblage phytochimique activité antioxydant et antibactérienne de la Cynoglossum Cheirifolium (oued nineeljadienne) [Mémoire de Master] .Tlemcen : Université Abou Bekr Bellkaid de Tlemcen ; 2014.

[26]- ATTOU Amina. Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques Ouest Algérien (Région

D'Ain Témouchent Etude de Leurs Activités Antioxydant et Antimicrobienne) [Thés de doctorat]. Tlemcen : Université Abou Berk Bellkaid Tlemcen ; 2017.

[27]- Amiot J. *Thymus vulgaris*, (un cas de polymorphisme chimique pour comprendre écologie évolutive des composés secondaires) [Thèse de Doctorat]. Montpellier paris : Université Montpellier, ENSA ; 2005

[28]- Guignard JL, Potier P. *Biochimie végétale* ED, 2000 :1 ; 261-274.

[29]- Fouché JG. Marquet A. Hambuckers A. *Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament* Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman. 2000.

[30]- Ben Cheikh Salah Eddine. Etude de L'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium Poliumssp Eurasianum Labiatae* (D'UNE PLANTE AROMATIQUE MEDICINALE). [Thèse De Doctorat, Mémoire].Ouargla : Université Kasbi Merbah, Faculté des sciences Appliquées ; 2017.

[31]- Fernandez X, Chemat F. *Les huiles essentielles comme ingrédients pour une chimie verte*. 1ère éd : La chimie des huiles essentielles ; 2012.

[32]- Teisseire PJ. *Chimie des substances odorantes. Technique et documentation* Lavoisier. 1991.

[33]- Baysal T, Starmans DAJ. *Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carvone and Limonene from Caraway Seed*. *Journal of Supercritical Fluids*. 1999 ; 14 : 225-234.

[34]- Bruneton J, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* ; 1999.

[35]- Chacou M, Bassou K. Efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte *Menthe Spicata* Lisdue de la région de Ouargla sur quelques germes pathogènes *E coli Pseudomonasaeruginosa Staphylococcus aureus Bacillus subtiluis* et *Candida albicans* [Mémoire de master]. Ouargla : Université de Kasdi Merbah Ouargla ; 2007.

[36]- KHIREDINE Hamida. *Comprimés de poudre de dattes comme support universel Des principes actifs de quelques plantes médicinales d'Algérie* [Mémoire de Master], Boumerdes : université de Boumerdes, Faculté des Sciences de l'Ingénieur Boumerdes ; 2013.

[37]- Lucchesi M.-E. *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application ; extraction des huiles essentielles* [Thèse de Doctorat]. France : Université de la Réunion ; 2005.

[38]- Hellali Naima. *Evaluation de quelques modes extraction en fonction De k composition chimique dans la plante Cymbopogon Schoenanthus (L.) de la région d'Illizi*. [Mémoire de master]. Ouargla : Université Kasbi Merbah Ouargla ; 2007.

[39]- Hamadou, Touki. *Extraction Caractérisation des huiles essentielles*

Des épices : Girofle, Poivre Noir [Mémoire de master]. Ouargla : Université Kasdi Merbah ; 2017.

[40]- SAMATE A D. Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne [Thèse de Doctorat]. Burkina Faso: université d'Ouagadougou ; 2002.

[41]- Piochon, M., Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. 2008 : ProQuest.

[42]- DELPHIN J, RABEHAJA R, Production et analyse d'huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales de Madagascar caractérisation par RMN 13C CPG(Ir) et CPGSM [Thèse de Doctorat]. France : université de corse-pascal Paoli ; 2013.

[43]- KOZIOL N. Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus d'Eucalyptus radiata et de Corymbiacitriodora : qualité efficacité et toxicité [Thèse de Doctorat]. France : université de lorraine ; 2015.

[44]- CHENNI M, Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielles des feuilles du basilic « *Ocimum basilicum L* » extraite par hydrodistillation et par micro-ondes [thèse de Doctorat]. ORAN : université d'Oran ; 2016.

[45]- PIERRON Charles. Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs [Thèse de Doctorat]. France : Université de Lorraine ; 2014.

[46]- MEBARKA, LAMAMRA. Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'Ammiopsisaristidis Coss (*Syn Daucus aristidis Coss*) et d'Achillea santolinoïdes Lag [Thèse de Doctorat]. Sétif : Université de Sétif ; 2018.

[47]- ECHCHAOUI M. Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles : université BARA ; 2018.

[48]- BOUSBIA N. Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires [Thèse de Doctorat]. ALGER : Université d'Alger; 2011.

[49]- LUCCHESI ME. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles [Thèse de Doctorat]. France : université de la réunion ; 2005.

[50]- AFNOR, Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2 ed. 2000.