UNIVERSITÉ DU BURUNDI
GRENIER DU SAVOIR DU BURUNDI
Dépôt institutionnel officiel
https://repository.ub.edu.bi

# Evaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles d'Eucalyptus Maidenii F. Muell., de Cymbopogon Citratus (DC.) STAPF, de Rosmarinus Officinalis L., de Bidens Pilosa L., d'Ageratum Conyzoides L. et de Moringa Oleifera Lam du Burundi et leurs applications dans la conservation de la viande hachée

**Ndikuriyo, Thierry; Sous la direction de : Dr. Ir. Nahimana, Paterne; Nzoyisubiziki Japhet, MSc**

**2025-12**
UB, EANSI
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/2292

Document téléchargé depuis le **Grenier du Savoir du Burundi** — https://repository.ub.edu.bi

**UNIVERSITE DU BURUNDI**

**EAST AFRICAN NUTRITIONAL SCIENCES INSTITUTE**

**MASTER EN SCIENCES DES ALIMENTS ET NUTRITION**

# EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE ET ANTIOXYDANTE DES HUILES ESSENTIELLES *D'EUCALYPTUS MAIDENII* F. MUELL., DE *CYMBOPOGON CITRATUS* (DC.) STAPF, DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* L., DE *BIDENS PILOSA* L., D'*AGERATUM CONYZOIDES* L. ET DE *MORINGA OLEIFERA* LAM DU BURUNDI ET LEURS APPLICATIONS DANS LA CONSERVATION DE LA VIANDE HACHEE.

Par :

NDIKURIYO Thierry

Mémoire

présenté et défendu publiquement en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Sciences des aliments et nutrition.

**Option :** Sécurité Alimentaire et Changement Climatique

**Sous la direction de :**

Dr. Ir. NAHIMANA Paterne

NZOYISUBIZIKI Japhet, MSc.

**Bujumbura, Décembre 2025**

**IDENTIFICATION DES MEMBRES DU JURY**

Président : Pr NIYUNGEKO Christophe

Secrétaire : Ir. NTEZIRYAYO Vincent, MSc.

Directeur : Dr. Ir. NAHIMANA Paterne

Codirecteur : NZOYISUBIZIKI Japhet, MSc.

## DEDICACES

Je dédie ce travail :

A Dieu Tout Puissant ;

A mon regretté père ;

A ma mère ;

A ma très chère épouse ;

A mes frères et sœurs ;

A mes camarades étudiants ;

A tous ceux qui me sont chers.

## REMERCIEMENTS

Avant tout, Je remercie Dieu Tout Puissant de m'avoir donné toutes les grâces nécessaires pour l'accomplissement de ce travail.

Mes sincères remerciements s'adressent tout d'abord à toute ma famille pour son soutien constant, ses prières, ses encouragements et son amour inconditionnel. Sa présence à mes côtés, dans les moments de doute comme dans les instants de joie, m'a été d'un grand réconfort et a nourri ma détermination pendant l'ensemble de mes études.

Plus particulièrement, ma profonde gratitude s'adresse à ma très chère épouse, pour son amour, sa patience et son soutien indéfectible durant toute ma formation académique. Sa compréhension, ses encouragements constants et sa présence rassurante ont été pour moi une source inestimable de force et de motivation. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Mes vifs remerciements s'adressent également aux initiateurs et acteurs du Projet d'Appui à l'EANSI pour leurs travaux très considérables dans la mise en marche et l'accomplissement de ce projet de recherche.

J'adresse toute ma reconnaissance à l'Université du Burundi et à la Banque Africaine de Développement (BAD) pour leur appui technique et financier qu'elles m'ont accordé durant ce programme.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au Dr Ir NAHIMANA Paterne, directeur et promoteur de ce mémoire, pour son accompagnement constant tout au long de ce travail, jusqu'à son aboutissement. Par son engagement exemplaire, ses conseils, ses suggestions pertinentes et ses encouragements soutenus a largement contribué à la réussite de ce travail. Sa disponibilité, son expérience et ses compétences ont constitué pour moi un soutien précieux.

Je remercie également mon codirecteur, MSc. NZOYISUBIZIKI Japhet, pour sa contribution significative à la réalisation de ce travail. Grâce à ses conseils éclairés et à sa disponibilité, il m'a offert un accompagnement et généreusement fourni certains réactifs indispensables à la phase expérimentale.

J'exprime également ma profonde gratitude à l'ensemble du personnel des laboratoires de chimie analytique de l'université du Burundi ainsi que celui du laboratoire d'analyses microbiologiques du CNTA. Leur collaboration, leur disponibilité et leur assistance technique ont grandement facilité la réalisation des différentes étapes expérimentales de ce travail.

Je tiens également à remercier tous les enseignants, de l'école primaire à l'université du Burundi, pour la qualité de l'enseignement dispensé au fil de ce cursus.

Leur dévouement, leur rigueur et leurs précieux conseils ont largement contribué à mon développement intellectuel et scientifique et, ont jeté les bases solides de la réalisation de ce travail.

Je n'oublie pas mes camarades étudiants, avec qui j'ai partagé des moments de travail, d'échange et de solidarité tout au long de ce parcours académique. Leur esprit d'entraide, leurs encouragements et leur amitié ont enrichi cette expérience académique et humaine, et ont rendu ce parcours plus agréable et motivant.

**NDIKURIRO Thierry**

## RESUME

La viande hachée est un produit hautement périssable, exposée à des altérations microbiennes et oxydatives. Or, les méthodes conventionnelles de conservation font appel à des additifs chimiques souvent critiques pour leurs effets potentiellement nocifs sur la santé et sur l'environnement. Le présent travail vise à évaluer les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles extraites d'*Eucalyptus maidenii* F. Muell, de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (citronnelle), de *Rosmarinus officinalis* L. (romarin), de *Bidens pilosa* L., *Ageratum conyzoides* L. et de *moringa oleifera* Lam, ainsi qu'à étudier leur efficacité dans la conservation de la viande hachée.

L'activité antioxydante a été mesurée par la méthode de piégeage des radicaux libres utilisant le DPPH, à des concentrations de 5%, 10%, 25%, et 50%, avec l'acide ascorbique comme standard de référence. Quant à l'activité antimicrobienne, elle a été évaluée en appliquant les huiles essentielles sur des suspensions microbiennes extraites de viande hachée contaminée, à des concentrations de 250, 500 et 1000µg/mL qui, sont appliquées sur les micro-organismes ciblés dont les flores aérobies mésophiles totales (FAMT), *Escherichia coli*, les salmonelles et les staphylocoques.

Toutes les huiles essentielles ont montré un pouvoir antioxydant variable, le *Cymbopogon citratus* a affiché le pourcentage d'inhibition le plus élevé (jusqu'à 47,84 ± 0,11000% à une concentration de 5%), alors que l'huile essentielle d'*Eucalyptus maidenii* et de *Rosmarinus officinalis* ont montré une activité antioxydante plus faible à cette concentration (respectivement : 15,8633 ± 0,00577 et 21,8267 ± 0,00577%).Sur le plan antimicrobien, les effets ont été suivis par comptage microbien après 24, 48 et 96 heures.

La citronnelle s'est révélée la plus efficace, inhibant totalement la croissance microbienne de tous microorganismes ciblés, à partir d'une faible concentration envisagé (250 µg/mL).

En revanche, *E. maidenii* et *R. officinalis* ont montré une inhibition partielle de la croissance microbienne respectivement à 250 µg/mL et 500 µg/mL, observé aussi sur le *R. officinalis* à 1000 µg/mL.

Ces résultats mettent en évidence que certaines huiles essentielles locales possèdent un potentiel réel pour améliorer la conservation des produits alimentaires, en réduisant la charge microbienne et en limitant l'oxydation, ouvrant ainsi des perspectives prometteuses pour le développement d'alternatives naturelles en matière de sécurité sanitaire des aliments.

**Mots clés :** Huile essentielle, activité antioxydant, activité antimicrobienne, microorganismes, conservation, plantes médicinales.

## ABSTRACT

Minced meat is a highly perishable product, prone to microbial and oxidative spoilage. However, conventional preservation methods rely on chemical additives, which are often criticized for their potentially harmful effects on health and the environment. This work aims to evaluate the antioxidant and antimicrobial properties of essential oils extracted from *Eucalyptus maidenii* F. Muell, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (lemongrass), *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary), *Bidens pilosa* L., *Ageratum conyzoides* L., and *Moringa oleifera* Lam, as well as to study their effectiveness in preserving minced meat. The antioxidant activity was measured using the free radical scavenging method with DPPH, at concentrations of 5%, 10%, 25%, and 50%, with ascorbic acid as the reference standard.

The antimicrobial activity, on the other hand, was evaluated by applying the essential oils to microbial suspensions extracted from contaminated ground meat, at concentrations of 250, 500, and 1000 µg/mL, which were applied to the targeted microorganisms including total mesophilic aerobic flora (TMAF), *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Staphylococcus*.

All the essential oils showed varying antioxidant power, with *Cymbopogon citratus* displaying the highest inhibition percentage (up to 47.84 ± 0.11000% at a concentration of 5%), while the essential oils of *Eucalyptus maidenii* and *Rosmarinus officinalis* showed lower antioxidant activity at this concentration (respectively: 15.8633 ± 0.00577 and 21.8267 ± 0.00577%). In terms of antimicrobial activity, the effects were monitored by microbial counts after 24, 48, and 96 hours. Lemongrass proved to be the most effective, completely inhibiting the microbial growth of all targeted microorganisms starting from a low concentration (250 µg/mL). In contrast, *E. maidenii* and *R. officinalis* showed partial inhibition of microbial growth at 250 µg/mL and 500 µg/mL, respectively, also observed for *R. officinalis* at 1000 µg/mL.

These results highlight that certain local essential oils have genuine potential to improve food preservation by reducing microbial load and limiting oxidation, thereby opening promising prospects for the development of natural alternatives of food security.

**Keywords:** Essential oil, antioxidant activity, antimicrobial activity, microorganisms, preservation, medicinal plants

**TABLE DES MATIERES**

**IDENTIFICATION DES MEMBRES DU JURY ..... i**
**DEDICACES.. ..... ii**
**REMERCIEMENTS ..... iii**
**RESUME……. ..... v**
**ABSTRACT…. ..... vi**
**TABLE DES MATIERES ..... vii**
**LISTE DES TABLEAUX ..... xi**
**LISTE DES FIGURES ..... xii**
**SIGLES ET ABREVIATIONS ..... xiv**
**AVANT-PROPOS ..... xv**
**0. INTRODUCTION GENERALE ..... 1**
0.1. Contexte et justification ..... 1
0.2. Objectifs ..... 3
0.2.1. Objectif global ..... 3
0.2.2. Objectifs spécifiques ..... 3
0.3. Hypothèses ..... 3
**CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES ET LES HUILES ESSENTIELLES ..... 4**
I.1. Plante médicinale ..... 4
I.2. Huiles essentielles ..... 4
I.2.1. Définition ..... 4
I.2.2. Histoire et origine ..... 5
I.2.3. Commercialisation des huiles essentielles ..... 6
I.2.4. Domaines d'application des huiles essentielles ..... 6
I.2.4.1. En aromathérapie ..... 6
I.2.4.2. En industrie agro-alimentaire ..... 6
I.2.4.3. En méditation et yoga ..... 7
I.2.4.4. En industrie pharmaceutique ..... 7
I.2.4.5. En cosmétique et parfumerie ..... 7
I.2.5. Localisation des huiles essentielles dans la plante ..... 8
I.2.6. Composition chimique des huiles essentielles ..... 8

I.2.6.1. Composés terpéniques ..... 9
I.3. Activité biologique des huiles essentielles ..... 12
I.3.1. Activité antioxydante ..... 12
I.3.2. Piégeage du radical libre DPPH$^{\bullet}$ ..... 13
I.3.3. Activité antibactérienne ..... 13
I.4. Effet conservateur des huiles essentielles ..... 14
I.5. Conservation des huiles essentielles ..... 14
I.6. Règlementation des huiles essentielles ..... 15
I.7. Toxicité des huiles essentielles ..... 15
I.8. Huiles essentielles contre-indiquées pendant la grossesse et l'allaitement ..... 16
I.9. Précautions d'utilisation ..... 17
I.10. Critères qualités des HE ..... 17
I.10.1. Dénomination botanique ..... 18
I.10.2. Origine géographique ..... 18
I.10.3. Mode de culture ..... 18
I.10.4. Chémotype ou chimiotype ..... 18
I.10.5. Stade de développement botanique ..... 18
I.10.6. Organe distillé ..... 19
I.10.7. Mode d'extraction ..... 19
I.11. Procédés d'extraction des huiles essentielles ..... 19
I.11.1. Extraction des HE par hydrodistillation ..... 20
I.11.2. Extraction des HE par entraînement à la vapeur ..... 20
I.11.3. Extraction des HE par hydro diffusion ..... 21
I.11.4. Extraction des HE par enfleurage ..... 22
I.11.5. Technique d'extraction des HE par des solvants assistée par micro-ondes ..... 22
I.11.6. Technique d'extraction des HE sans solvant assistée par micro-ondes ..... 23
I.11.7. Extraction des HE par les gaz supercritiques ..... 24
I.11.8. Extraction des HE par détente instantanée contrôlée (DIC) ..... 25
I.12. Description botanique des espèces végétales étudiées ..... 26
I.12.1. *Rosmarinus officinalis* L.(Romarin) ..... 26
I.12.2. *Eucalyptus maidenii* ..... 27
I.12.3. *Cymbopogon citratus* (Citronnelle) ..... 28

I.12.4. *Bidens pilosa* L. ..... 29
I.12.5. *Ageratum conyzoides* ..... 30
I.12.6. *Moringa oleifera* ..... 30
**CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES ..... 31**
II.1. Cadre conceptuel du travail ..... 31
II.2. Matériels ..... 31
II.2.1. Matériel végétal ..... 31
II.2.2. Matériels et produits/réactifs utilisés pour les analyses au laboratoire ..... 32
II.2.3. Micro-organismes testés ..... 34
II.3. Méthodes ..... 34
II.3.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation ..... 34
II.3.2. Evaluation de l'activité antioxydante ..... 36
II.3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne ..... 37
II.3.4. Transport de la viande et des huiles essentielles ..... 37
II.4. Mode opératoire ..... 37
II.5. Analyse statistique des données et logiciels utilisés ..... 42
**CHAPITRE III. PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS ..... 43**
III.1. Analyse du rendement d'extraction d'huile essentielle ..... 43
III.2. Evaluation du pouvoir antioxydant ..... 44
III.3. Evaluation du potentiel anti microbien ..... 45
III.3.1. Evolution des microorganismes dans le milieu témoin ..... 46
III.3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus maidenii* ..... 47
III.3.2.1. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus maidenii* à une concentration de 0,25% ..... 47
III.3.2.2. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus maidenii* à une concentration de 0,50% ..... 48
III.3.2.3. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus maidenii* à une concentration de 1,00% ..... 49
III.3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite du *Rosmarinus officinalis* ..... 50

III.3.3.1. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus offocinalis* à une concentration de 0,25%..... 50
III.3.3.2. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus offocinalis* à une concentration de 0,50%..... 51
III.3.3.3. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* à une concentration de 1,00%..... 51
III.3.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* ..... 52
III.3.4.1. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à une concentration de 0,25%..... 52
III.3.4.2. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à une concentration de 0,50%..... 53
III.3.4.3. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à une concentration de 1,00%..... 53
**CHAPITRE IV. CONCLUSION GENERALE, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES ..... 55**
IV.1. Conclusion générale ..... 55
IV.2. Recommandations ..... 55
IV.3. Perspectives ..... 57
**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... 58**
**ANNEXES……..... 65**

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Structure moléculaire de certains composés terpéniques ..... 10
Tableau 2: Liste d'HE contre-indiquées pendant la grossesse et l'allaitement ..... 16
Tableau 3: Matériels et produits chimiques utilisés ..... 32
Tableau 4: Milieux de culture, températures et durée d'incubation pour les microorganismes . 41
Tableau 5: Rendement d'huiles essentielles obtenues après extraction. ..... 43
Tableau 6: Effet de l'activité anti oxydante des différentes HE à différentes concentrations .... 44

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structure moléculaire de certains composés monoterpéniques ..... 10
Figure 2: Structure moléculaire de certains composés sesquiterpéniques ..... 11
Figure 3: Réduction du DPPH..... 13
Figure 4: Principales méthodes d'extraction des HE..... 19
Figure 5: Méthode d'extraction des HE par hydrodistillation ..... 20
Figure 6: Appareillage utilisé pour entraînement à la vapeur d'eau. ..... 21
Figure 7: Procédé d'hydro diffusion..... 22
Figure 8: Hydrodistillation assistée par micro-onde ..... 23
Figure 9: Procédé d'extraction des HE sans solvant assistée par micro-onde..... 24
Figure 10: Procédé d'extraction des HE par les gaz supercritiques..... 25
Figure 11: Procédé d'extraction des HE par DIC ..... 26
Figure 12: Illustration des feuilles de romarin utilisées pour évaluer les effets antimicrobiens et anti oxydants de leurs huiles essentielles. ..... 27
Figure 13: Séchage des feuilles de (a) : *Bidens pilosa* L., (b) *Eucalyptus maidenii* F. Muell, (c) : Ageratum *conyzoides* L., (d) : *Moringa oleifera* Lam., (e) : *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, (f) : *Rosmarinus officinalis* L. ..... 32
Figure 14: Montage utilisé pour l'extraction des HE (1) et pour la décantation (2)..... 34
Figure 15: Croissance des micro-organismes dans la solution témoin ..... 46
Figure 16: Nombre de colonie des salmonelles après 96h. ..... 47
Figure 17: Effet de l'huile essentielle d' *eucalyptus maidenii* à 0,25% sur la croissance des micro-organismes ..... 47
Figure 18:Effet de l'huile essentielle d' *eucalyptus maidenii* à 0,5% sur la croissance des micro-organismes testés ..... 48
Figure 19: Effet de l'huile essentielle d'*eucalyptus maidenii* à 1% sur la croissance des microorganismes ..... 49
Figure 20: Effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus offocinalis* à 0.25% sur la croissance des micro-organismes ..... 50
Figure 21: Effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus offocinalis* à 0,5% sur la croissance des microorganismes ..... 51
Figure 22: Effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus offocinalis* à 1% sur la croissance des micro-organismes ..... 51

Figure 23: Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à 0.25% sur la croissance des micro-organismes ..... 52

Figure 24: Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à 0,5% sur la croissance des micro-organismes ..... 53

Figure 25: Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à 1% sur la croissance des micro-organismes ..... 53

## SIGLES ET ABREVIATIONS

**PI** : Pourcentage d'inhibition

**$(C_5H_8)_n$** : Unité isoprène

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**BAD** : Banque Africaine pour le Développement

**CNTA** : Centre National de Technologie Alimentaire

**$CO_2$** : Dioxyde de Carbone

**CSA** : Chapman Stone Agar

**D.I.C** : Détente Instantanée Contrôlée

**DPPH** : 2,2- diphenyl-1- picrylhydrazyl

**EANSI** : East African Nutritional Sciencies Institute

**H.E.C.T** : Huile Essentielle Chémotypée

**HA** **:** Hydrolat Aromatique

**HE** **:** Huile Essentielle

**ISO** : International Standards Organization

**PCA** **:** Plate Count Agar

**SACC** **:** Sécurité Alimentaire et Changement Climatique

**EFS** **:** Extraction par Fluide Supercritique

**SM** **:** Suspension Microbiologique

**SMM** **:** Suspension Microbiologique Mère

**SSA** **:** Salmonella Shigella Agar

**THE** **:** Toxicité des Huiles Essentielles

**TIA** **:** Toxi-infection Alimentaire

**TP** **:** Témoin positif

**TN** **:** Témoin négatif

**UFC** **:** Unités Formant Colonies

**UV** **:** Ultra-violet

**VERBA** : Violet Red Bile Agar

**λ** **:** Longueur d'onde

## AVANT-PROPOS

La présente étude s'inscrit dans le cadre de l'achèvement de ma formation en vue de l'obtention d'un diplôme de Master en Sciences des Aliments et Nutrition, spécialité : Sécurité Alimentaire et Changements Climatiques (SACC). Elle porte sur l'évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles d'*Eucalyptus maidenii* F. Muell, de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (citronnelle), de *Rosmarinus officinalis* L. (romarin), de *Bidens pilosa* L., d'*Ageratum conyzoides*L.et de *moringa oleifera* Lam, du Burundi et leurs applications dans la conservation de la viande hachée.

Ce travail est né d'un double constat : d'une part, l'abondance de ressources végétales aux vertus médicinales sous-exploitées dans notre pays, et d'autre part, la nécessité de trouver des alternatives naturelles et durables aux conservateurs chimiques souvent utilisés dans les produits alimentaires.

C'est dans cette perspective que j'ai entrepris cette recherche, avec l'objectif de valoriser les huiles essentielles locales pour leurs effets bénéfiques sur la qualité microbiologique et la durée de conservation des aliments.

Ce mémoire est l'aboutissement d'un long processus associant recherche bibliographique, expérimentations en laboratoire, analyse des résultats et rédaction. Sa réalisation a été rendue possible grâce au soutien de nombreuses personnes et institutions, auxquelles j'ai exprimé ma profonde gratitude dans la section des remerciements. Nous espérons que les résultats de cette étude contribueront, même modestement, à la promotion de solutions naturelles pour la conservation des aliments, ainsi qu'à la valorisation des plantes médicinales du Burundi dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments.

# 0. INTRODUCTION GENERALE

## 0.1. Contexte et justification

Depuis la nuit des temps, l'homme a puisé dans la nature les remèdes nécessaires pour soulager ses maux. L'utilisation des plantes a toujours occupé une place centrale dans les pratiques thérapeutiques traditionnelles. Grâce à sa biodiversité végétale, la nature regorge d'un grand nombre d'espèces employées comme herbes médicinales et utilisées à des fins prophylactiques ou curatives. Des recherches menées sur cette biodiversité ont permis d'identifier de nombreuses substances naturelles, dont plusieurs sont exploitées en médecine traditionnelle pour la prévention et le traitement des maladies. Parmi elles, les huiles essentielles (HE), extraites des plantes aromatiques, attirent un intérêt particulier en raison de leurs propriétés biologiques remarquables. Des études récentes ont montré leur potentiel en tant qu'agents antimicrobiens (Ismaili et al., 2014) et antioxydants (Hennia, 2016), avec des effets notables contre les germes résistants aux antibiotiques (Boutabia et al., 2016).

Les huiles essentielles sont des produits naturels odorants, complexes, constitués de composés volatils, dont le rendement d'extraction reste faible (souvent < 2 % du poids sec de la plante) (Boukhatem et al., 2019) (Merlain et al., 2022). Leur production dépend de la partie de la plante utilisée (fleurs, feuilles, graines) et de la période de récolte (avant, pendant ou après floraison). Malgré ces contraintes, elles conservent une importance croissante grâce à la diversité de leurs applications : industrie chimique, agroalimentaire (épices, condiments, additifs), cosmétique et pharmaceutique (aromathérapie, parfumerie, savonnerie) (Didi&Yakoubi, 2021).

Le recours aux huiles essentielles s'avère particulièrement pertinent en tant qu'agents de conservation naturels, capables de remplacer partiellement ou totalement les conservateurs synthétiques. Plusieurs études ont déjà évalué leur activité antioxydante, notamment celles de *Thymus vulgaris*, *Menthas picata* et *Citrus limonum* (Ismaili et al., 2017).

Ces essences suscitent un intérêt croissant dans la prévention et le traitement de pathologies humaines telles que le cancer, les maladies inflammatoires et cardiovasculaires, tout en étant utilisées comme additifs naturels dans différents secteurs industriels (Koziol, 2015).

Parallèlement, la conservation des denrées alimentaires, et en particulier de la viande hachée, demeure un enjeu majeur de sécurité alimentaire.

En raison de sa richesse en nutriments et de sa grande surface d'exposition, la viande hachée est hautement sensible aux contaminations microbiennes et à l'oxydation lipidique, ce qui entraîne une altération rapide de ses qualités organoleptiques, nutritionnelles et sanitaires (Boudouika Amira, 2017). Si l'industrie agroalimentaire recourt traditionnellement à des conservateurs chimiques, leur utilisation suscite des inquiétudes croissantes liées à leur toxicité potentielle, à leurs effets cancérigènes ou allergènes, et à la demande accrue des consommateurs pour des alternatives naturelles, saines et durables (Ouedrhiri, 2017).

Dans ce contexte, les huiles essentielles apparaissent comme une solution prometteuse. Riches en composés bioactifs, elles possèdent des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes susceptibles de contribuer efficacement à la prolongation de la durée de conservation de la viande hachée. Au Burundi, pays doté d'une biodiversité riche, des plantes telles d'*Eucalyptus maidenii* F. Muell, de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (citronnelle), de *Rosmarinus officinalis* L. (romarin), de *Bidens pilosa* L., *Ageratum conyzoides* L. et M*oringa oleifera* Lam sont traditionnellement utilisées en médecine populaire. Toutefois, leurs applications technologiques dans la conservation alimentaire restent encore peu explorées, justifiant ainsi l'intérêt de la présente étude.

Cette étude se structure en deux volets complémentaires. Le premier volet, l'étude bibliographique, consiste en une analyse documentaire approfondie des plantes faisant l'objet de cette étude et de leurs huiles essentielles. Le second volet, la partie expérimentale, présente les méthodes d'extraction des huiles essentielles de six espèces végétales, ainsi que l'évaluation de leurs activités antimicrobiennes par ensemencement et antioxydantes par la méthode DPPH, incluant leur application à la conservation de denrées alimentaires telles que la viande hachée.

Les résultats obtenus, relatifs au rendement d'extraction, aux propriétés biologiques et à l'efficacité conservatrice des huiles essentielles, seront interprétés à la lumière des connaissances existantes et synthétisés pour dégager des conclusions et des perspectives de valorisation future.

## 0.2. Objectifs

### 0.2.1. Objectif global

L'objectif global de ce travail est de chercher comment valoriser les plantes médicinales dans la conservation des denrées alimentaires.

### 0.2.2. Objectifs spécifiques

1. Extraire des huiles essentielles des plantes médicinales ciblées par hydro distillation.
2. Evaluer les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles extraites de différentes plantes médicinales faisant l'objet de cette étude.
3. Evaluer les propriétés anti-radicalaires ou antioxydantes des huiles essentielles extraites de différentes plantes médicinales étudiées.

## 0.3. Hypothèses

1. Toutes les espèces végétales étudiées possèdent des huiles essentielles.
2. Les huiles essentielles extraites de différentes espèces végétales ont le pouvoir d'inhiber la croissance microbienne.
3. Les huiles essentielles extraites de différentes espèces végétales sont efficaces pour piéger des radicaux libres.

# CHAPITRE I. GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES ET LES HUILES ESSENTIELLES

## I.1. Plante médicinale

Selon les standards de la pharmacopée, une plante médicinale se définit comme un organisme végétal dont une partie au moins (ou la totalité) sert de support à des substances actives destinées à un usage thérapeutique constituant la matière première appelée **drogue végétale** qui, grâce à ses propriétés biologiques, permet de prévenir, d'atténuer ou de traiter des troubles de la santé (Madame Wissale, 2023).

Bien que le traitement classique de l'inflammation repose sur les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les glucocorticoïdes, leurs effets délétères sur l'équilibre hormonal et les risques de toxicité liés à la dose justifient le recours à la phytothérapie comme une alternative thérapeutique ancestrale et plus sûre (Kpodji. et al., 2019).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), l'utilisation des plantes médicinales constituent des ressources précieuses de molécules bios actives peu exploitées et dont les actions pharmacologiques seront bénéfiques pour la majorité des populations rurales en Afrique (Kpodji. et al., 2019).

## I.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances très concentrées en principes actifs, capables de contenir, en quelques gouttes, l'essence de plusieurs kilogrammes de plantes (Hellaoui, 2021). Elles sont produites par des plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires (Belbachir et Tchenar, 2019).

### I.2.1. Définition

Selon les normes de l'International Standards Organization on Essential Oils, ISO 9235, et celle de l'Association de Normalisation Française, AFNOR NF T 75-006 (octobre 1987), on définit une huile essentielle comme étant un produit extrait d'une matière première végétale par divers procédés tels que l'entraînement à la vapeur, l'hydrodistillation, les procédés mécaniques ou la distillation (Bouzabata, 2015).

Les huiles essentielles sont le résultant de la distillation d'une plante tout entière ou de l'une de ses parties (fleur, racine, écorce, feuille). Ce sont des substances huileuses, bien qu'exemptes de corps gras, présentant une fluidité variable, parfois résineuses, très aromatiques, volatiles et souvent colorées (Kraiffi & Boualam, 2021).

Les huiles essentielles, également appelés essences, sont des combinaisons de substances aromatiques produites par certaines plantes (Meddahi, 2022). Elles peuvent être produites par une grande variété de tissus végétaux tels que les fleurs, les feuilles, les tiges, les graines, les fruits, les racines, le bois et l'écorce. Elles sont ensuite stockées dans des structures spécialisées, comme les cellules sécrétrices, les cavités sécrétrices, les canaux sécréteurs ou les trichomes glandulaires, qui sont souvent situées à la surface ou à proximité de la plante (Lamia, 2013).

On les désigne couramment par les termes suivants : essences, essences végétales, huiles ou essences aromatiques, parfums, huiles volatiles.

Selon la 8$^{ème}$édition de la Pharmacopée française (1965), les huiles essentielles, également appelées essences ou huiles volatiles, sont des produits dont la composition est généralement complexe. Elles contiennent les principes volatils extraits des végétaux, lesquels peuvent subir diverses modifications lors de leur préparation (Obame., 2009).

### I.2.2. Histoire et origine

Les premières traces de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles remontent à environ 3000 avant J.C., indiquant qu'elles ont accompagné l'humanité depuis ses débuts. Les Egyptiens, suivis par les Grecs et les Romains, ont utilisé diverses matières végétales et leurs dérivés, notamment les huiles essentielles, dans des domaines variés tels que la parfumerie, la médecine, les rites religieux et les traditions païennes. La période byzantine (330 à 1453 ap. J.C) a jeté les bases de la distillation, et avec l'essor de la civilisation arabe, les huiles essentielles sont devenues des produits clés du commerce international. Vers l'an 1000, le médecin et scientifique persan Avicenne a décrit avec précision la technique d'entraînement à la vapeur, faisant de l'Iran et de la Syrie des centres majeurs de production d'extraits aromatiques. Au fil du temps, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques en matière d'extraction et d'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a été enrichie par le développement de l'aromathérapie.

En 1928, René Maurice Gattefossé a introduit le terme « arsomathérapie » et a mené de nombreuses recherches sur les propriétés des huiles essentielles, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles études (Belbachir et Tchenar, 2019).

### I.2.3. Commercialisation des huiles essentielles

Le marché mondial des huiles essentielles a connu une rectification notable au cours des dernières années. La demande est en constante augmentation, accompagnée de l'émergence de nouvelles variétés de produits, grâce aux efforts en matière de recherche et de développement dans les pays producteurs. On dénombre plus de 3000 types d'huiles essentielles extraites des racines, des écorces, des feuilles, des graines et des fleurs de diverses espèces végétales, bien que seules 500 soient commercialisées. L'offre et la demande dans ce domaine sont abondantes. Malgré des normes de qualité strictes, l'accès au marché est libre, sans les barrières souvent présentes dans d'autres secteurs comme la bioprospection. Les pays en développement, notamment ceux d'Afrique, peuvent pleinement tirer parti de cette situation. La production d'huiles essentielles soutient l'économie agricole nationale et améliore la balance commerciale. La concurrence est forte, tant entre les pays producteurs qu'entre les producteurs locaux au sein d'un même pays (Raharinirina., 2009).

### I.2.4. Domaines d'application des huiles essentielles

Les huiles essentielles, concentrés naturels, issus de plantes aromatiques, offrent plusieurs domaines d'application grâce à leurs propriétés thérapeutiques et aromatiques.

#### I.2.4.1. En aromathérapie

En aromathérapie, l'utilisation des huiles essentielles est sans doute la plus connue et la plus courante. Elles sont diffusées dans l'air pour créer une ambiance relaxante, stimulante ou apaisant (Catherine et al., 2001).

#### I.2.4.2. En industrie agro-alimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées comme rehausseurs de goût, mais aussi en tantque conservateurs des aliments du fait de leurs profils antioxydant, antimicrobien, antifongique et anti radicalaire (Kiouas & Naili., 2019).

### I.2.4.3. En méditation et yoga

La méditation et le yoga, bien que distincts, partagent des racines anciennes et visent à établir une connexion harmonieuse entre le corps et l'esprit. Pratiquée depuis des siècles, la méditation est particulièrement associée au bouddhisme et se concentre sur le recentrage de l'esprit, permettant ainsi au soi de retrouver un équilibre intérieur. Son objectif est de favoriser la détente, l'attention et le relâchement des tensions musculaires et nerveuses, contribuant ainsi à un état de bien-être et à un rééquilibre psychologique. Le yoga, de son côté, est une pratique indienne également ancienne, qui a gagné en popularité en Occident. Parmi les diverses formes de yoga, le hatha yoga, décrit par Swami Swatamarama au 15ème siècle, est le plus répandu en Occident. Cette pratique vise à unir le corps, l'esprit et le spirituel, créant ainsi une harmonie globale. Elle combine des postures physiques, un contrôle de la respiration et des éléments de méditation, permettant d'atteindre une relaxation profonde(Laëtitia, 2015).

Certaines huiles essentielles telles que celles d'encens, de lavande, de Santal (Sandalwood), de patchouli, d'Ylang-ylang, de Néroli sont appréciées pour leurs effets et, sont fréquemment utilisées pour améliorer les séances de méditation et de yoga, favorisant la détente et la concentration (Laëtitia, 2015).

### I.2.4.4. En industrie pharmaceutique

L'aromathérapie constitue un complément précieux aux thérapeutiques conventionnelles, et ses essences sont même incorporées dans les spécialités pharmaceutiques afin d'en améliorer l'organolepsie (Zriouil, 2020).

### I.2.4.5. En cosmétique et parfumerie

Les huiles essentielles sont très prisées dans l'industrie de la parfumerie et des cosmétiques en raison de leurs propriétés olfactives. La parfumerie en particulier en utilise environ 60% de la consommation totale, notamment pour des essences comme la rose, le jasmin, la violette.

Elles sont également intégrées en cosmétologie afin de parfumer divers produits tels que les dentifrices, les champoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres et les savons. De plus, les huiles essentielles jouent un rôle essentiel dans les produits d'hygiène, les détergents et les lessives où elles sont employées pour atténuer ou masquer les odeurs souvent désagréables des substances brutes (Kraiffi & Boualam, 2021).

### I.2.5. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles se trouvent dans l'ensemble du règne végétal, avec une abondance particulière dans certaines familles telles que les Conifères, les *Rutaceae*, les *Ombellifères*, les *Myrtaceae*, les *Lamiaceae* et les *Annonaceae*. Tous les organes des plantes peuvent en contenir, notamment les sommités fleuries comme celles de la lavande, de la menthe et de la mélisse, ainsi que les racines ou rhizomes comme celles du vétiver et ceux du gingembre. Les écorces, comme celles de la cannelle, et les fleurs, comme celles de l'ylang-ylang, renferment également des huiles essentielles, tout comme le bois du camphrier, les fruits des agrumes et les grains de poivre (Benlahrache, 2022)

Il est important de noter que dans une même espèce, les huiles essentielles peuvent se trouver dans différents organes, et leur composition peut varier d'un organe à l'autre. Cette composition est également influencée par les conditions climatiques et édaphiques du lieu de récolte, la teneur en huile essentielle étant généralement plus élevée dans les climats chauds (Obame , 2009).

### I.2.6. Composition chimique des huiles essentielles

La composition des huiles extraites de la plante, tant sur le plan qualitatif que quantitatif, peut différer en fonction de leur emplacement dans la plante. La production des huiles essentielles se déroule dans le cytoplasme des cellules sécrétrices. Ces huiles s'accumulent généralement dans des cellules glandulaires spécifiques, situées près de la surface de la plante.

Les huiles essentielles peuvent être stockées soit dans des cellules transformées en cellules à essence, soit dans des poils glandulaires (comme chez les Lamiacées), soit dans des poches sécrétrices (comme chez les Myrtacées), ou encore dans des canaux sécréteurs (comme chez les Apiacées) (Liénard, 2012).

Elles se distinguent par la présence de composants majeurs en haute concentration, accompagnés d'autres éléments en quantités moindres. Elles se divisent en deux groupes principaux issus de biosynthèses différentes : d'une part, les terpènes, et d'autre part, les constituants aromatiques et aliphatiques dérivés du phénylpropane, ainsi que certains composés contenant du soufre ou de l'azote (Lamia, 2013).

Il est important de reconnaître que chaque huile essentielle (HE) contient une multitude de molécules actives, chacune ayant des propriétés spécifiques. Cela confère à une HE son caractère unique et polyvalent. Contrairement à un médicament, qui est souvent composé d'une seule substance active, une HE intègre divers composés tels que des aldéhydes, cétones, esters, éthers, phénols, alcools et terpènes en quantités variables. Cette diversité lui permet d'agir sur plusieurs cibles, révélant ainsi ses nombreuses propriétés. La complexité de la composition d'une HE est donc considérable (Muther, 2015).

Selon la monographie de la Pharmacopée européenne, la matière végétale peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, à l'exception des fruits du genre *Citrus* qui doivent toujours être traités frais. Les huiles essentielles peuvent être soumises à un traitement ultérieur approprié et peuvent être commercialement désignées comme déterpénées, désesquiterpénées, rectifiées ou privées de « x ».

- Une huile essentielle déterpénée est une huile essentielle qui a été partiellement ou totalement débarrassée des hydrocarbures monoterpéniques.
- Une huile essentielle déterpénée et désesquiterpénée est une huile essentielle qui a été partiellement ou totalement débarrassée des hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques.
- Une huile essentielle rectifiée est une huile essentielle ayant subi une distillation fractionnée pour éliminer certains composants ou modifier leur concentration.
- Une huile essentielle privée de « x » est une huile essentielle qui a subi une séparation partielle ou totale d'un ou plusieurs composants (Kiouas & Naili., 2019).

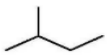
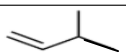
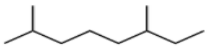
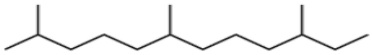
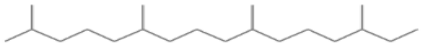
### I.2.6.1. Composés terpéniques

Les terpènes représentent le groupe le plus important des produits naturels, comprenant environ 30 000 composés. Ils sont formés par l'assemblage d'une ou plusieurs unités à cinq atomes de carbone, souvent représentées par une unité isoprène $(C_5H_8)_n$ (Benlahrache, 2022).

Dans la nature, les terpènes peuvent avoir diverses fonctions chimiques, telles que des alcools, des oxydes, des aldéhydes, des cétones, des acides carboxyliques et des esters (Reghaissia, 2020).

Le tableau 1 présente la structure moléculaire de certains composés terpéniques majeurs identifiés dans les huiles essentielles étudiées, afin de mieux illustrer leur diversité chimique et leur potentiel biologique.

**Tableau1: Structure moléculaire de certains composés terpéniques** (Reghaissia, 2020)

| | |
|---|---|
| Hémiterpènes C5 |  2-méthyl butane  2-méthyl-1,3 butadiène (isoprène) |
| Monoterpènes C10 |  2,6- diméthyloctane |
| Sésquiterpène C15 |  2, 6,10 – triméthyldodécane (farmésane) |
| Diterpènes C20 |  **2,6,10,14-tétraméthylhexadécane** |

### a. Monoterpènes

Les composés mono terpéniques sont formés de deux unités d'isoprène, avec une formule chimique brute de $C_{10}H_{16}$. Ils peuvent être classés en mono terpènes acycliques, monocycliques et bicycliques. La réactivité des cations intermédiaires explique la diversité des molécules qui présentent différentes fonctions, telles que des alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes et phénols (Bouzabata, 2015).

La figure 1 ci-dessous illustre la structure moléculaire de quelques composés mono terpéniques, reconnus pour leurs propriétés biologiques, notamment antimicrobiennes et antioxydantes.

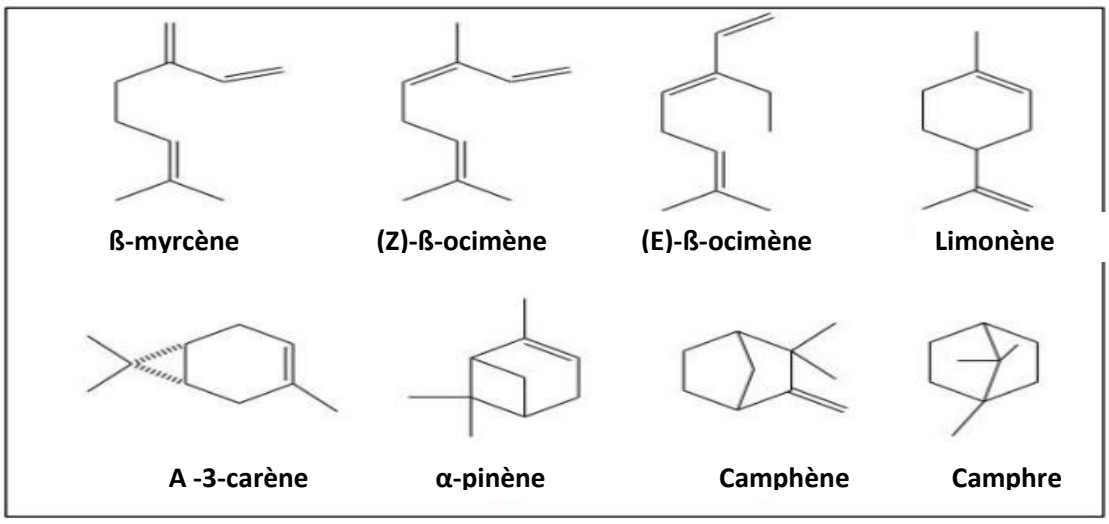



**Figure 1: Structure moléculaire de certains composés monoterpéniques** (Misago, 2022)

### b. Sesquiterpènes

Cette classe est la plus diversifiée des terpènes, comprenant plus de 3 000 molécules. Les sesquiterpènes sont constitués de trois unités d'isoprène, avec une formule chimique de $C_{15}H_{24}$, soit une fois et demie celle des terpènes. Leur grande variété de structures entraîne de nombreuses possibilités, ce qui a retardé l'élucidation de leurs configurations. Les sesquiterpènes peuvent également être acycliques, monocycliques ou polycycliques, et ils contiennent des fonctions telles que des alcools, des cétones, des aldéhydes et des esters (Monographies Relatives Aux Huiles Essentielles, 2000).

Cette figure (Fig.2) met en évidence de certains composés sesquiterpéniques, qui, bien que plus lourds, jouent un rôle également crucial dans l'activité biologique des huiles essentielles étudiées.

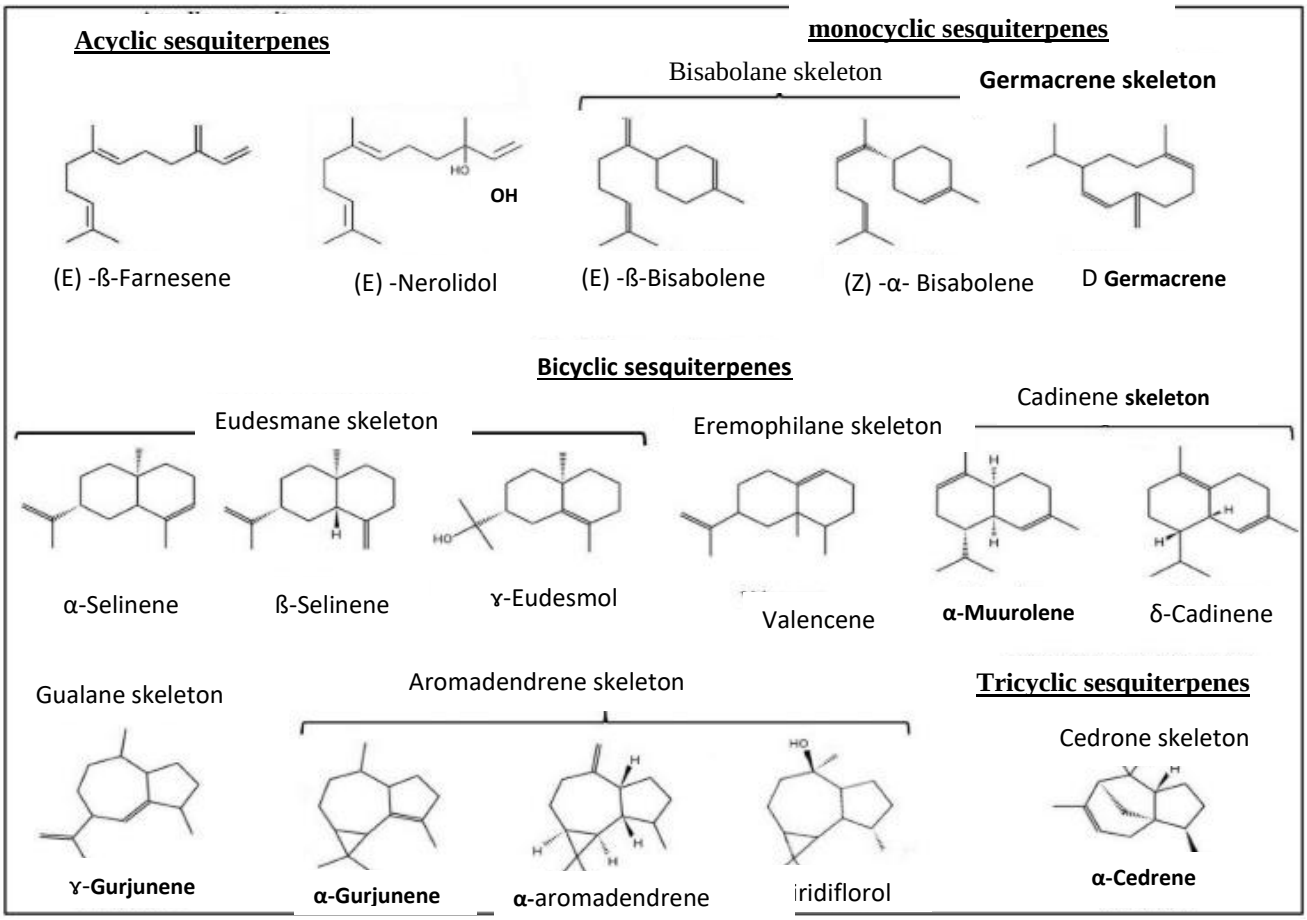



**Figure 2: Structure moléculaire de certains composés sesquiterpéniques** (Taleb-Toudert, 2015)

## I.3. Activité biologique des huiles essentielles

Les plantes aromatiques présentent diverses activités biologiques, notamment les propriétés fongicides, insecticides, herbicides, bactéricides et antioxydantes. Les huiles essentielles, en particulier, sont réputées pour leurs propriétés antiseptiques et antimicrobiennes.

De nombreuses huiles essentielles possèdent également des effets antitoxiques, antivenimeux, antiviraux, antioxydants et antiparasitaires. Plus récemment, certaines d'entre elles ont été reconnues pour leurs propriétés anticancéreuses (Goudjil, 2020).

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique et aux effets synergiques potentiels entre ses différents composants. Sa valeur réside dans l'ensemble de ses constituants, et pas uniquement dans les composés majoritaires (Boulefa & Amaissia, 2020).

### I.3.1. Activité antioxydante

Les substances d'origine naturelle sont de plus en plus utilisées dans divers produits de consommation. Leur popularité croissante s'explique par le fait que les alternatives synthétiques ont souvent une réputation négative auprès du grand public, qu'elle soit justifiée ou non. Les plantes constituent une source inépuisable et renouvelable de principes actifs, dont les usages traditionnels et médicaux sont bien établis (Penchev et al., 2010).

Un antioxydant est une substance capable d'inhiber de façon significative l'oxydationd'un substrat oxydable lorsqu'il est présent à de faibles concentrations par rapport à celle du substrat (Soumahoro, 2022).

Les antioxydants jouent un rôle crucial en neutralisant les radicaux libres, qui peuvent être nuisibles à la santé humaine en raison de leur pouvoir oxydant élevé, contribuant ainsi au vieillissement cellulaire. De plus, les antioxydants présents dans les aliments protègent les molécules organiques de l'oxydation et semblent également offrir une protection contre le cancer. Bien que l'activité antioxydante trouvée dans différentes huiles essentielles ait été quantifiée, le manque de connaissances sur les conditions nécessaires pour un processus efficace de purification constitue un obstacle à son utilisation à grande échelle (Hammoudi et al., 2015).

C'est le cas de trois huiles essentielles testées dans ce travail qui ont été qualifiées par leurs activités antioxydantes.

### I.3.2. Piégeage du radical libre DPPH•

La méthode de piégeage du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est reconnue comme la technique initiale pour évaluer le potentiel antioxydant des huiles essentielles. Cette approche est simple : l'huile essentielle est mélangée à une solution de DPPH, et l'absorbance est mesurée après une durée d'incubation de 30 min à l'abri de la lumière. Le DPPH est un radical libre stable, avec un électron non apparié sur un atome d'azote. Grâce à cette délocalisation, le radical DPPH• demeure dans sa forme monomère relativement stable à température ambiante, ce qui lui confère une couleur violette foncée, mesurable par spectrophotométrie autour de 517 nm. Lorsqu'un antioxydant capable de céder un atome d'hydrogène est présent, il réduit le DPPH•, provoquant une diminution de la couleur violette. La solution devient alors de plus en plus jaunâtre. L'efficacité de l'antioxydant est déterminée par la mesure de cette diminution de la coloration violette (Soumahoro, 2022).

La figure 3 indique le mécanisme de réduction du radical libre DPPH· Par un anti oxydant AH via un transfert d'atome d'hydrogène, conduisant à la formation de DPPH-H.

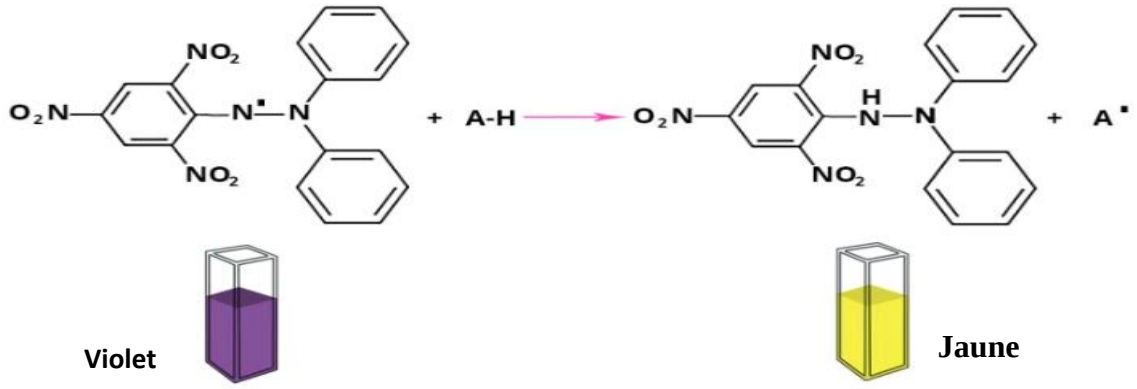



**Figure 3: Réduction du DPPH** (Soumahoro, 2022)**.**

### I.3.3. Activité antibactérienne

Les bactéries sont à l'origine de nombreuses infections microbiennes, représentant une des principales causes de mortalité à l'échelle mondiale. Leur résistance aux antibiotiques devient de plus en plus préoccupante. Pour contrer ce phénomène de synthèse-résistance, il est crucial d'explorer d'autres méthodes pour réduire ou éliminer les infections sans recourir à des produits synthétiques. Il est donc pertinent de rechercher des solutions utilisant des molécules bioactives d'origine végétale.

Parmi les agents responsables des toxi-infections alimentaires (TIA), on trouve *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Bacillus cereus*.

Ces infections surviennent de manière aiguë à la suite de l'ingestion d'aliments contaminés par des bactéries ou leurs toxines (Smaili., 2022b).

### I.4. Effet conservateur des huiles essentielles

Les intoxications alimentaires constituent un enjeu croissant de santé publique à l'échelle mondiale. Pour contrôler efficacement les agents pathogènes d'origine alimentaire, il est essentiel d'utiliser diverses techniques de conservation lors de la fabrication et du stockage des aliments. De plus, la récente préférence des consommateurs pour des produits à faible teneur en sel et en sucre accentue le besoin de conservateurs efficaces, car cette réduction peut diminuer la durée de conservation. Bien que les huiles essentielles (HE) et leurs composés chimiques aient prouvé leur efficacité en tant que conservateurs, leur utilisation est limitée, car des concentrations élevées sont nécessaires pour obtenir une activité antimicrobienne adéquate. Ces concentrations peuvent également engendrer des effets organoleptiques négatifs qui dépassent le seuil de tolérance des consommateurs. Par conséquent, leur utilisation est souvent restreinte aux aliments épicés, où le seuil sensoriel acceptable est relativement élevé. De nombreuses recherches soulignent les diverses propriétés conservatrices des HE, ainsi que leurs applications dans le domaine médical (Caroline, 2022).

### I.5. Conservation des huiles essentielles

Pour prévenir les réactions d'oxydation des huiles essentielles, il est recommandé de les conserver :

- à l'abri de l'air et de la lumière,
- de préférence à basse température (4°C),
- dans des flacons propres, secs, étanches, en verre coloré, en acier inoxydable ou en aluminium (Bessaci, 2024).

## I.6. Règlementation des huiles essentielles

Concernant le statut des huiles essentielles, la réglementation ne prévoit pas leur existence en tant que telles. Les huiles essentielles peuvent donc être considérées à tour de rôle comme des compléments alimentaires, des cosmétiques, etc. Il est donc nécessaire de se référer à la réglementation spécifique en vigueur pour chaque usage.

Bien que la plupart des huiles essentielles soient en vente libre, l'article D4211-13 du Code de la Santé Publique appartenant au droit Français fixe une liste d'huiles essentielles relevant du monopole pharmaceutique. Ces huiles présentent une toxicité qui nécessite un contrôle par le pharmacien lors de leur délivrance.

Les huiles essentielles sur cette liste incluent : Grande absinthe (*Artemisia absinthium* L.), Petite absinthe (*Artemisia pontica* L.), Armoise commune (*Artemisia vulgaris* L.), Armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso), Armoise arborescente (*Artemisia arborescens* L.), Thuya du Canada ou cèdre blanc (*Thuya occidentalis* L.), Cèdre de Corée (*Thuya Koraenensis* Nakai), Hysope (*Hyssopusnofficinalis* L.), Sauge officinale (*Salvia officinalis* L.), Tanaisie (*Tanacetum vulgare* L.), Thuya (*Thuya plicata*Donn ex D. Don.), Sassafras (*Sassafras albidum*Nees), Sabine (*Juniperus sabina* L.), Rue (*Rutagra veolens* L.), Chénopode vermifuge (*Chenopodium ambrosioides* L. et *Centratherum anthelminticum* L.), et Moutarde jonciforme (*Brassicajuncea* L. Czern. et Cosson)(Combalot, 2013).

## I.7. Toxicité des huiles essentielles

Certaines huiles essentielles comme celles d'Absinthe, d'Armoise, de Cèdre, d'Hysope, de Sauge officinale, de Thuya et de Menthe poivrée sont à éviter en cas d'antécédents d'épilepsie, chez les personnes âgées présentant des troubles nerveux, et chez les enfants de moins de 7 ans (Assami et Meziane, 2014).

La neurotoxicité est due à la forte affinité des cétones pour les lipides, ce qui pourrait entraîner un passage à travers la barrière hémato-encéphalique, une destruction des gaines de myéline et des perturbations électriques des neurones, provoquant une excitation suivie d'une dépression. De plus, les huiles essentielles contenant des cétones ont un effet abortif en raison de leur activité utéro-tonique et doivent donc être évitées pendant la grossesse (Kiouas & Naili., 2019).

## I.8. Huiles essentielles contre-indiquées pendant la grossesse et l'allaitement

Certaines huiles essentielles sont contre-indiquées pendant la grossesse et l'allaitement du fait que :

### a. Pendant la grossesse

Certaines HE peuvent avoir des effets toxiques sur le fœtus, entraînant des malformations congénitales ou d'autres complications (toxicité potentielle, ex. HE de *Salviasclarea* L.), d'autres peuvent provoquer des contractions utérines, augmentant le risque de fausse couche ou de travail prématuré (stimulation des contractions, ex. HE de Menthe poivrée),d'autres encore peuvent interférer avec les niveaux hormonaux, perturbant le développement normal du fœtus (interférence hormonale, ex. HE d'*Eucalyptus globulus*) (Assami et Meziane, 2014).

### b. Pendant l'allaitement

Certaines HE peuvent être excrétées dans le lait maternel et exposer le nourrisson à des substances potentiellement nocives (transmission des substances nocives au nourrisson**)**. Les bébés peuvent être plus sensibles aux composants des HE, entraînant des réactions allergiques ou d'autres effets indésirables (Assami et Meziane, 2014)**.**

Le tableau 2 met en lumière que certaines espèces végétales présentent des huiles essentielles contre-indiquées les unes pendant la grossesse ainsi que les autres pendant la grossesse et l'allaitement.

**Tableau 2: Liste d'HE contre-indiquées pendant la grossesse et l'allaitement**(Monographies Relatives Aux Huiles Essentielles, 2000)**.**

| **Les HE contre-indiquées pendant 3 premiers mois de la grossesse** | **Les HE contre-indiquées pendant toute la durée de grossesse et d'allaitement.** |
|---|---|
| **Les huiles essentielles extraites de :**<br>Arbre à thé, Basilic, Bergamote, Camomille, Citron, Estragon, Eucalyptus citronné, Genévrier, Gingembre, Laurier, Lavande, Mandarine, Myrrhe amère, Oranger, Rose, Verveine citronné, Ylang-Ylang. | **Les huiles essentielles extraites de :**<br>Absinthe, Aneths, Anis étoilé, Armoises, Balsamite, Basilic camphré, Boldo, Cannelle, Cèdres, Céleri cultivé, Curcuma, Giroflier, Hélichryse, Hysope officinale, Lavande stœchade, Menthes, Moutarde noire, Origans, Persils, Romarin à camphre, Sapin blanc, Sauges, Thuya. |

## I.9. Précautions d'utilisation

A l'état pur, les HE sont très concentrées et constituées de nombreuses molécules volatiles actives. A ce titre, les huiles essentielles peuvent être très puissantes et leur usage doit respecter certaines précautions comme :

- Eviter l'exposition au soleil après application sur la peau, car certaines huiles essentielles sont photosensibles, comme celles des agrumes (Mandarine, Citron, …).
- Ne jamais appliquer d'huile essentielle pure sur les yeux, les muqueuses auriculaires, digestives, nasales et urogénitales, sauf sur avis médical ou pharmaceutique.
- Ne jamais injecter des huiles essentielles par voie intramusculaire ou intraveineuse.
- Se laver les mains avec de l'eau et du savon après avoir appliqué des huiles essentielles.
- Eviter de réaliser des aérosols d'huiles essentielles pour des patients allergiques et asthmatiques sans supervision médicale, ainsi que pour les personnes ayant des antécédents d'épilepsie ou de convulsions (Da Silva, 2010).

## I.10. Critères qualités des HE

La sécurité d'utilisation des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles dépend principalement de la qualité des matières premières utilisées et de la formulation du produit final. Pour assurer cette qualité, les huiles essentielles doivent être extraites de matières premières clairement identifiées, contrôlées selon des procédés spécifiques, et présenter des caractéristiques physico-chimiques précises, tout en étant correctement conservées. En France, les caractéristiques physiques, organoleptiques, chimiques et chromatographiques des huiles essentielles sont régies par des normes établies par l'AFNOR, élaborées par une commission dédiée (T75A : nom de cette commission). Ces normes sont mises en place en collaboration étroite avec les producteurs et les importateurs, résultant d'un dialogue entre experts. La majorité de ces normes sont également adoptées à l'échelle mondiale, devenant des normes ISO, en tenant compte des connaissances des experts internationaux. Le groupe chargé de ces normes est le groupe ISO TC 54 (Monographies Relatives Aux Huiles Essentielles, 2000).

### I.10.1. Dénomination botanique

L'origine végétale d'un produit doit être clairement définie par sa dénomination scientifique botanique, conformément aux règles de la nomenclature linnéenne.

Le nom d'une plante, exprimé en latin, comprend le genre suivi de l'espèce, ainsi que l'initiale ou l'abréviation du botaniste qui l'a décrite en premier. Ce nom peut être complété par la sous-espèce ou la variété, et la famille botanique est généralement indiquée. Pour éviter les confusions causées par l'existence de nombreux synonymes, il est essentiel de se référer à la norme ISO 4720, qui fournit une nomenclature des plantes utilisées pour produire des huiles essentielles, incluant les noms communs en anglais et en français. De plus, cette norme contient un index alphabétique des noms communs des huiles essentielles dans ces deux langues.

### I.10.2. Origine géographique

Le nom du pays ou de la région fournit des informations précieuses sur le biotope (l'environnement) de la plante aromatique, ce qui influence sa composition biochimique spécifique.

### I.10.3. Mode de culture

L'information tirée sur le mode de culture indiquera si la plante est sauvage ou cultivée, et si elle provient d'une agriculture biologique (label BIO) ou non.

### I.10.4. Chémotype ou chimiotype

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse associée à un spectromètre de masse permet d'identifier les molécules essentielles pour une utilisation optimale des H.E.C.T. Au sein d'une même espèce botanique, plusieurs races chimiques ou chimiotypes peuvent exister, résultant de légères variations dans les voies de biosynthèse, ce qui conduit à l'accumulation de différents métabolites secondaires. Il est donc crucial, pour certaines huiles essentielles, de déterminer précisément le chimiotype, car cela peut influencer leur activité et/ou leur toxicité.

### I.10.5. Stade de développement botanique

Les propriétés des chémotypes peuvent varier en fonction du stade de développement, c'est-à-dire si la cueillette se fait avant, pendant ou après la floraison.

### I.10.6. Organe distillé

La composition biochimique des huiles essentielles chémotypées change selon la partie ou l'organe de la plante qui est distillé.

Bien que tous les organes d'une même espèce puissent contenir une huile essentielle, la qualité et la quantité de cette huile peuvent varier en fonction de leur emplacement dans la plante. La biosynthèse et l'accumulation des molécules aromatiques sont généralement liées à la présence de structures histologiques spécialisées (comme les cellules à essence, les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs), souvent situées à la surface de la plante ou à proximité.

### I.10.7. Mode d'extraction

La composition des huiles essesntielles chémotypées (H.E.C.T.) peut changer en fonction de la méthode d'extraction employée, que ce soit par distillation, hydro-distillation, percolation ou expression.

### I.11.Procédés d'extraction des huiles essentielles

Pour obtenir des huiles essentielles, plusieurs méthodes peuvent être employées et, celle la mieux adaptée est choisie en fonction de la nature de la matière végétale à traiter et des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire.

La figure 4 illustre les principales méthodes d'extraction des huiles essentielles.

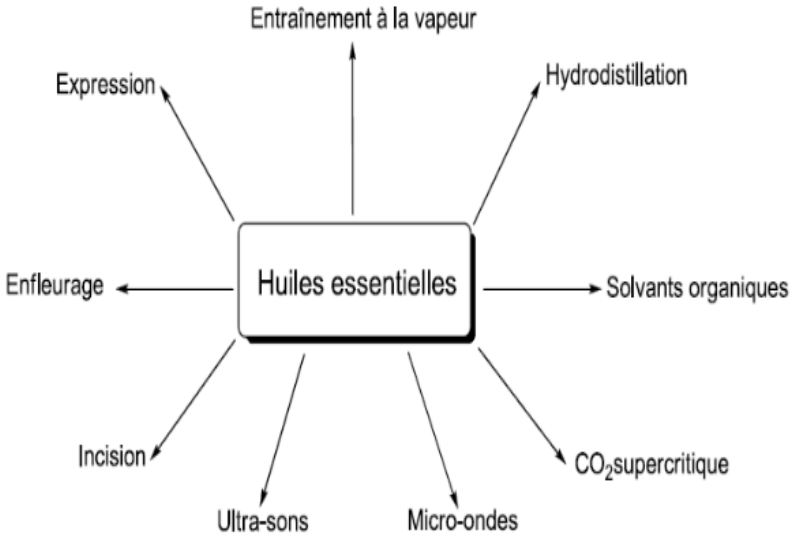



**Figure 4: Principales méthodes d'extraction des HE** (Didi Aicha & Yakoubi Sofia, 2021)

### I.11.1. Extraction des HE par hydrodistillation

L'hydrodistillation, une méthode économique et largement utilisée (environ 80% des cas), consiste à immerger la matière végétale dans l'eau d'un alambic, puis à chauffer le mélange jusqu'à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant, et l'huile essentielle est séparée par différence de densité (Kraiffi & Boualam, 2021).

La figure 5 illustre le procédé d'extraction des huiles essentielles par hydro distillation, la méthode la plus couramment utilisée.

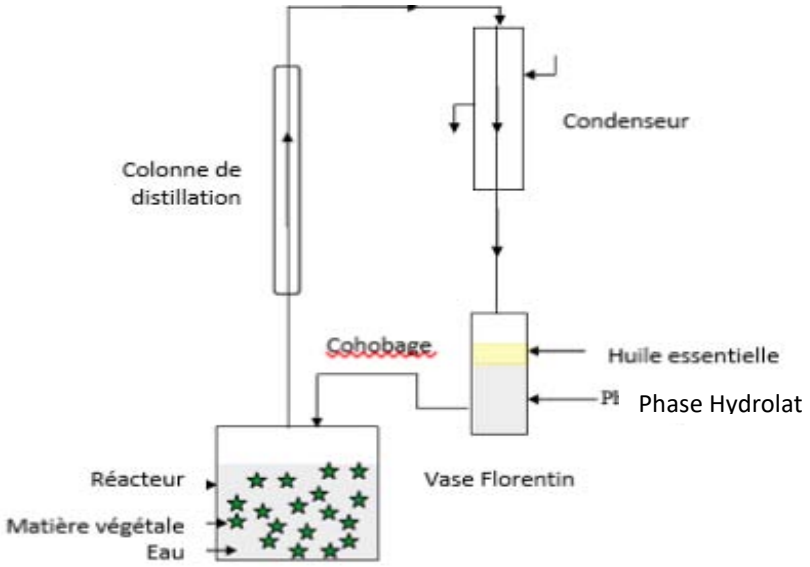



**Figure 5: Méthode d'extraction des HE par hydrodistillation** (Boukhatem, 2019)

### I.11.2. Extraction des HE par entraînement à la vapeur

Ce procédé d'extraction repose sur l'entraînement à la vapeur (Fig. 6), où la matière végétale est directement exposée à un flux de vapeur, sans macération préalable. Les composés volatils ainsi extraits sont condensés, puis séparés en deux phases distinctes : une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE), grâce à un essencier. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, ainsi qu'entre l'eau et les molécules aromatiques, prévient les réactions d'hydrolyse et de dégradation, préservant ainsi la qualité de l'huile essentielle. De plus, cette méthode permet d'obtenir une huile essentielle (HE) au parfum plus délicat, avec une distillation plus rapide et régulière, et une concentration élevée en esters, notamment dans la lavande, la bergamote ou la camomille (Boukhatem, 2019).

Les conditions de distillation optimales requièrent une température avoisinant les 100°C et une pression ne dépassant pas la pression atmosphérique. Cette méthode, bien que lente (plus d'une heure), se caractérise par un faible rendement (Si Bouazza & Zenasni., 2020).

La figure 6 illustre l'appareillage utilisé pour extraire des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau.

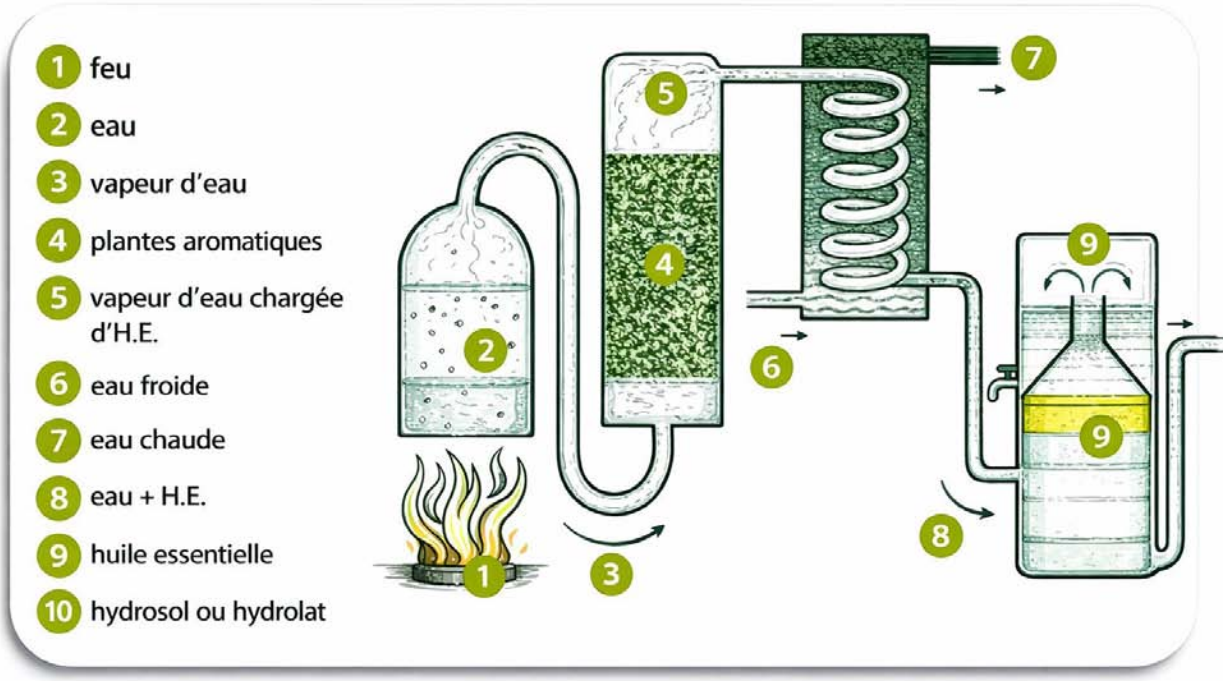



**Figure 6: Appareillage utilisé pour entraînement à la vapeur d'eau** (Si Bouazza &Zenasni., 2020)**.**

### I.11.3. Extraction des HE par hydro diffusion

L'hydro diffusion est une méthode de co-distillation où le végétal est placé dans un récipient métallique grillagé. Ce processus implique l'application de vapeur d'eau saturée et humide, sans surchauffe, de haut en bas. La conception de l'appareil favorise une distribution uniforme des charges.

La vapeur transporte les substances volatiles, et l'huile essentielle est collectée via un dispositif équilibré avec la pression atmosphérique.

De plus, un système de cohobation renvoie les eaux séparées des huiles vers la cuve d'extraction (ou l'alambic) pour être à nouveau diffusée à travers la matière végétale (Fig. 7).

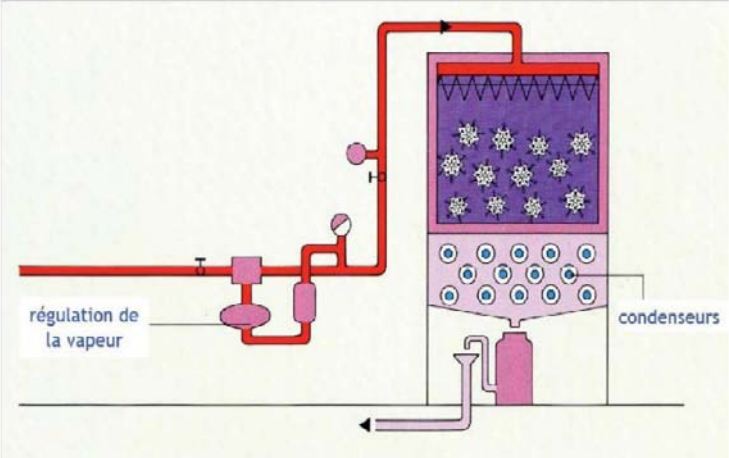



**Figure 7: Procédé d'hydro diffusion** (Azzala, 2021)

### I.11.4. Extraction des HE par enfleurage

L'enfleurage est une technique traditionnelle d'extraire des parfums en utilisant des graisses. Elle se divise en deux méthodes : à chaud et à froid. Ces procédés sont souvent plus efficaces que la distillation pour les fleurs sensibles, comme le jasmin et le narcisse, car ils préservent mieux les arômes délicats (Azouz& Demouche, 2022). Dans cette méthode, les fleurs sont placées sur des graisses absorbantes, qui se chargent en essence au bout de quelques jours. Les pommades ainsi créées peuvent être utilisées directement dans des produits cosmétiques ou traitées avec de l'alcool pour obtenir des extraits concentrés. Cela permet une extraction douce qui respecte les caractéristiques olfactives des plantes (Bousbia, 2011).

### I.11.5. Technique d'extraction des HE par des solvants assistée par micro-ondes

Ce procédé repose entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique, en intégrant une partie du montage dans un four à micro-ondes (fig. 8). Le matériau végétal est placé avec une quantité adéquate d'eau dans un ballon à l'intérieur du four à micro-ondes. Le système de réfrigération et la partie destinée à la récupération des huiles essentielles se trouvent à l'extérieur du four. Parmi les avantages de cette méthode, on note la rapidité du processus et la similarité de la composition de l'huile par rapport à une hydrodistillation traditionnelle (Ferhat, 2005).

La figure 8 illustre le procédé d'extraction des huiles essentielles par des solvants assistée par micro-ondes.

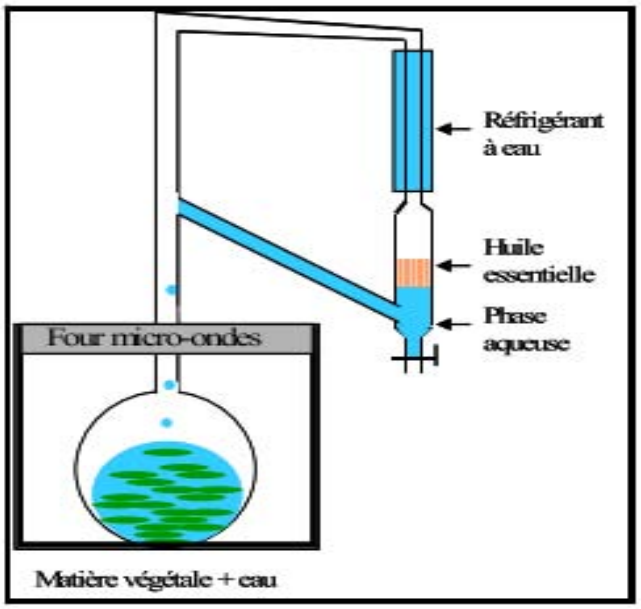



**Figure 8: Hydrodistillation assistée par micro-onde** (Ferhat, 2005)

### I.11.6. Technique d'extraction des HE sans solvant assistée par micro-ondes

Cette méthode repose sur un principe assez simple : il s'agit d'une distillation sèche assistée par micro-ondes. Elle consiste à placer des matériaux végétaux dans un réacteur micro-ondes sans ajouter d'eau ni de solvant organique. En chauffant l'eau présente dans la plante, les glandes contenant l'huile essentielle se rompent, libérant ainsi l'huile qui est entraînée par la vapeur d'eau générée. Un système de refroidissement à l'extérieur de la micro-onde permet de condenser en continu le distillat, qui est un mélange d'eau et d'huile essentielle. L'excès d'eau est renvoyé dans le réacteur pour maintenir l'humidité adéquate des matériaux végétaux. Cette technique a été utilisée pour deux types de plantes : les épices et les herbes aromatiques.

Pour ces dernières, après seulement 30 minutes d'extraction, les rendements en huiles essentielles obtenus par cette méthode sont comparables à ceux obtenus après 6 heures d'hydro distillation. De plus, les huiles essentielles extraites présentent une proportion plus élevée de composés oxygénés, qui sont particulièrement valorisables sur le plan olfactif (Yanisse, 2021).

La figure 9 illustre le procédé d'extraction des huiles essentielles sans solvants assistée par micro-ondes.

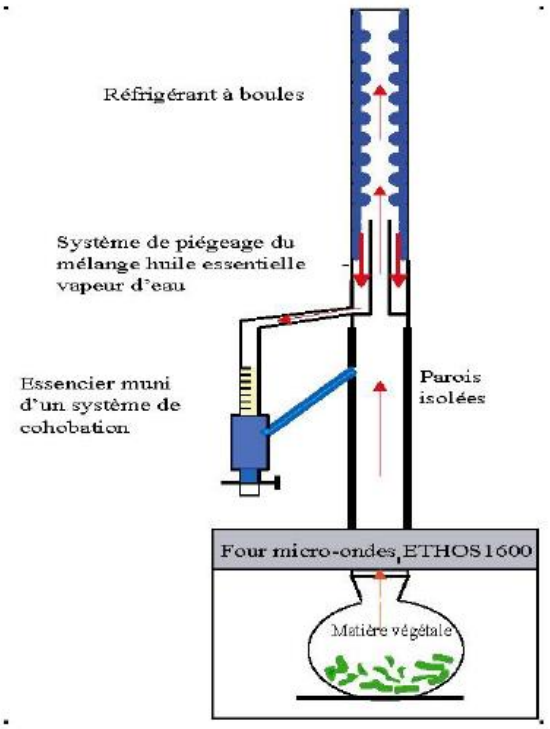



**Figure 9: Procédé d'extraction des HE sans solvant assistée par micro-onde** (Bousbia, 2011)

### I.11.7. Extraction des HE par les gaz supercritiques

L'extraction par fluide supercritique (EFS) utilise des solvants dans un état supercritique, ce qui augmente leur pouvoir de solvatation. Bien que divers solvants soient possibles, le dioxyde de carbone ($CO_2$) est largement préféré (90% des cas) pour sa facilité d'utilisation, sa non-toxicité, sa disponibilité, son faible coût et sa facilité d'élimination de l'extrait (Smaili, 2022a). L'EFS, une technique d'extraction 'verte' qui minimise ou élimine l'utilisation de solvants organiques, offre une rapidité d'exécution considérablement supérieure aux méthodes traditionnelles.

Cependant, les huiles essentielles obtenues peuvent présenter des variations de composition, tant qualitatives que quantitatives, par rapport à celles extraites par hydro distillation (Gomes et al., 2007).

La figure 10 illustre le procédé d'extraction des huiles essentielles sans solvants assistée par micro-ondes.

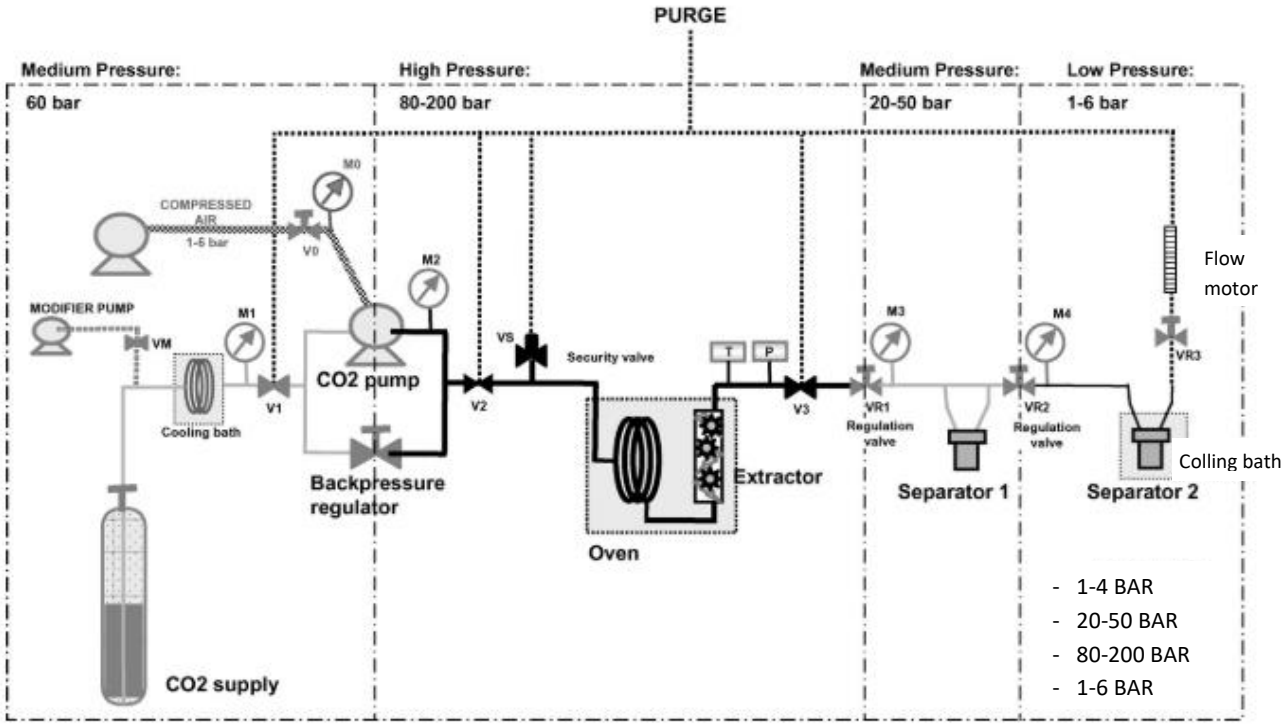



**Figure 10: Procédé d'extraction des HE par les gaz supercritiques** (Gomes et al., 2007)

### I.11.8. Extraction des HE par détente instantanée contrôlée (DIC)

La figure suivante illustre l'équipement D.I.C utilisé pour l'extraction des huiles essentielles. Le processus D.I.C débute par l'introduction de l'échantillon dans le réacteur et l'établissement d'un vide d'environ 20 mbar. Ce vide favorise une meilleure diffusion de la vapeur à travers l'échantillon, ce qui améliore le transfert thermique. Ensuite, la vapeur est injectée jusqu'à atteindre la pression souhaitée, comprise entre 1 et 8 bar.

A la fin de la durée de traitement, une détente rapide est effectuée en ouvrant la vanne électropneumatique pendant un dixième de seconde. Après la fermeture de la vanne de détente, la chambre de traitement est rétablie à pression atmosphérique, et l'extrait est récupéré dans le condenseur et le conteneur (Mellouk et al, 2007).

La figure 11 illustre le procédé d'extraction des huiles essentielles sans solvants assistée par micro-ondes.

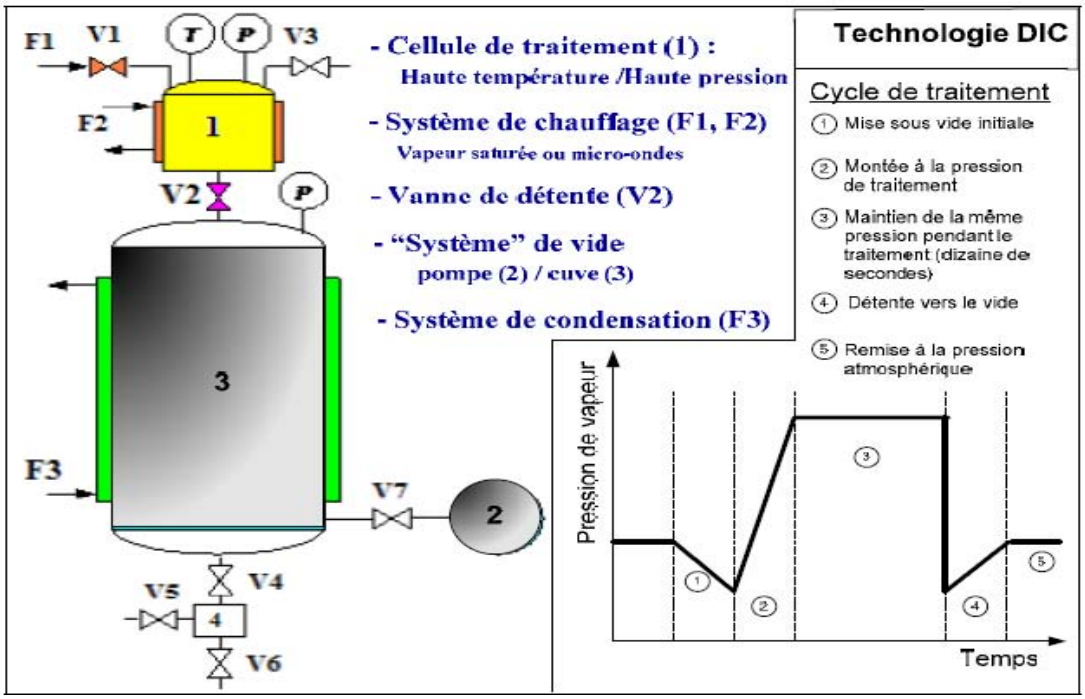



**Figure 11: Procédé d'extraction des HE par DIC** (Koziol, 2015a)

## I.12.Description botanique des espèces végétales étudiées

### I.12.1. *Rosmarinus officinalis* L. (Romarin)

Le nom de la plante vient du latin « Rosmaris », signifiant rosée de la mer. Cette désignation pourrait faire référence à son parfum, à la couleur de ses fleurs ou à son habitat côtier. Le terme « officinalis » évoque quant à lui ses propriétés médicinales (Koroghli, 2018).

C'est un arbrisseau touffu mesurant entre 0,5 et 2 mètres de haut, toujours vert. Il présente de nombreuses ramifications et est recouvert d'une écorce écailleuse, avec des tiges ligneuses généralement érigées. Les racines sont pivotantes, et les feuilles sont opposées, persistantes, aromatiques et sub-sessiles. Elles sont linéaires, mesurant de 2 à 3 cm de longueur pour 1 à 2 mm de largeur, et affichent une couleur bleu pâle ou lilas clair, ornées de taches violettes.

Les feuilles sont regroupées en grappes à l'aisselle des tiges. Le calice a une forme en cloche, avec une lèvre supérieure ovale et des lobes lancéolés sur la lèvre inférieure.

L'androcée est composé de deux étamines, et les fruits sont des tétrakènes bruns et luisants (Taleb-Toudert, 2015).

**Classification botanique**

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Rosmarinus*

Espèces : *Rosmarinus officinalis* (Koroghli, 2018)

**Figure 12: Illustration des feuilles de romarin utilisées pour évaluer les effets antimicrobiens et anti oxydants de leurs huiles essentielles.**

**I.12.2. *Eucalyptus maidenii*** (Maiden, 1913)

Au Burundi, les eucalyptus ont de nombreuses utilisations. En plus de protéger le sol et de lutter contre l'érosion, leurs dérivés servent à produire de l'énergie, notamment du bois de feu et du charbon de qualité, offrant une valeur calorifique élevée et stable. Ils sont également employés dans la construction de maisons, hangars, étables, enclos, ponts et poteaux électriques.

Les planches issues des eucalyptus sont de haute qualité, et l'écorce peut être utilisée pour produire de l'énergie et des tannins. Les extraits fournissent des gommes, des résines et des papiers.

Le feuillage, qui représente environ 10% de la biomasse aérienne, est souvent laissé sur le sol. Selon les espèces, les feuilles contiennent des quantités variées d'huile essentielle, qui pourraient devenir une matière première pour le marché local et un nouveau produit d'exportation.

Des recherches sont en cours pour extraire des huiles essentielles commercialisables. Traditionnellement, les feuilles d'*Eucalyptus maidenii* F.Muell sont utilisées pour traiter des maux de tête, la fièvre et la grippe. Dans les pays développés, l'huile essentielle d'eucalyptus est exploitée pour des applications en médecine, pharmacie, agroalimentaire, cosmétologie et parfumerie.

Par exemple, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est reconnue pour ses propriétés fébrifuges, désinfectantes et insecticides, et elle est un excellent antiseptique pour les bronches, agissant comme un puissant remède contre les maladies respiratoires (Misago, 2022).

**Classification botanique d'*Eucalyptus maidenii***

| | | |
|---|---|---|
| Règne | : | *Plantae* |
| Division | : | *Magnoliophyta*(plantes à fleurs / Angiospermes) |
| Classe | : | *Magnoliopsida* |
| Ordre | : | *Myrtales* |
| Famille | : | *Myrtaceae* |
| Genre | : | *Eucalyptus* |
| Espèce : | : | *Eucalyptus maidenii* (Maiden, 1913) |

### I.12.3. *Cymbopogon citratus* (Citronnelle)

Le *Cymbopogon citratus* est une grande herbe vivace en touffe, aux longues feuilles étroites et coupantes au parfum citronné. Il est originaire d'Asie, cultivé pour ses usages culinaires, médicinaux et pour son huile essentielle riche en citral (Keita, 2025).

**Classification botanique**

| | | |
|---|---|---|
| Règne | : | végétal ; |
| Sous règne | : | *tracheobionta* ; |
| Super Embranchement | : | *Spermatophyta* ; |
| Embranchement | : | *Magnoliophyta* ; |
| Classe | : | *Liliopsida* ; |
| Sous classe | : | *Commelinidae* ; |
| Ordre | : | *Cyperales* ; |
| Famille | : | *Poaceae* ; |
| Genre | : | *Cymbopogon* |
| Espèce | : | *Cymbopogon citratus* (Kiouas & Naili., 2019). |

### I.12.4. *Bidens pilosa* L.

*Bidens pilosa* L., communément appelée "herbe à aiguilles" ou "bident à feuilles étroites", est une plante herbacée annuelle appartenant à la famille des Astéracées. Elle se caractérise par des tiges dressées, anguleuses et très ramifiées. Ses feuilles sont opposées, divisées en trois à cinq lobes dentés. Elle produit des fleurs en capitules, avec des fleurs centrales jaunes et parfois des fleurs périphériques blanches. Les fruits sont des akènes allongés munis de petites arêtes crochues, facilitant leur dispersion par les animaux ou les vêtements (Zriouil I., 2020).

**Classification botanique :**

| | |
|---|---|
| Règne | : *Plantae* |
| Embranchement | : *Magnoliophyta* |
| Classe | : *Magnoliopsida* |
| Ordre | : *Asterales* |
| Famille | : *Asteraceae* |
| Genre | : *Bidens* |
| Espèce | :*Bidens pilosa* L.(Zriouil, 2020). |

### I.12.5. *Ageratum conyzoides*

*Ageratum conyzoides*, aussi connue sous le nom de "menthe bâtarde"ou "herbe puante", est une plante herbacée annuelle ou vivace de la famille des Astéracées. Elle possède des tiges velues, des feuilles simples, opposées, ovées à marge dentée, et dégage une odeur forte lorsqu'on les froisse. Ses fleurs, de couleur bleu-violet à lavande, sont réunies en petits capitules serrés, donnant un aspect duveteux à l'inflorescence. Elle est souvent présente dans les zones tropicales et subtropicales, notamment en bordure des champs ou dans les champs (Djibo et al., 2024).

**Classification botanique :**

| | | |
|---|---|---|
| Règne | : | *Plantae* |
| Embranchement | : | *Magnoliophyta* |
| Classe | : | *Magnoliopsida* |
| Ordre | : | *Asterales* |
| Famille | : | *Asteraceae* |
| Genre | : | *Ageratum* |
| Espèce | : | *Ageratum conyzoides* L.(Carl, 1753) |

### I.12.6. *Moringa oleifera*

*Moringa oleifera*, couramment appelé "moringa", "arbre de vie" ou "nébéday", est un arbre caducifolié appartenant à la famille des Moringacées. Il est originaire du nord de l'Inde mais largement cultivé dans les régions tropicales et subtropicales. L'arbre atteint généralement 5 à 10 mètres de haut. Il possède des feuilles composées pennées, très riches en nutriments (vitamines, minéraux, protéines), des fleurs blanches ou crème, odorantes, et produit des gousses allongées surnommées "bâtons de tambour". Chaque partie de la plante (feuilles, graines, racines, écorce) est utilisée en alimentation, médecine ou cosmétique(Sofiane, 2009).

**Classification botanique :**

| | | |
|---|---|---|
| Règne | : | *Plantae* |
| Embranchement | : | *Magnoliophyta* |
| Classe | : | *Magnoliopsida* |
| Ordre | : | *Brassicales* |
| Famille | : | *Moringaceae* |
| Genre | : | *Moringa* |
| Espèce | : | *Moringa oleifera* L. (Sofiane, 2009). |

# CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES

## II.1. Cadre conceptuel du travail

Le présent cadre conceptuel illustre la démarche scientifique adoptée dans cette étude portant sur l'évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles extraites des plantes médicinales faisant l'objet de cette étude. Le travail débute par l'identification et la sélection de plantes médicinales locales, qui constituent la principale source de matière première. Les huiles essentielles sont ensuite extraites à partir de ces plantes par hydrodistillation.

Après l'extraction, les huiles essentielles obtenues sont soumises à une évaluation de leurs propriétés biologiques, notamment l'activité antioxydante, l'activité antimicrobienne. Ces propriétés déterminent le potentiel des huiles essentielles à inhiber l'oxydation et la croissance microbienne.

Les résultats de ces évaluations permettront d'envisager l'application des huiles essentielles dans la conservation de la viande hachée.

## II.2. Matériels

### II.2.1. Matériel végétal

Dans cette étude, l'extraction d'huiles essentielles a été réalisée à partir de feuilles sèches d'*Eucalyptus maidenii*, *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus officinalis*, *Ageratum conyzoides*, *Moringa oleifera* et *Bidens pilosa* (Fig. 13).

Le choix de ces espèces a été motivé par leur large usage en médicine tradionnelle Burundaise et leur disponibilité locale facilitant leur exploitation ainsi que leur fort potentiel de valorisation comme alternative aux traitements conventionnels.

Toutes les plantes qui ont fait l'objet de cette étude ont été récoltées sur trois sites différents du territoire national du Burundi.

*Eucalyptus maidenii* et *Cymbopogon citratus* ont été récoltés sur la colline de Mayuyu, Commune de Mukike de la province de Bujumbura. *Rosmarinus officinalis*, *Ageratum conyzoides* et *Bidens pilosa* quant à eux ont été récoltées sur la colline Rutorero de la province Cibitoke, commune Mabayi. *Moringa oleifera* a été récoltée en mairie de Bujumbura,

commune Mukaza zone Rohero. Ces sites ont été choisis en fonction de la disponibilité naturelle de ces espèces végétales et de leur accessibilité.

La figure 13 illustre les différentes espèces végétales qui ont fait l'objet de cette étude.

**Figure 13: Séchage des feuilles de (a) : *Bidens pilosa* L., (b) *Eucalyptus maidenii* F. Muell, (c) : *Ageratum conyzoides* L., (d) : *Moringa oleifera* Lam., (e) : *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, (f) : *Rosmarinus officinalis* L.**

### II.2.2. Matériels et produits/réactifs utilisés pour les analyses au laboratoire

Les analyses effectuées dans ce travail ont nécessité l'usage d'un matériel varié,mais aussi des produits chimiques comprenant les solvants, les réactifs spécifiques, etc.

Le tableau 3 liste tout le matériel et tous les produits chimiques utilisés au cours de ce travail.

**Tableau3: Matériels et produits chimiques utilisés**

| **Matériels** | **Produits/Réactifs** |
|---|---|
| **Extraction des huiles essentielles** | |
| - Les échantillons de plantes<br>- Colonne de vigreux<br>- Tête de distillation<br>- Ballon (de 2 litre)<br>- Bécher<br>- Pissette<br>- Ampoule à décanter<br>- Manteau chauffant<br>- Condenseur<br>- Quelques grains de pierre ponce | - Eau distillée |

| | |
|---|---|
| - Thermomètre<br>- Elévateur<br>- Statifs<br>- Balance analytique<br>- Eprouvette graduée | |
| **Test de l'activité antioxydante** | |
| - Fiole jaugée de 10 ml<br>- Tubes à essais<br>- Micropipette<br>- Béchers<br>- Cuves<br>- Balance analytique<br>- Spatule<br>- Flacons<br>- Spectrophotomètre UV mini-1240<br>- Etuve<br>- Incubateur<br>- Marqueur<br>- Papier aluminium<br>- Nacelle de peser<br>- Eprouvette graduée<br>- Porte-tubes à essai | - Acide ascorbique<br>- 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl<br>- Méthanol 99.5%<br>- Huiles essentielles (échantillons)<br>- Eau distillées<br>- Eau minérales |
| **Test de l'activité antimicrobienne** | |
| - Balance analytique,<br>- Autoclave,<br>- Bain-marie,<br>- Téflon,<br>- Etuve,<br>- Vortex,<br>- Frigo,<br>- Incubateur,<br>- Plaque chauffante magnétisée,<br>- Compteur de colonies<br>- Stylos compteur<br>- Bombonne à gaz butane<br>- Bec bunsen<br>- Boîtes de pétri<br>- Boîte d'allumettes | **1. Milieux de culture :**<br>- PCA,<br>- SSA,<br>- CSA,<br>- VERBA,<br>**2. Échantillons :**<br>- Viande hachée<br>- Huiles essentielles<br>- Cristaux de glaces |

### II.2.3. Micro-organismes testés

L'usage des huiles essentielles comme agents antimicrobiens suscite un intérêt croissant dans le domaine de la sécurité alimentaire et de la santé. Cette étude se concentre sur l'analyse de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles contre plusieurs micro-organismes pathogènes, notamment *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphyloccocus* ainsi que les FAMT.

Ces bactéries ont été ciblées parce qu'elles sont fréquemment associées à des contaminations alimentaires, en particulier dans la viande hachée de vache qui fait l'objet de ce travail.

## II.3. Méthodes

### II.3.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

La technique d'hydrodistillation (Fig. 14) a été utilisée pour pouvoir extraire des huiles essentielles. Cette méthode a été choisie pour son efficacité et sa durabilité pour l'extraction des huiles essentielles issues de diverses espèces végétales et pour sa préservation de la qualité des plantes tout en étant aussi accessible et économique.

**Figure 14: Montage utilisé pour l'extraction des HE (1) et pour la décantation (2)**

a) **Mode opératoire**

Les feuilles ont été soigneusement récoltées, lavées pour éliminer toute impureté potentielle, puis séchées à l'abri de la lumière solaire. A l'aide d'une balance analytique, une masse de 191,07 ; 170,306 ; 171,269 ; 183,928 ; 163,327 ; 173,767grespectivement pour les feuilles sèches et morcelées d'*Eucalyptus maidenii, Cymbopogon citratus, Rosmarinus offinalis, Agaratum conyzoides, Bidens pilosa et Moringa oleifera* a été pesée. Les masses pesées ont été introduites dans des ballons de 2 L, auxquels ont été ajoutés au minimum1,2 L d'eau distillée. La distillation a été réalisée pendant 2h30 min à une température de 98°C, correspondant à la température d'ébullition de l'eau.

Les huiles essentielles, substances très volatiles, sont entraînées par la vapeur d'eau et traversent la colonne de Vigreux.

Cette dernière retient les composés volatils les plus lourds, ce qui améliore la pureté de l'huile essentielle obtenue. Les composés plus légers se condensent entièrement dans le condenseur et sont séparés de l'eau de distillation à l'aide d'une ampoule à décanter.

Après ouverture du robinet de l'ampoule, le distillat a été recueilli dans un bécher, tandis que l'huile essentielle a été collectée dans une éprouvette graduée pour déterminer le volume. Enfin, l'huile essentielle a été transférée dans des flacons préalablement tarés afin d'en mesurer la masse, puis stockée dans des flacons en verre ambré, conservés à l'obscurité, afin de préserver ses propriétés.

**b) Détermination du rendement d'extraction**

Le rendement d'extraction des huiles essentielles des différentes espèces végétales évaluées a été déterminé par l'équation suivante (Ouedrhiri, 2017)**:**

$$\mathrm{Rdt} = \frac{\mathrm{m(HE)\ x100}}{\mathrm{m(MS)}}$$

Où :

- Rdt : rendement d'extraction ;
- m(HE) : masse de l'huile essentielle produite par la quantité de matière sèche utilisée ;
- m(MS) : masse de la matière sèche utilisée.

### II.3.2.Evaluation de l'activité antioxydante

La méthode DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est largement utilisée pour l'évaluation de l'activité anti oxydante en raison de sa simplicité, de sa rapidité, de sa sensibilité, de sa reproductibilité et de sa large gamme d'applications pour différents composés bioactifs. Elle présente également une interprétation aisée et une bonne représentativité, ce qui en fait une méthode de choix. Cette méthode repose sur la réduction du radical stable DPPH$^{\bullet}$en sa forme non radicalaire DPPH-H, en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène.

Cette réaction se déroule dans un milieu alcoolique et se traduit par un changement de couleur caractéristique, passant du violet au jaune (Maataoui et al., 2006).

#### a) Mode opératoire

L'évaluation de l'activité anti oxydante des huiles essentielles a été réalisée selon la méthode au DPPH$^{\cdot}$, qui repose sur la réduction du radical libre DPPH$^{\cdot}$ en sa forme stable DPPH-H.

Pour la préparation de la solution de DPPH, 2 g de DPPH, préalablement pesés à l'aide d'une balance analytique, ont été dissous dans environ 25 mL de méthanol (pureté 99,9 %) dans une fiole jaugée de 50 mL. Après homogénéisation, le volume a été complété jusqu'au trait de jauge avec du méthanol, puis la solution a été protégée de la lumière à l'aide de papier aluminium afin d'éviter toute dégradation.

La solution d'acide ascorbique, utilisée comme témoin positif, a été préparée à une concentration de 1 mg/mL (10 ml de solution ont été préparés).

Cette la solution mère a ensuite été diluée dans des fioles jaugées de 10 mL pour obtenir des solutions filles aux concentrations de 5 %, 10 %, 25 % et 50 %. Les mêmes dilutions ont été effectuées pour les huiles essentielles afin de disposer d'échantillons de concentrations équivalentes à celles du témoin.

Pour chaque concentration, 2 mL de solution ont été mélangés avec 2 Ml de solution de DPPH dans des tubes à essai. Après homogénéisation, les tubes ont été enveloppés de papier aluminium pour les protéger de la lumière, puis incubés à l'obscurité pendant 30 minutes. A l'issue de l'incubation, l'absorbance des mélanges a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (Shimadzu, modèle UV mini-1240) à une longueur d'onde de 517 nm, contre un blanc constitué de la solution de DPPH dans le méthanol.

**b) Détermination du pourcentage d'inhibition**

Le pourcentage d'inhibition a été déterminé à l'aide de l'expression mathématique suivante :

$$\boldsymbol{PI = \frac{(A_0 - A_1) * 100}{A_0}}$$

Où :

- PI : pourcentage d'inhibition ;
- $A_0$ : absorbance du blanc (Méthanol + DPPH) ;
- $A_1$ : absorbance de l'échantillon testé (Ouedrhiri, 2017).

### II.3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Avant l'analyse de nos échantillons, le poste de travail, le matériel ainsi que les mains de l'opérateur ont été soigneusement désinfectés afin d'éviter toute contamination susceptible d'altérer la fiabilité des résultats.

Dans cette étude, les huiles essentielles d'*Eucalyptus maidenii*, de *Rosmarinus officinalis*et de *Cymbopogon citratus* ont été testées en vue d'évaluer leur capacité à inhiber la croissance des micro-organismes sélectionnés. L'objectif était d'explorer leur potentiel en tant qu'alternatives naturelles aux conservateurs synthétiques.

### II.3.4. Transport de la viande et des huiles essentielles

Les huiles essentielles étant sensibles à la lumière, il est nécessaire de les conserver dans des conditions permettant de prévenir leur dégradation. De même, la viande hachée, riche en éléments nutritifs et facilement périssable, doit être maintenue dans des conditions appropriées de lumière et de température afin de garantir sa sécurité microbiologique. La viande hachée utilisée pour les analyses a été achetée à la boucherie Nouvelle de la ville de Bujumbura, puis transportée dans une glacière isotherme jusqu'au laboratoire de microbiologie du CNTA, où l'ensemble des analyses microbiologiques ont été réalisées. Les mêmes précautions de conservation et de transport ont été appliquées pour les huiles essentielles, transférées depuis le lieu d'extraction jusqu'au CNTA, afin de préserver leur intégrité et leurs propriétés.

### II.4. Mode opératoire

**a. Préparation des échantillons**

Les huiles essentielles étant insolubles dans l'eau distillée mais solubles dans des solvants organiques tels que l'éthanol ou le méthanol concentré, une solution mère (SM) a été préparée à une concentration de 1 %. Pour ce faire, 1 g d'huile essentielle a été prélevé à l'aide d'une micropipette et introduit dans une fiole jaugée de 10 mL contenant 5 mL de méthanol (99,9 %). Après homogénéisation, le volume a été complété jusqu'au trait de jauge avec le même solvant, puis la solution a été de nouveau homogénéisée.

Pour obtenir la solution de travail, 1 mL de cette solution mère a été dilué avec 9 mL d'eau distillée dans une fiole jaugée, en homogénéisant soigneusement.

Cette dilution a permis d'obtenir une solution contenant 1 % d'huile essentielle et 10 % de méthanol, une concentration en solvant considérée comme non inhibitrice de la croissance microbienne. Des dilutions supplémentaires ont été préparées selon le même procédé pour obtenir des solutions à 0,5 % et 0,25 % d'huile essentielle.

**b. Préparation des milieux de culture**

Les milieux de culture utilisés dans cette étude sont les suivants :

- Salmonella Shigella Agar (SSA) : milieu de culture sélectif, principalement utilisé pour l'isolement et l'identification des bactéries des genres Salmonella et Shigella.
- Chapman Stone Agar (CSA) : milieu sélectif et différentiel destiné à l'isolement et à l'identification des bactéries du genre Staphylococcus, en particulier Staphylococcus aureus, présentes dans les produits destinés à la consommation humaine ou animale. Ce milieu contient des sels biliaires et des agents inhibiteurs favorisant la croissance des staphylocoques tout en limitant celle des autres bactéries.
- Violet Red Bile Agar (VRBA) : milieu de culture sélectif utilisé pour l'isolement et le dénombrement des bactéries du genre Escherichia coli et d'autres coliformes dans les échantillons alimentaires et environnementaux. La présence de violet cristal et de sels biliaires inhibe la croissance des bactéries indésirables, ce qui favorise une meilleure sélectivité pour les coliformes.
- Plate Count Agar (PCA) : milieu de culture polyvalent utilisé pour le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale, c'est-à-dire des bactéries capables de se multiplier en présence d'air à une température optimale comprise entre 25 et 40 °C. Ce milieu est essentiel pour l'évaluation de la qualité microbiologique globale des échantillons.

**b.1. Salmonella Shigella Agar (SSA)**

63,02 g de milieu SSA ont été pesés et dissous dans 1000 mL d'eau distillée. Le mélange a été chauffé à l'ébullition sur un agitateur magnétique chauffant afin de dissoudre complètement le milieu en veillant à ne pas autoclaver ni surchauffer, car un chauffage excessif pourrait altérer la sélectivité du milieu.

La gélose a ensuite été refroidie à une température comprise entre 45 et 50 °C avant d'être versée dans des boîtes de Pétri stériles, en quantité suffisante pour recouvrir uniformément le fond des boîtes.

**b.2. Chapman Stone Agar (CSA)**

20,25 g de milieu CSA ont été pesés et dissous dans 1000 mL d'eau distillée. Le mélange a été chauffé à ébullition sur un agitateur magnétique chauffant afin de dissoudre complètement le milieu. La gélose a ensuite été stérilisée à l'autoclave sous une pression de 15 lb/in² (121 °C) pendant 10 minutes. Après refroidissement à une température comprise entre 45 et 50 °C, la gélose a été versée dans des boîtes de Pétri stériles en quantité suffisante pour recouvrir uniformément le fond des boîtes.

**b.3. Violet Red Bile Agar (VRBA)**

41,53 g de milieu VRBA ont été pesés et dissous dans 1000 mL d'eau distillée. Le mélange a été chauffé à ébullition sur un agitateur magnétique afin de dissoudre complètement le milieu. La gélose n'a pas été autoclavée. Elle a été refroidie à une température comprise entre 45 et 50 °C, puis versée immédiatement dans des boîtes de Pétri stériles contenant l'inoculum.

**b.4. Plate Count Agar (PCA)**

23,5 g de milieu PCA ont été pesés et dissous dans 1000 mL d'eau distillée. Le mélange a été chauffé à ébullition sur un agitateur magnétique afin de dissoudre complètement le milieu. La gélose a ensuite été stérilisée à l'autoclave à 121 °C sous une pression de 15 lb/in² pendant 15 minutes. Après refroidissement à 45-50 °C et un bon mélange, elle a été versée dans des boîtes de Pétri stériles contenant l'inoculum.

### c. Préparation d'une suspension microbiologique

Un gramme de viande hachée a été pesé à l'aide d'une balance analytique et placé dans un tube à essai contenant 9 mL d'eau peptonée, permettant d'obtenir la suspension microbiologique mère (SMM). Ensuite, 1 mL de cette suspension a été prélevé à l'aide d'une micropipette et transféré dans un autre tube contenant 9 mL d'eau peptonée, générant ainsi une dilution $10^{-1}$.

Après homogénéisation à l'aide d'un vortex, 1 mL de la dilution $10^{-1}$ a été ajouté à un tube contenant 9 mL d'eau peptonée pour obtenir la dilution $10^{-2}$. Ce processus a été répété successivement jusqu'à atteindre la dilution $10^{-7}$.

Chacune de ces dilutions a ensuite été traitée avec des huiles essentielles provenant de différentes espèces végétales, aux concentrations de 1 %, 0,5 % et 0,25 %.

Il est important de noter que les embouts de micropipette ont été changés à chaque dilution et que toutes les opérations de pesée des échantillons, de préparation des solutions et d'inoculation des boîtes de Pétri ont été réalisées à proximité d'un bec Bunsen allumé, assurant ainsi l'asepsie de l'environnement de travail.

### d) Ensemencement

Des boîtes de pétri stériles, préalablement identifiées avec le nom de la dilution, le type de milieu de culture, la concentration et le numéro de répétition, ont été ensemencées à proximité d'un bec Bunsen allumé. L'ensemencement a été réalisé selon les méthodes standards pour les bactéries FAMT, les *Salmonella*, les *E. coli* et *Staphylococcus*. Un millilitre de suspension microbiologique a été prélevé à l'aide d'une micropipette et inoculé dans chaque boîte de Pétri, puis le milieu de culture approprié a été versé sur chacune d'elles. Pour *Staphylococcus*, un ensemencement de surface a été effectué : le milieu de culture a d'abord été versé dans les boîtes de Pétri et laissé solidifier avant l'inoculation.

**Tableau4: Milieux de culture, températures et durée d'incubation pour les microorganismes (Modèle de CNTA selon les normes ISO 16649-2 : 2001)**

| Microorganisme | Milieu de culture | Température d'incubation |
|---|---|---|
| FAMT | PCA | 37°C |
| *Staphyloccocus* | CSA | 37°C |
| *E. coli* | VRBA | 44°C |
| *Salmonella*. | SSA | 42°C |

**e) Incubation**

Avant l'incubation, les boîtes de Pétri contenant l'inoculum et la suspension microbiologique ont été laissées sur les paillasses pendant un certain temps afin de permettre la solidification des milieux de culture.

Les boîtes ont ensuite été déposées à l'envers dans des incubateurs, à des températures adaptées à chaque microorganisme analysé. Chaque microorganisme a son milieu de culture spécifique et sa température d'incubation.

**f) Comptage des unités formant colonies (UFC)**

Le dénombrement a été réalisé sur trois boîtes de Pétri d'une même dilution, dont les colonies étaient bien visibles et isolées. La moyenne des résultats obtenus sur les trois boîtes a été calculée, puis multipliée par l'inverse de la dilution considérée. Les résultats correspondent au nombre de microorganismes présents dans 1 g de viande hachée utilisée dans cette étude.

**g) Calcul du nombre estimé de microorganisme recherché**

Le nombre estimé ($N_E$) d'UFC dans l'échantillon à analyser, exprimé par gramme, est considéré comme la moyenne pondérée de microorganismes à partir des dilutions successives retenues.

Son calcul est facilité par l'expression mathématique suivante :

$$\boldsymbol{NE = \frac{\sum u}{v(n_1 + 0.1n_2)d}}$$

Où :

∑u =la somme des UFC comptées sur toutes les boites retenues de deux dilutions successives, dont une contenant au minimum 15 UFC caractéristiques ;

$v$ = le volume d'inoculum, en millilitres, appliqué à chaque boîte de pétri ;

$n_1$ = le nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

$n_2$ = le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution.

d = facteur de dilution correspondant à la première dilution retenue (Modèle de CNTA selon les normes ISO 16649-2 : 2001)

Les résultats obtenus après les calculs sont présentés dans les tableaux 7, 8 et 9.

### II.5. Analyse statistique des données et logiciels utilisés

L'analyse statistique des résultats obtenus a été réalisée à l'aide des logiciels Excel et SPSS version21. Le logiciel Microsoft Excel a été utilisé pour tracer les graphiques.

L'analyse de la variance (ANOVA) a été utilisé pour vérifier s'il y a une association entre deux variables au seuil $\alpha = 0,05$. L'ANOVA a été complétée par le test de comparaison multiple de Duncan, pour détecter les niveaux de différence. Les résultats ont été exprimés sous forme de valeurs moyennes ± erreur standard.

# CHAPITRE III. PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS

## III.1. Analyse du rendement d'extraction d'huile essentielle

Les résultats obtenus en termes de rendement d'extraction sont présentés dans le tableau 5.

**Tableau5: Rendement d'huiles essentielles obtenues après extraction.**

| Espèce végétale | Rendement (Moyenne-Ecart type) en % |
|---|---|
| ***Euchalyptus maidenii*** | 3.0667 ± 1.140 |
| ***Rosmarinus officinalis*** | 1.435 ± 0.008 |
| ***Cymbopogon citratus*** | 1.173 ± 0.0049 |
| ***Bidens pilosa* (Icanda)** | 0.000 ± 0.000 |
| ***Agaratum conyzoides*** | 0.000 ± 0.000 |
| ***Moringa oleifera*** | 0.000 ± 0.000 |

L'hydro-distillation a été utilisée comme méthode d'extraction des huiles essentielles des plantes sélectionnées. Cette méthode repose sur l'entraînement à la vapeur d'eau des composés volatils contenus dans les tissus végétaux, suivie d'une condensation pour récupérer l'huile essentielle (Boukhatem, 2019).

Les résultats obtenus montrent que l'*E. maidenii* contient plus d'huile essentielle avec un rendement plus élevé de 3,0667 ± 1,140%. Ces résultats sont proches de ceux de Misago et al., (2023) avec un rendement de 3.6% obtenu en utilisant des équipements locaux et 4% obtenu en utilisant un appareil de type Clevenger.

Cela indique que la quantité d'huile essentielle extraite d'une même espèce varie en fonction du procédé appliqué. Les résultats obtenus pour *C.citratus* sont relativement satisfaisants, avec un rendement de 1,173 ± 0,0049%, comparable de 2.12% rapporté par (Mohamed Hanaa et al., 2012)dans une étude réalisée en Egypte.

Pour le *R. officinalis*, les résultats sont également bons, avec un rendement de 1,435 ± 0.008%, comparable à ceux d'Assami et Meziane, (2014) dans la région de l'INA de l'Algérie (1,47%). Les rendements des régions de Bousmail et Jijel se sont avérés plus faibles , respectivement 0,34 et 0,33% (Assami et Meziane, 2014).

Certaines espèces végétales, telles que *A. conyzoides*, *B. pilosa* et *M. oleifera*, ne présentent pas d'huile essentielle détectable dans les feuilles, avec un rendement de 0.000 ± 0.000%. Ces résultats sont comparables à ceux de (Djibo et al., 2024) qui rapportent un rendement de 0,034 pour *A.conyzoides*, ainsi qu'à ceux d'Okunade L., (2002) (0.03%).

De même, le rendement nul observé pour ***B. pilosa*** est proche de celui rapporté par (Farah D. et al., 2008)(**0,06 %**) dans une étude réalisée au Japon. Pour ***M. oleifera***, le rendement obtenu (**0,000 ± 0,000 %**) est comparable à celui observé par Marrufo et al. (2013) (**0,05 %**). Ces résultats confirment que les huiles essentielles sont présentes en quantités très faibles dans les feuilles de ces espèces selon Zriouil, (2020).

### III.2. Evaluation du pouvoir antioxydant

Pour évaluer le pouvoir antioxydant des huiles essentielles testées, la méthode DPPH a été utilisée. Quatre concentrations différentes d'huiles essentielles (5% ; 10%, 25% et 50%) ont été mélangés avec la solution DPPH dans un rapport 1:1. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 6.

**Tableau 6: Effet de l'activité anti oxydante des différentes HE à différentes concentrations**

| **Con. en %** | **Pourcentage de réduction des radicaux libres** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Acide ascorbique** | ***Eucalyptus Maidenii*** | ***Cymbopogon citratus*** | ***Rosmarinus officinalis*** |
| **5** | 53,1733 ± 0,00577 | 15,8633 ± 0,00577 | 47,84 ± 0,11000 | 21,8267 ± 0,00577 |
| **10** | 70,5567 ± 0,00577 | 22,6 ± 0,01000 | 58,39 ± 0,07000 | 57,49 ± 0,01000 |
| **25** | 72,21 ± 0,01000 | 60,28 ± 0,01000 | 61,6 ± 0,08000 | 69,5467 ± 0,00577 |
| **50** | 77,6667 ± 0,00577 | 79,44 ± 0,00000 | 88,45 ± 0,05000 | 74,11 ± 0,00000 |

L'acide ascorbique présente une forte activité antioxydante, avec des valeurs élevées dès la plus faible concentration (5%), affichant un pourcentage d'inhibition de 53,1733 ± 0,00577%.L'activité antioxydante augmente progressivement avec la concentration, mais l'effet tend à se stabiliser après 10% (70,5567 ± 0,00577%), ce qui pourrait indiquer un effet plateau. Ces résultats confirment l'efficacité de l'acide ascorbique et justifient son utilisation comme référence positive dans les tests antioxydants.

L'huile essentielle de *C. citratus* présente également une activité antioxydante élevée, proche de celle de l'acide ascorbique, en particulier à 50%, où elle atteint 88,45 ± 0,05000% d'inhibition du radical libre DDPH•. Cette valeur est la plus élevée parmi toutes les huiles essentielles testées et dépasse les résultats rapportés par (Mirghani et al., 2012) qui avaient obtenu un pourcentage d'inhibition (PI) de 78,89% avec le même test (DPPH).

Le pourcentage d'inhibition de l'HE de *C.citratus* dépasse même celui du témoin, soulignant sa forte activité antioxydante à forte concentration. Cela suggère une teneur élevée en composés antioxydants, notamment les citrals (Koba et al., 2004).

L'HE de *R. officinalis* montre une amélioration marquée de l'activité antioxydante avec l'augmentation de la concentration. A 5%, l'activité reste faible (21,8267 ± 0,00577%), mais devient significative dès 10% (57,49 ± 0,01000%), se rapprochant de celle de l'acide ascorbique. Ce résultat est légèrement supérieur à celui rapporté par (Mimouni, 2016) (53.37±4.83%)et concorde avec les données de (Beloufa, 2018), qui indiquent un PI de **62,4 %**. Cette forte activité antioxydante pourrait être attribuée à la présence de composés phénoliques tels que le carnosol et l'acide rosmarinique (Boutabia et al., 2016).

L'huile essentielle d'eucalyptus présenteune activité antioxydante plus faible aux concentrations de 5% et 10%(respectivement 15,8633 ± 0,00577% et 22,6 ± 0,01000%).

Une amélioration notable est observée à partir de 25 %, atteignant un PI de 60,28 ± 0,01000 %, indiquant qu'une concentration plus élevée est nécessaire pour obtenir une activité comparable à celle des autres HE. Toutefois, son efficacité reste inférieure à celle de la citronnelle et du romarin.

Dans l'ensemble, ces résultats concordent avec la littérature, qui rapporte que les huiles essentielles riches en monoterpènes et en composés phénoliques possèdent une activité antioxydante mesurable et significative (Ismaili et al., 2017). Les mécanismes mis en jeu incluent la donation d'atomes d'hydrogène, la chélation des ions métalliques et l'inhibition de l'oxydation lipidique (Soumahoro, 2022).

### III.3. Evaluation du potentiel anti microbien

Pour évaluer le potentiel antimicrobien des huiles extraites, celles-ci ont été testées séparément à trois concentrations différentes (0,25% ; 0,50% et 1,00%) sur une suspension microbienne.

Pour chaque microorganisme, un milieu de culture spécifique, dépourvu d'huile essentielle (témoin), a été préparé et inoculé afin de servir de référence pour l'évaluation de l'effet inhibiteur des huiles.

Les microorganismes testés étaient *Escherichia coli, Staphyloccocus, Salmonella*. et Flore Aérobie Mésophile Totale (FAMT), cultivés respectivement sur les milieux VRBA, CSA, SSA et PCA.

Trois séries d'essais ont été réalisées pour chaque huile essentielle, correspondant aux trois concentrations testées. La quantification des populations microbiennes a été effectuée à trois temps d'incubation différents : 24 h, 48 h et 96 h.

### III.3.1. Evolution des microorganismes dans le milieu témoin

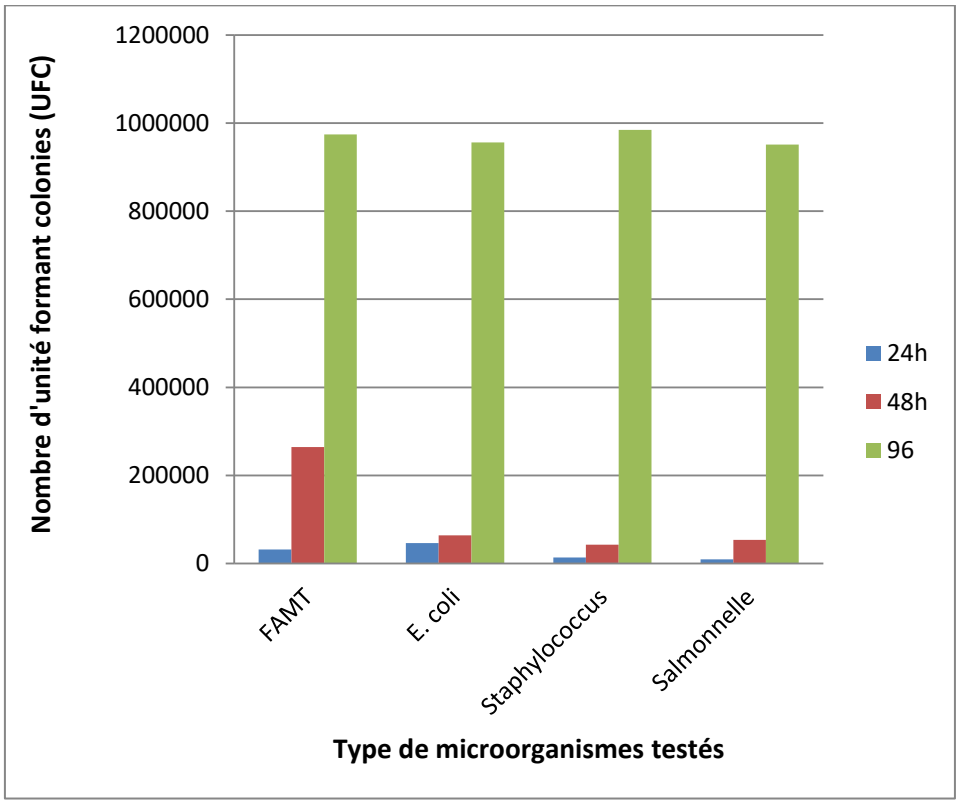



**Figure 15: Croissance des micro-organismes dans la solution témoin**

La figure 15 montre l'évolution des microorganismes dans le milieu de culture témoin. Les résultats obtenus montrent que tous les microorganismes testés se sont développés sur leurs milieux de culture respectifs et que la prolifération des microorganismes augmente en fonction du temps où une concentration plus élevée a été observée après les 96h.

Toutefois, il convient de préciser que la valeur retenue pour tous les microorganismes après 96 h est approximative, car leur nombre était déjà très élevé, rendant le comptage difficile.

Cela est illustré par la figure 16 montrant l'occupation de presque toute la surface du fond de la boîte de pétri par des colonies de Salmonelles.

**Figure 16: Nombre de colonie des salmonelles après 96h.**

### III.3.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus maidenii*

#### III.3.2.1. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus maidenii* à une concentration de 0,25%

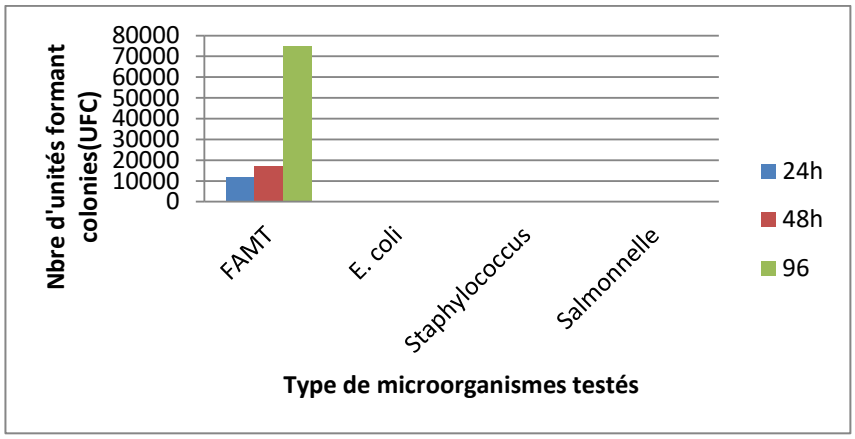



**Figure 17: Effet de l'huile essentielle d'*eucalyptus maidenii* à 0,25% sur la croissance des micro-organismes**

La figure 17 montre les résultats sur l'effet de l'huile essentielle d'eucalyptus à 0,25% de concentration sur la croissance des micro-organismes à une plage de 24h, 48h et 96h.

L'application de la dose 0,25% de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus maidenii*inhibe totalement la croissance d'*E.coli*, de *Staphylococcus* et de *Salmonella*. Sur toutes les trois plages de temps considérées. Par contre, la FAMT a résisté sensiblement à cette dose bien que sa croissance ait été ralentie comparativement au témoin (Fig. 15).

### III.3.2.2. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*eucalyptus maidenii*à une concentration de 0,50%

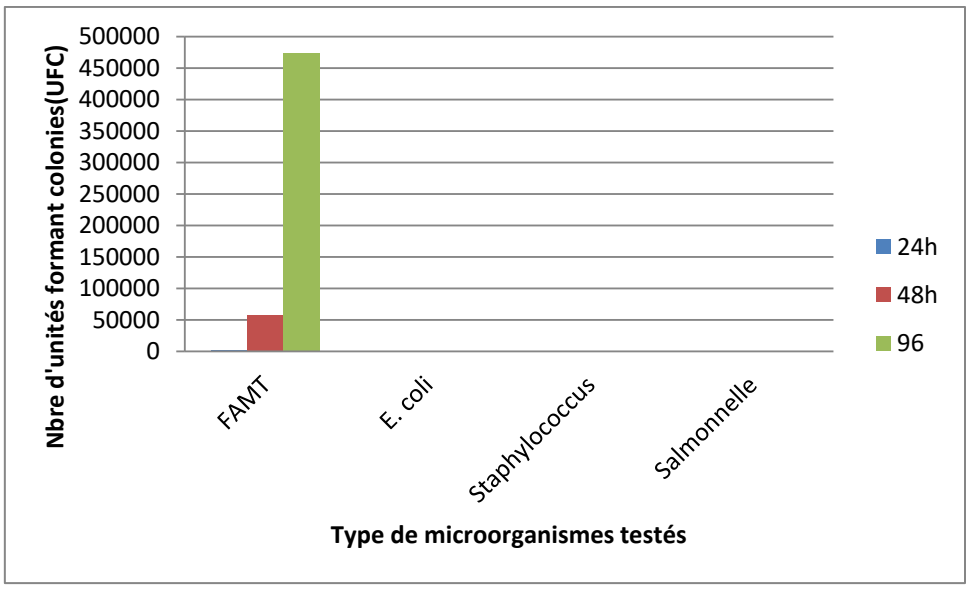



**Figure 18:Effet de l'huile essentielle d' *Eucalyptus maidenii* à 0,5% sur la croissance des micro-organismes testés**

La figure 18 illustre les résultats de l'effet de l'huile essentielle d'eucalyptus à 0,5% sur la croissance des micro-organismes. L'augmentation de la dose de l'huile essentielle d'*E. maidenii* à 0,5% a permis d'inhiber davantage la croissance de la FAMT et de maintenir absents les trois autres microorganismes (*E. coli*, *Staphylococcus* et *Salmonella*.) sur toutes les trois plages de temps considérés.

### III.3.2.3 Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus maidenii*à une concentration de 1,00%

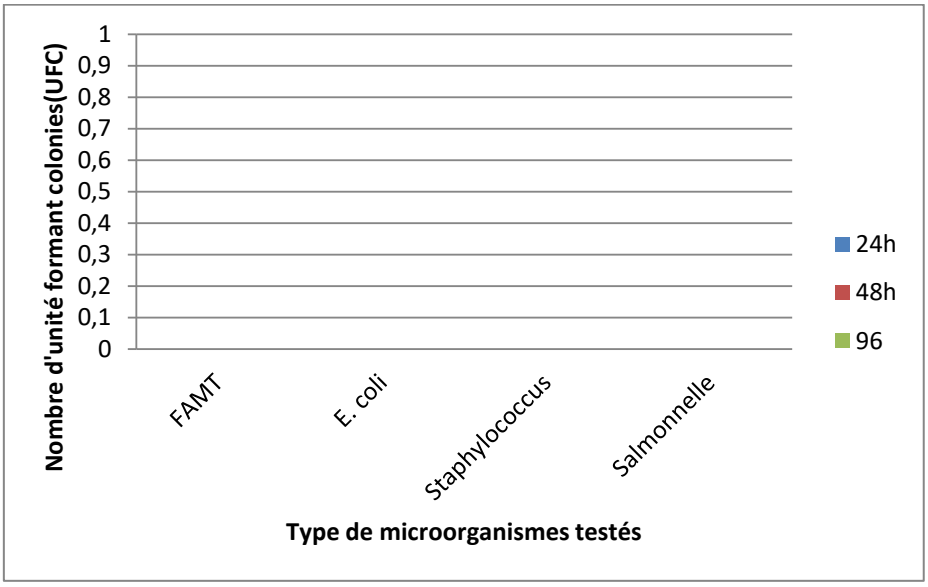



**Figure 19: Effet de l'huile essentielle d'*eucalyptus maidenii* à 1% sur la croissance des microorganismes**

La figure 19 montre les résultats sur l'effet de l'huile essentielle d'eucalyptus à 1% de concentration sur la croissance des micro-organismes à une plage de 24h, 48h et 96h. L'augmentation de la concentration de l'huile essentielle de l'*E. maidenii* jusqu'à 1% a permis d'inhiber de manière plus marquée la croissance de la FAMT. Une inhibition totale n'a été observée qu'après 96h, avec une absence complète de colonies (0,00 ± 0,000 d'UFC). Cette même concentration a également permis de maintenir l'absence de croissance des trois autres microorganismes (*E.coli*, *Staphylococcus* et *Salmonella*) sur l'ensemble des trois périodes d'incubation testées.

Ces résultats mettent en évidence une efficacité antimicrobienne notable de l'huile essentielle d'*E.maidenii*, caractérisée par l'absence totale de croissance de *Staphylococcus*, *E-coli* et les *Salmonella* à toutes les concentrations testées (0.25% à 1%) et à tous les temps d'incubation (0,00 ± 0,000 d'UFC). Seules les FAMT ont été détectées aux concentrations de 0.25% et 0.5%, confirmant néanmoins un pouvoir antimicrobien élevé de cette huile. Ces observations concordent avec celles rapportées par (Elaissi et al., 2012), qui obtenu un diamètre d'inhibition de 22.8±6.8 mm pour le *Staphylococcus*, bien que la méthode utilisée dans leur étude diffère de celle utilisée dans ce travail.

### III.3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite du *Rosmarinus officinalis*

#### III.3.3.1. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus offocinalis* à une concentration de 0,25%

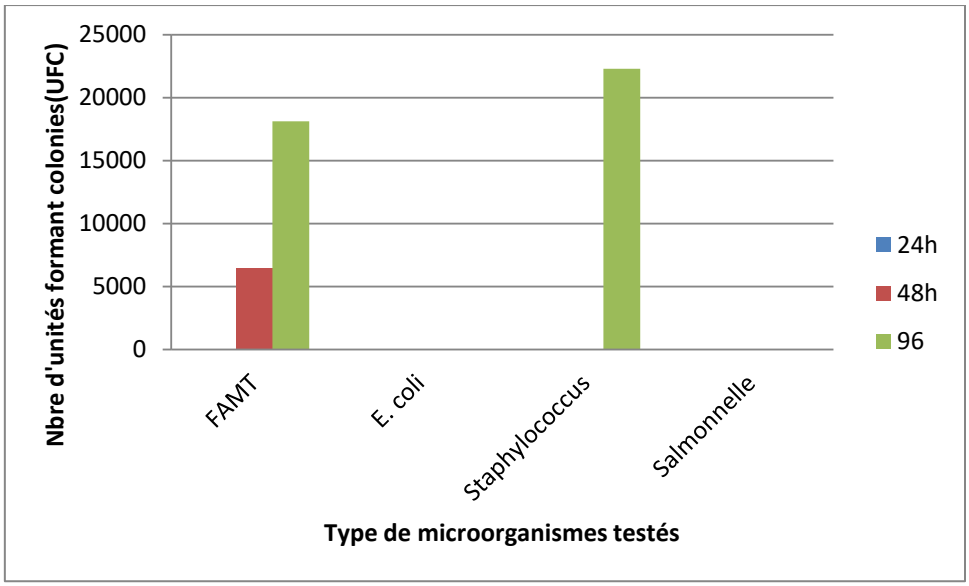



**Figure 20: Effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus offocinalis* à 0.25% sur la croissance des micro-organismes**

Les résultats présentés à la figure 20 montrent qu'une concentration d'une dose de 0,25% de l'huile essentielle du Romarin permet une inhibition totale de la croissance d'E. *coli* et de *Salmonella* sur toutes les trois plages de temps considérés (24h, 48h et 96h). Le *Staphylococcus* a résisté à ladite dose, cela a été détecté au quatrième jour. La FAMT a commencé à croître après 24h et sa concentration est restée croissante jusqu'au quatrième jour.

### III.3.3.2. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus offocinalis* à une concentration de 0,50%

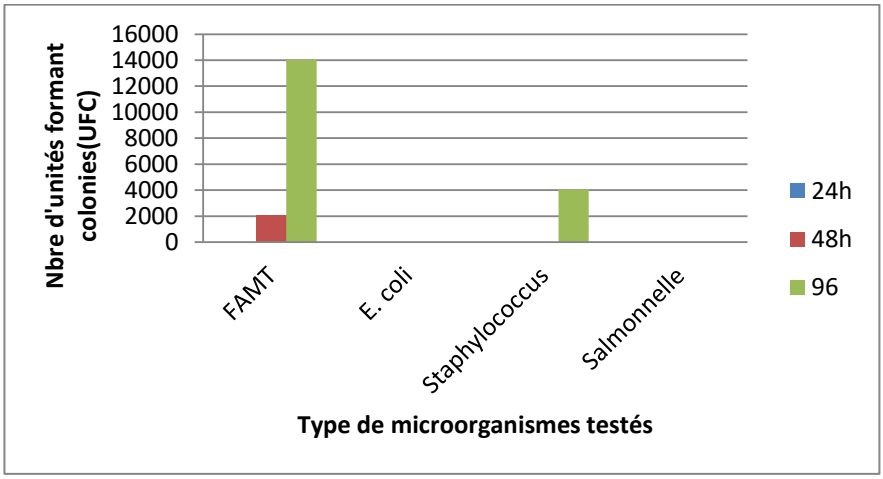



**Figure 21: Effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus offocinalis* à 0,5% sur la croissance des microorganismes**

La figure 21 montre les résultats de l'effet de l'huile essentielle de Romarin à 0,50% sur la croissance des microorganismes. L'augmentation de la dose de l'huile essentielle du Romarin jusqu'à 0,5% a permis d'améliorer les résultats observés avec une dose de 0,25%, ce qui a permis davantage une inhibition de la croissance de la FAMT et du *Staphylococcus*.

### III.3.3.3. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* à une concentration de 1,00%.

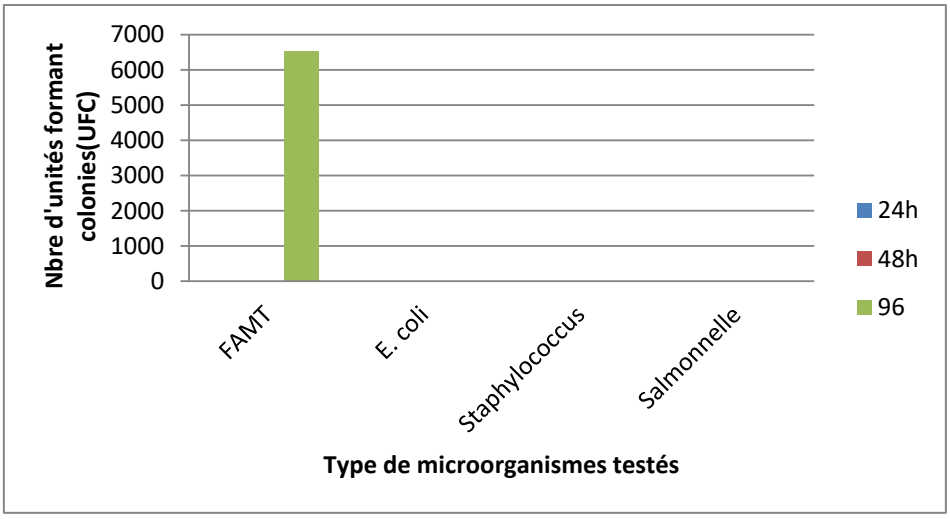



**Figure 22: Effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus offocinalis* à 1% sur la croissance des micro-organismes**

Les résultats illustrés à la figure 22 montrent qu'une augmentation d'une dose de l'huile essentielle du *R. officinalis* jusqu'à 1,00% permet d'améliorer les résultats observés avec une dose de 0,25% et de 0,5%. Cela a permis d'inhiber plus fortement la croissance de la FAMT et d'éliminer totalement celle de *Staphylococcus*. À la concentration de 1 %, seules les FAMT ont été détectées après 96 h.

Ces résultats indiquent une inhibition totale de la croissance de tous les microorganismes testés (0,00 ± 0,000UFC) à cette concentration. Après 48h, aux concentrations de 0,25% et 0,5%, seules les FAMT ont été observées, avec des valeurs respectives de18120,67 ± 54,049UFC et 14050,00 ± 50,000UFC, tandis que *Staphyloccocus* présentait des valeurs de 22281,33 ± 17,098 UFC et 4053,00 ± 36,592UFC. Ces résultats confirment une activité antimicrobienne puissante de l'huile essentielle testée dès 24 h d'incubation. Par ailleurs, les travaux de (Seenivasan et al., 2006) ont rapporté des zones d'inhibition de 10,6 ± 0,2 mm pour *E. coli* et 10,6 ± 1,0 mm pour *S. aureus*, traduisant également une bonne activité antimicrobienne, bien que moins marquée que dans la présente étude. De même, (Boutabia et al., 2016) ont montré que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* présente un pouvoir antimicrobien avec des diamètres d'inhibition de 17,1 mm pour *S. aureus* et 16,8 mm pour *E. coli*.

### III.3.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*

#### III.3.4.1. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à une concentration de 0,25%

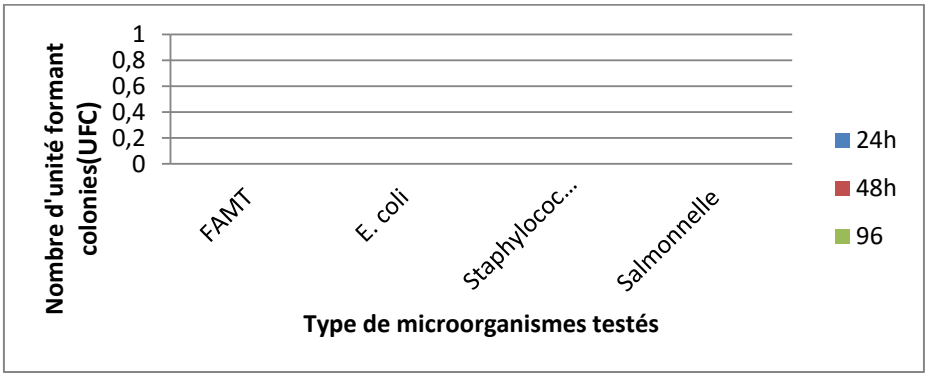



**Figure 23: Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à 0.25% sur la croissance des micro-organismes**

Une application d'une dose de 0,25% de l'huile essentielle de la citronnelle a permis d'inhiber totalement la croissance de tous les quatre microorganismes testés sur toutes les trois plages de temps considérés (24h, 48h et 96h). Aucune prolifération microbienne n'a été observée durant toutes les périodes évaluées, ce qui confirme le pouvoir antimicrobien de la citronnelle à une dose de 0,25%.

### III.3.4.2. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à une concentration de 0,50%.

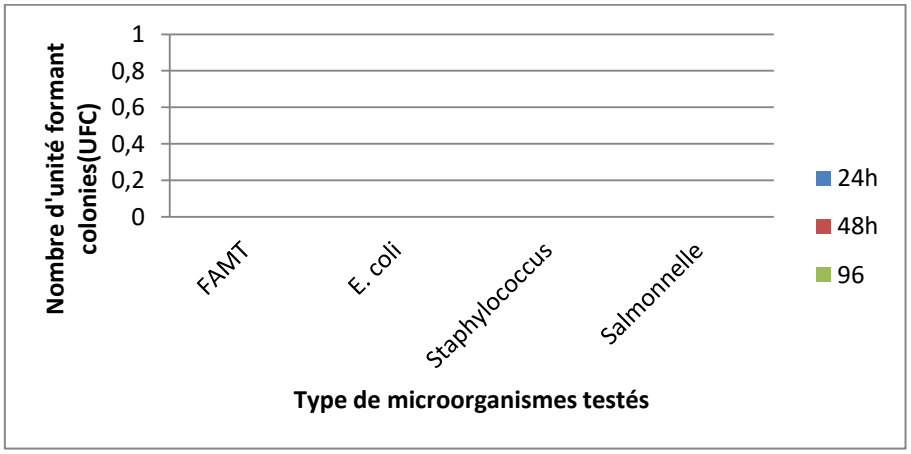



**Figure 24: Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à 0,5% sur la croissance des micro-organismes**

Une dose de 0,5% de l'huile essentielle de la citronnelle permet d'inhiber totalement la croissance de tous les quatre microorganismes évalués sur toutes les trois plages de temps considérés (Fig. 24). Aucun microorganisme n'a pu croitre.

### III.3.4.3. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*à une concentration de 1,00%

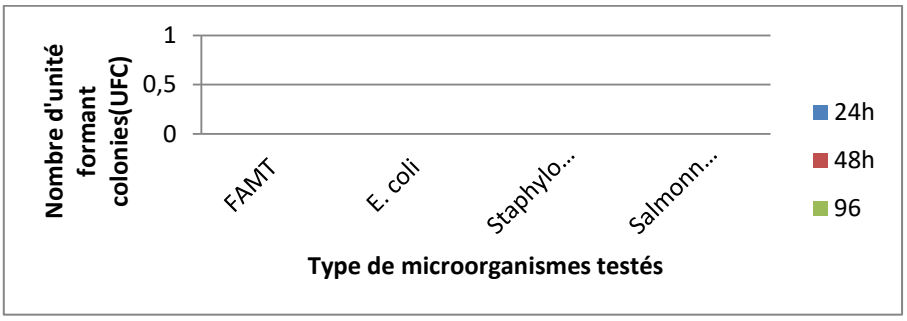



**Figure 25: Effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* à 1% sur la croissance des micro-organismes**

Les résultats présentés à la figure 25 montrent que l'application d'une dose de 1% de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* permet d'inhiber totalement la croissance de ces quatre microorganismes testés sur toutes les trois plages de temps considérés.

Selon les résultats rapportés par (Bassolé et al., 2011), l'huile essentielle de *C.citratus* présente les zones d'inhibition maximales de 24.3 ± 0.04 mm pour *Staphylococcus* et 15.3 ± 1.1 mm pour *E-coli.* Nos résultats, quant à eux, révèlent une inhibition totalede la croissance de ces microorganismes (0,00 ± 0,000 UFC)à toutes les concentrations testées, suggérant une activité antimicrobienne particulièrement puissante dans notre étude. Contrairement à l'étude menée par (Shanjun et al., 2020) sur l'activité antibiofilm de l'huile essentielle de *C. citratus*, où une concentration aussi faible que 0.3125% a permis de réduire la biomasse des biofilms de *S. aureus* d'environ 80%, et 0.5% a permis leur élimination totale. Nos résultats vont dans le même sens en montrant une inhibition complète de la croissance microbienne (0,00 ± 0,000 UFC) pour S. aureus ainsi que pour tous les autres microorganismes testés à toutes les concentrations utilisées.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles mettent en évidence un phénomène dose-effet marqué : plus la concentration de l'huile essentielle augmente, plus l'inhibition microbienne est importante. Ce comportement est typique des substances antimicrobiennes naturelles (Soumahoro, 2022).

Des études antérieures ont également montré que certaines huiles essentielles, telles que celles de *C. citratus* et de *Rosmarinus officinalis*, sont particulièrement efficaces contre un large spectre de bactéries, y compris des souches résistantes (Koba et al., 2004), (Koroghli, 2018). Toutefois, l'efficacité peut varier en fonction de la nature du microorganisme (**Gram+** ou **Gram−**), de son niveau de résistance intrinsèque et de la composition chimique spécifique de l'huile essentielle utilisée (Lamia, 2013).

# CHAPITRE IV. CONCLUSION GENERALE, RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

## IV.1. Conclusion générale

L'objectif de ce travail était d'évaluer les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles extraites de certaines plantes médicinales du Burundi, ainsi que leur potentiel dans la conservation de la viande hachée. Parmi les six plantes initialement ciblées, seules ***Eucalyptus maiideni***, ***Cymbopogon citratus*** (citronnelle) et ***Rosmarinus officinalis*** (romarin) ont permis l'extraction d'huiles essentielles exploitables. Les analyses ont montré que ces huiles possèdent une capacité significative de piégeage des radicaux libres, démontrant ainsi une activité antioxydante notable, bien que variable selon la plante et la concentration. L'huile essentielle de romarin s'est distinguée par une efficacité antioxydante particulièrement élevée.

Sur le plan antimicrobien, les essais réalisés sur de la viande hachée ont révélé que les huiles testées, notamment celle de la citronnelle, sont capables de limiter la prolifération de micro-organismes pathogènes tels que ***E. coli***, ***Salmonella***, ***Staphylococcus*** et les flores aérobies mésophiles totales. L'huile essentielle de citronnelle s'est révélée la plus efficace, inhibant la croissance bactérienne à toutes les concentrations et durant toute la période d'incubation. Ces résultats confirment le potentiel de certaines huiles essentielles locales comme alternatives naturelles aux conservateurs chimiques dans la conservation des produits alimentaires. Leur utilisation pourrait contribuer à la valorisation des ressources végétales du Burundi, à l'amélioration de la qualité sanitaire des aliments et à la promotion de méthodes de conservation plus saines et durables.

## IV.2. Recommandations

Au terme de cette étude sur les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles extraites de certaines plantes médicinales du Burundi, et compte tenu des résultats obtenus, les recommandations suivantes ont été formulées :

**1. Aux chercheurs et scientifiques :**

Il est recommandé de poursuivre les recherches sur d'autres plantes médicinales locales susceptibles de produire des huiles essentielles, afin d'enrichir la liste des extraits naturels utilisables en conservation alimentaire. De mener des études approfondies sur les mécanismes d'extraction des huiles essentielles et de concentration des molécules actives ainsi que sur leur stabilité dans les matrices alimentaires. De mener des recherches complémentaires sur les mécanismes d'action de ces huiles en étudiant leur impact sensoriel sur les produits alimentaires et leur efficacité à long terme, afin de faciliter leur intégration dans des applications industrielles à plus grande échelle.

**2. Aux institutions universitaires et de recherche :**

Le renforcement des activités de recherche sur les substances naturelles à usage alimentaire constitue un levier stratégique pour la valorisation du potentiel phytothérapeutique et agroalimentaire du Burundi. À cet égard, il est essentiel de :

- Doter les laboratoires de recherche d'équipements adaptés et performants, permettant la caractérisation physico-chimique, biologique et fonctionnelle des composés naturels.
- Encourager les collaborations interdisciplinaires entre chimistes, biologistes, nutritionnistes, technologues alimentaires et acteurs du développement rural, afin de favoriser une approche intégrée de la recherche et de la valorisation.
- Promouvoir la mise en valeur appliquée des résultats scientifiques, en facilitant le transfert de technologies vers les filières agricoles, agroalimentaires et phytothérapeutiques locales.

Une telle approche systémique permettrait non seulement d'optimiser l'exploitation des ressources naturelles locales, mais également de consolider l'innovation scientifique et la compétitivité des produits burundais sur les marchés nationaux et internationaux.

**3. Aux agro-industriels et transformateurs de viande :**

L'usage des huiles essentielles, en particulier celle de la citronnelle reste une efficacité remarquable, comme alternative naturelle aux conservateurs chimiques

**4. Aux décideurs et autorités sanitaires :**

Soutenir les initiatives visant la valorisation desplantes médicinales dans les politiques de santé publique et de sécurité alimentaire.

## IV.3. Perspectives

Les résultats de cette étude ouvrent la voie à plusieurs axes de recherche complémentaires :

**1. Etude de nouvelles plantes locales :**

Elargir l'étude à d'autres espèces végétales médicinales du Burundi afin d'explorer un plus grand éventail des huiles essentielles potentiellement efficaces dans la conservation des denrées alimentaires.

**2. Analyse chimique approfondie :**

Procéder à l'identification et à la quantification des composés bioactifs présents dans les huiles essentielles testées (par chromatographie, spectrométrie, etc.) pour mieux comprendre les molécules responsables des effets antioxydants et antimicrobiens.

**3. Evaluation sensorielle et toxicologique :**

Etudier l'impact des huiles essentielles sur les propriétés organoleptiques (goût, odeur, texture) des aliments et évaluer leur innocuité à des concentrations efficaces pour la conservation.

**4. Formulation et développement de produits :**

Concevoir des formulations alimentaires intégrant des huiles essentielles (enrobages comestibles, films antimicrobiens, marinades naturelles) adaptées aux habitudes alimentaires locales.

**5. Tests à long terme et à grande échelle :**

Réaliser des essais de conservation sur une durée plus longue et dans des conditions réelles de stockage, ainsi que des applications à échelle semi-industrielle pour valider la faisabilité pratique de l'utilisation de ces huiles dans l'industrie alimentaire.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Assami et Meziane D. (2014). Extraction assistée par micro-ondes des antioxydants à partir du *Rosmarinus officinalis L. et de ses coproduits.* Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene.

Azouz S., & Demouche I. (2022). Suivi du Circuit des Huiles Essentielles de l'extraction à la vente en officine. Contribution à leur contrôle.

Azzala S. (2021). *Extraction et Caractérisation de l'Huile Essentielle de mentha piperita*. 124.

Bassolé I.H.N., Lamien-meda A., Bayala B., Obame L. C., Ilboudo A. J., Franz C., Novak J., Nebié R C, & Dicko M H. (2011). Phytomedicine Chemical composition and antimicrobial activity of Cymbopogon citratus and Cymbopogon giganteus essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, *18*, 1070–1074. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.05.009

Belbachir S. et Tchenar N. M. (2019). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des plantes médicinales Ruta chalepensiss et Lavande angustifolia de la région d'Ain Temouchent. 81.

Beloufa M. (2018). Etude chimique et activité antioxydante des huiles Essentielles du Thymus fontanesii , Rosmarinus Officinalis et Artemisia herba alba de la région de Tlemcen.Université Abou-Bekr Belkaid - Tlemcen.

Benlahrache R., B. S. (2022). Evaluation de l ' activité antibactérienne de deux extraits de la plante Centaurea dimorpha. In *Université Frères Mentouri Constantine I*. Université Frères Mentouri Constantine I.

Bessaci M. (2024). Extraction de substances bioactives – Optimisation Criblage phytochimique et activités biologiques du Myrtus Communis. *Doctoral Dissertation, UMMTO*, 91.

Boudouika Amira G.K. (2017). *Etude de la contamination bactérienne des viandes réfrigérées par les par les pseudomonas de la flore psychrotrophe.* Université des Frères Mentouri Constantine.

Boukhatem, M. N. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. *Article*, *9*(2), 1653–1659.

Boukhatem M. N., Ferhat A., & Kameli A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature extraction methods of essential oils from medicinal plants : A. *Revue Agrobiologia*, *9*(2), 1653–1659.

Boulefa H.;, & Amaissia F. (2020). L ' extraction et l ' activité biologique des huiles essentielles d'Artemisia absinthium. Université Djilali Bounaama Khemis Miliana.

Bousbia N. (2011). *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires*. Doctoral dissertation, Université d'Avignon; (El Harrach, Algérie).

Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., & Chefrour, A. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L. De la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). Bulletin de la Societe Royale des Sciences de Liege, 85, 174–189. https://doi.org/10.25518/0037-9565.6050

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

Bouzabata A. (2015). Contribution a l'etude d'une plante medicinale et aromatique myrtus communis l. In *Faculté de Médecine: Vol. T.1586*. Badji-Mokhtar,Annaba, Algérie.

Bouzabata A. (2015). Contribution a l'étude d'une plante médicinale et aromatique myrtus communis L. Université Badji Mokhtar Annaba.

Carl L. (1753). Description et classification des plantes selon un système de nomenclatue binomiale (genre+espèce). *Species Plantarum*, *2*(5), 839. https://doi.org/10.1016/j.gsf.2024.101872

Caroline L. (2022). Substitution des arômes par les huiles essentielles dans les denrées transformées / ultratransformées. In *Université Mouloud Mammer*. Université Mouloud Mammer.

Catherine, Chu, Kathi, & Kemper. (2001). The Longwood Herbal Task Force and The Center for Holistic Pediatric Education and Research Lavender (Lavandula spp.). *Longwood Herbal Task Force*, *32*(3–4), 1–32.

Combalot M. (2013). L'Immortelle d'Italie (Helichrysum italicum) et son huile essentielle. *Sciences Pharmaceutiques*, 128.

Da Silva F. (2010). Utilisation des huiles essentielles en infectiologie orl.Université Henri Poincare - NANCY 1.

Didi Aicha O., & Yakoubi Sofia I. (2021). Extraction analyse et encapsulation d'huile essentielle de déchets de citron (Citrus limon) et déchets d'orange (Citrus sinensis), en vue de leurs valorisation. *Agrobiologia*,*9*(2), 81.

Djibo, A. K., Moussa, I., & Ikhiri, K. (2024). Composition chimique de l ' huile essentielle d ' Ageratum conyzoides L. *Innovative Space of Scientific Research Journals*, *72*(1), 10–12.

Elaissi A., Rouis Z., Abid N., Salem B., Mabrouk S., Salem Y., Karima B, Haj S., Mahjoub A., Farhat F., Chemli R., Harzallah-skhiri F., & Khouja M. L. (2012). Chemical composition of 8 eucalyptus species ' essential oils and the evaluation of their antibacterial , antifungal and antiviral activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 1–15.

Farah D., Tran D.X., Masaaki Y., & Shinkichi T. (2008). Chemical composition and antioxidant , antibacterial and antifungal activities of the essential oils from Bidens pilosa Linn. var. Radiata. *Food Control*, *19*, 346–352. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.04.011

Ferhat M. A. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles.

Gomes, Paula B., Mata, Vera G., & Rodrigues E. (2007). Production of rose geranium oil using supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*,*41*(1), 50–60. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2006.08.018

Goudjil M. (2020). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. *Doctoral Dissertation*, 201.

Hammoudi, R., Dehak, K., Mahammed, M. H., & Ouldelhadj, M. D. (2015). Composition Chimique Et Activité Antioxydante Des Huiles Essentielles De Deverra Scoparia Coss. & Dur.(Apiaceae). *Lebanese Science Journal*, *16*(2), 27–36.

Hellaoui M. (2021). Substitution des aromes par les huiles essentielles dans les denrées transformées/ ultra-transformées: Perspective en santé publique. 66.

Hennia, A. (2016). Extraction et étude de l'activité biologique des huiles essentielles du Myrte (Myrtus communis L.). *Université de Mostaganem, Algérie*, 177.

Ismaili R., Houbairi S., Sanâa L., Khadija M. & Abdeslam L. (2017). Etude de l'activité Antioxydante des Huiles Essentielles des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. *European Scientific Journal, ESJ*, *13*(12), 323. https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n12p323

Ismaili R., Lamiri A. & Moustaid K. (2014). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques marocaines [ Study of the antifungal activity of essential oils of three moroccan aromatic plants ]. *International Journal of Innovation and Scientific Research ISSN*, *12*(2), 2351–8014.

Keita D. (2025). Revue sur les données ethnobotaniques, phytochimiques, pharmacologiques et toxicologiques de Cymbopogon giganteus Chiov *(Poaceae)*. Universite des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB).

Kiouas, & Naili. (2019). Contribution à l'étude de l'influence de la durée de stockage sur quelques caractéristiques physico-chimiques d'une huile essentielle. In *République Algérienne Démocratique et Populaire*. Université de Ghardaïa.

Koba, K., Sanda, K., Raynaud, C., Nenonene, Y. A., Millet, J., & Chaumont, J. P. (2004). *Activités antimicrobiennes d ' huiles essentielles de trois Cymbopogon sp . africains vis-àvis de germes pathogènes d ' animaux de compagnie*. 202–206.

Koroghli K. (2018). Activité insecticide des huiles essentielles de romarin (Rosmarinus officinalis L.) et de la menthe poivrée (Mentha piperita L.) à l'égard des adultes du petit capucin des grains de blé Rhyzopertha dominica F. (Coleoptera : Bostrychidae). In *Université Mouloud Mammeri*. Université Mouloud Mammeri.

Koziol N. (2015a). *Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de Corymbia citriodora : qualité, efficacité et toxicité*. Université de Lorraine.

Koziol N. (2015b). *Huiles essentielles d ' Eucalyptus globulus , d ' Eucalyptus radiata et de Corymbia citriodora : qualité , efficacité et toxicité*. Univzersité de Lorraine.

Kpodji P., Lozes E., Dougnon V., P., A., Koudokpon H., & Baba - Moussa L. (2019). Utilisation des plantes du sud-bénin dans le traitement des maladies inflammatoires : enquête ethnopharmacologique auprès des herboristes. *Rev. Ivoir. Sci. Technol., 34 (2019) 127 - 143*, *34*, 127–143.

Kraiffi F., & Boualam K. (2021). *Extraction et caractérisation de quelques huiles essentielles des plantes Utilisés dans la thérapie grippale ( Thymus lanceolatus , Eucalyptus globulus )*. 61.

Laëtitia M. (2015). Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant. *Journal*, 186.

Lamia C. (2013). Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médecinales du Maroc et évalaution de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire.

Liénard H. (2012). Intérêts, limites et toxicité des huiles essentielles en infectiologie ORL. Enquête sur la place qu'elles occupent au sein des médecines actuelles. *Enquête Sur La Place Qu'elles Occupent Au Sein des Médecines Actuelles (Doctoral Dissertation)*.

Maataoui, Hmyene, & Hilali. (2006). *Activités anti radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (Opuntia ficus indica).* (Vol. 7).

Madame Wissale L. (2023). Les formes d ' utilisation des plantes médicinales.Universite Mohammed V de Rabat.

Maiden J. H. (1913). Notes on a new species of Eucalyptus (Eucalyptus maidenii) from southern New South Wales. *II. In Journal and Proceedings of the Royal Society of New South Wales*, *14*, 217–235.

Meddahi M. (2022).Etude bibliographique sur l'effet larvicide des huiles essentielles et des extraits aqueux de deux plantes à l'égard des culicidés. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Mellouk H. et al. (2007). Valorisation de dechets de scieries par le procédé D.I.C.Extraction d'huiles essentielles et production de charbon actif. *Journal of Catalytic Materials and Environment*, *4*, 231–234.

Merlain, D. K. B., Ngoune, N. F., & Djoukeng, H. G. (2022). Extraction et Caractérisation des Huiles Essentielles de Trois Plantes Aromatiques Cultivées à l ' Ouest-Cameroun : Rosmarinus officinalis , Salvia officinalis et Cymbopogon citratus Extraction et Caractérisation des Huiles Essentielles de Trois Plantes A. *Article*, *July*.

Mimouni M. (2016). *Evaluation de l ' activité antioxydante des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis de deux régions Mostaganem et Relizane.*Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

Mirghani, Liyana, & Parveen. (2012). Bioactivity analysis of lemongrass ( Cymbopogan citratus ) essential oil. *International Food Research Journal*, *19*(2), 569–575.

Misago L. (2022). Contribution a la valorisation du patrimoine vegetal du burundi dans la gestion des stocks de cereales *: Cas de l'huile essentielle d'Eucalyptus maidenii et de la poudre des feuilles de Citrus limon contre les insectes ravageurs des grains de maïs.* Université de Burundi.

Misago L., Karikurubu J-F., Nimpagaritse A., Nzigamasabo A., & Nteziryayo V.. (2023). Contribution to the Development of Burundi ' s Plant Heritage in the Management of Cereal Stocks : Case of Eucalyptus Maidenii Essential Oil and Citrus limon leaf powder against Insect Pests of Maize Grains. *International Journal of Advanced Multidisciplinary Research and Stadies*, *3*(September 2021), 144–148.

Mohamed Hanaa A.R., Sallam Y.I, El-Leithy A.S., & Safaa E. Aly. (2012). Lemongrass ( Cymbopogon citratus ) essential oil as affected by drying methods. *Annals of Agricultural Sciences*, *57*(2), 113–116. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2012.08.004

Monographies relatives aux huiles essentielles. (2000). *Recueil de Normes:*, *Tome 2*(Paris), 661–663.

Muther L. (2015). Utilisation des huiles essentielles chez l ' enfant. In *Université d'Auvergne*. Université d'Auvergne.

Obame Engonga L. (2009). Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines.

Okunade L. (2002). Ageratum conyzoides L. (Asteraceae). *Fitoterapia Review, 73*, 1–16.

Ouedrhiri W. (2017). Optimisation des Propriétés antibactériennes et antioxydantes des l'huiles essentielles de dix plantes aromatiques et médicinales de la région de Taounat, exploitation des outils statistiques (Plans d'expériences). In *Gestion et Valorisation des Bioressources*. Sidi Mohammed Ben Abdellah.

Penchev, P., Angelov, G., & Condoret, J. S. (2010). Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (Melissa officinalis L.). *Revue de Génie Industriel*, *5*(January 2016), 115–123.

Raharinirina M. (2009). Valorisation économique de la biodiversité par les contrats de bioprospection et la filière huiles essentielles : le cas de Madagascar. In *Yvelines*. Doctoral dissertation, Université de Versailles-Saint Quentin.

Reghaissia I. (2020). Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de l'Eucalyptus Globulus : Application comme insecticide. *Mémoire de Master En Génie Chimique.*, *8*, 93.

Seenivasan P., Manickkam J., & Savarimuthu I. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *8*, 1–8. https://doi.org/10.1186/1472-6882-6-39

Shanjun G., Guangzhi L., Jianguo L., Jing C., Lina L., Zhen L., Xiulei Z., Shoumin Z., Rick F. T., & Shuzhen Z. (2020). Antimicrobial Activity of Lemongrass Essential Oil ( Cymbopogon fl exuosus ) and Its Active Component Citral Against Dual-Species Bio fi lms of Staphylococcus aureus and Candida Species. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*(December), 1–14. https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.603858

Si Bouazza, & Zenasni. (2020). *Contribution à l'Etude des Activités Antimicrobiennes, Antioxydantes et Anti-inflammatoires de l'Huile Essentielle des Quatre Plantes Médicinales de la Région d'Ain Temouchent.* Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent.

Smaili R. (2022a). *Extraction des huiles essentielles de lentisque et évaluation de leurs pouvoir antimicrobiens.* Université de Tissemsilt.

Smaili R. (2022b). *Extraction des huiles essentielles de lentisque et évaluation de leurs pouvoir antimicrobiens*. Université de Tissemsilt.

Sofiane L. (2009). *Extraction et caractérisation physico- chimique de l'huile de graines de Moringa oleifera*. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach.

Soumahoro B. (2022). *Etude comparative de la composition chimique des feuilles de Hyptis suaveolens L . Poit . ( Lamiaceae ) avant et après extraction de l ' huile essentielle*. Institut National Polytechnique.

Taleb-Toudert K. (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie ( Nord Algérien ): évaluation de leurs effets sur la bruche de niébé Callosobruchus maculatus (Coleoptera: Bruchidae). In *Doctoral dissertation*. Universite Mouloud MAMMERI.

Yanisse D. (2021). Détermination de la composition chimique et évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles obtenues à partir de l ' espèce marocaine Syzygium aromaticum. In *Université Mohammed V - Rabat*. Université Mohammed V - Rabat Faculté.

Zriouil I. (2020). Les proprietes chimiques et bioLogiques des huiles essentielles : etude experimentale sur la qualite des huiles essentielles d'eucalyptus :commercialisees dans le marche marocain. Universite Mohammed V de Rabat.

# ANNEXES

**Annexe 1 : Effet des huiles essentielles sur la croissance microbienne après 24h.**

| | **Moyenne et Ecart-types UFC/g** | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Conc.des HE** | **FAMT** | ***E-coli*** | ***Staphyloccocus*** | ***Salmonella*** |
| **Témoin** | 31687,33 ± 613,939 | 46340,00 ± 31,000 | 14061,67 ± 54,848 | 9517,67 ± 23,692 |
| **E 0.25%** | 11980,00 ± 121,244 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **E 0.50%** | 1505,00 ± 5,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **E 1%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **R 0.25%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **R 0.50%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **R 1.00%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **C 0.25%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **C 0.50%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **C 1.00%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |

**Annexe 2 : Effet des huiles essentielles sur la croissance microbienne après 48h.**

| | **Moyenne et Ecart-types UFC/g** | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Conc.des HES** | **FAMT** | **E-coli** | **Staphyloccocus** | **Salmonnella** |
| **Témoin** | 264363,33 ± 311,206 | 64000,67 ± 51,003 | 42410,00 ± 384,973 | 53869,33 ± 148,396 |
| **E 0.25%** | 16917,67 ± 28,042 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **E 0.50%** | 57000,00 ± 15,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **E 1%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **R 0.25%** | 6490,00 ± 26,458 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **R 0.50%** | 2016,67 ± 11,547 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **R 1.00%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **C 0.25%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **C 0.50%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **C 1.00%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |

## Annexe3 : Effet des huiles essentielles sur la croissance microbienne pendant après 96h.

| | **Moyenne et Ecart-types UFC/g** | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Conc.des HE** | **FAMT** | **E-coli** | **Staphylococcus** | **Salmonnella** |
| **Témoin** | 974266,67 ± 48,568 | 956240,00 ± 21,333 | 984730,67 ± 412,764 | 951363,33 ± 47,258 |
| **E 0.25%** | 74903,33 ± 4,933 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **E 0.50%** | 472712,00 ± 14,422 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **E 1%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **R 0.25%** | 18120,67 ± 54,049 | 0,00 ± 0,000 | 22281,33 ± 17,098 | 0,00 ± 0,000 |
| **R 0.50%** | 14050,00 ± 50,000 | 0,00 ± 0,000 | 4053,00 ± 36,592 | 0,00 ± 0,000 |
| **R 1.00%** | 6516,67 ± 20,817 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **C 0.25%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **C 0.50%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |
| **C 1.00%** | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 | 0,00 ± 0,000 |