**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Yahia FARES de MÉDÉA**

**Faculté des Sciences et de la Technologie**



**Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master**

**En Génie des Procédés**

**Option : Bioprocédés Pharmaceutiques**

**Thème**

# Optimisation des conditions d'un procède et évaluation de l'effet antioxydantde l'huile essentielle de quelques plantes médicinales d'Algérie

***Proposé et dirigé par :***

**M$^{elle}$. REZAZI Sarah**

***Réalisé par :***

MOULAI MOSTEFA Touba.

OMARI Amina.

**Promotion :**

**2012-2013**

# Nomenclature et symboles

| Lecture | Désignation |
|---|---|
| **A** | Valeur de l'angle de rotation en milliradians ou degrés d'angle |
| **C** | Concentration |
| **d** | Diamètre |
| $d_{20}^{20}$ | La densité relative |
| **F** | Facteur de la solution de dosage Karl Fisher en mg/ml d'eau. |
| **H** | Teneur en eau (en %). |
| **H** | Taux d'humidité exprimé en pourcentage. |
| $I_A$ | Indice d'acide |
| $I_E$ | Indice d'Ester. |
| $I_I$ | L'indice d'iode |
| $I_{OH}$ | L'indice d'hydroxyle |
| $I_S$ | Indice de Saponification |
| **L** | Longueur du tube utilisé, en décimètre |
| **m** | Masse de l'échantillon (en g). |
| **M** | Masse de la matière végétale en (g). |
| **P** | Rapport pondérale exprimé en (%). |
| **Pc** | Pression critique |
| **R** | Rendement en huile essentielle exprimé en (%). |
| **Tc** | Température critique |
| **V** | Volume indiqué sur le cadran de l'appareil (en ml). |
| $a^{20}{}_D$ | Pouvoir rotatoire |
| **λ** | Longueur d'onde |
| $\rho_{eau}$ | Masse volumique de l'eau |
| $\rho_{HE}$ | Masse volumique de l'huile essentielle |
| $\eta_\lambda^t$ | Indice de réfraction |

# *Introduction générale*

# INTRODUCTION GÉNÉRALE

**L**'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes : on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique, et phytothérapie **[Duraffourd et al., 1997].**

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands parents, malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles. Environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres **[EL Rhaffari et Zaid, 2004].**

En effet, les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes (feuilles, fleurs, racines,...) et peuvent, selon des techniques chimiques (extraction, distillation,....), permettre l'isolation du principe actif pour l'utiliser en pharmacie. Ces remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse, mais peuvent néanmoins être mortels ou toxiques pour l'organisme lorsqu'ils sont mal utilisés **[Duraffourd et al., 1997]**.

De multiples études, certes dispersées, portent sur la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques, les huiles essentielles qui ont des intérêts multiples mis en faveur de l'industrie agroalimentaire (additifs, colorants, arômes, agents de conservation) et pharmaceutique, malheureusement l'exploitation et la valorisation de ces ressources naturelles reste très limitée et très artisanale. Toutefois, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydantes et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connues dans la médecine. **[Bendimerad et al., 2005]**

Ce mémoire est subdivisé en deux grandes parties :
Une étude théorique inclue deux chapitres :

- Le premier chapitre présente un bilan bibliographique des connaissances sur les quatre plantes médicinales sélectionnées (*Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L *et Ajuga iva* L).
- Dans le deuxième chapitre, on présente un aperçu général sur les huiles essentielles, les méthodes d'extraction, la caractérisation des HE , l'activité antibactérienne et l'activité anti-oxydante de ces dernières.

Une partie expérimentale présente en premier lieu les méthodes et les techniques utilisées pour l'obtention de l'huile essentielle, à savoir :

- L'extraction de l'huile essentielle de (*Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L *et Ajuga iva* L*)* qu'elles proviennent du nord d'Algérie et précisément la région de Médéa.
- L'étude de l'influence des principaux facteurs impliqués dans le procédé d'extraction sélectionné.

Ensuite, on entame une étude analytique :

- La caractérisation physico-chimique des HE obtenues.
- L'analyse de la composition chimique de ces huiles essentielles

Et à la fin, on fait une étude l'activité anti-oxydante et microbiologique des huiles essentielles

# Première partie

## *Données bibliographiques*

# Chapitre I

## *Etude bibliographique des quatre plantes*

# CHAPITRE I

# ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

## I.1 Introduction

Depuis quelques années, l'utilisation des plantes médicinales a retrouvé tout son intérêt, après avoir été le principal moyen pour remédier aux maux frappant l'être humain parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique **[Nostro. A et al., 2000]**. Actuellement, on reconnaît aux plantes médicinales un pouvoir bienfaisant. L'efficacité de la plante revient certainement aux produits naturels qu'elle contient, qui comportent dans leurs formules tous les éléments nécessaires à son action **[Bellazougui. K., 2000]**.

À côté des plantes médicinales, les plantes aromatiques qui se différencient des autres plantes médicinales par la présence en certains de ses tissus de principes volatils, odoriférants et parfumés ont été étudiées et utilisées surtout dans le domaine de la parfumerie. Leurs huiles essentielles sont très recherchées et constituent la base de l'industrie des parfums et produits cosmétiques dans le monde **[Clevely. A et Richmond. K., 1997].**

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés de présenter les données bibliographiques sur les espèces aromatiques *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L, *Glycyrrhiza glabra* L et Ajuga iva L.

## I.2. Étude bibliographique des plantes aromatiques

### I.2.1. Étude botanique

#### *A) Pistacia lentiscus* L

*Pistacia lentiscus* L (Pistachier lentisque ou Arbre à mastic), Darou en arabe local, appartenant à la famille des Anacardiacées **[Leprieur. M., 1860]**, est un arbrisseau vivace de trois mètres de hauteur, ramifié, à odeur de résine fortement âcre.

*Pistacia lentiscus* L est particulièrement représentatif des milieux les plus chauds du climat méditerranéen. Il est caractérisée par :



**Figure I-1:** Plante de *Pistacia lentiscus* L **[Belfadel F.Z., 2009].**



- **Écorce :** Rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse s´écouler une résine irritante non colorée à odeur forte.
- **Branches :** tortueuses et pressées, forment une masse serrée.
- **Feuilles :** Sont persistantes, composées, et possèdent un nombre pair de folioles (4 à 10) d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte.
- **Fleurs :** Sont d'environ 3 mm de large se présentent sous forme de grappe, Elles apparaissent au printemps et sont très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles. Floraison de Mars à Mai.
- **Fruit :** Est une baie globuleuse (de 2 à 3 mm), monosperme, remplie par nucléole de la même forme; d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité, qui est complète l'automne **[Belfadel F.Z., 2009]**.

### *B) Marrubium Vulgare* L

*Marrubium vulgare* L (Marrube blanc, Marrube Commun ou Herbe vierge), Mériwét en arabe local, appartenant à la famille des Lamiacées, est une plante herbacée de 30 à 60 cm de hauteur et de couleur vert grisâtre, il dégage à l'état frais, une forte et agréable odeur aromatique. Il est originaire d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie. *Marrubium vulgare* L est caractérisé par :



- **Tiges :** Quadrangulaire. Épaisses, simples ou peu rameuses.
- **Feuilles :** Sont obovales et duveteuses, de couleur verte grisâtre, alternent très régulièrement, ont une longueur de 2 à 5 cm et possédant un bord crénelé et un aspect froissé.
- **Fleurs :** Sont blanches, multiflores et très discrètes **[Pharmaceutical Press., 2007].**

### *C) Glycyrrhiza glabra* L

*Glycyrrhiza glabra* L (Réglisse, Réglisse glabre, Bois sucré, Bois doux ou Racine douce), Ark Essouss en arabe local, appartenant à la famille des fabacées, est une plante herbacée de 1 à 1,5 m de hauteur qui pousse en buissons. La partie la plus utilisée est la racine ou plutôt la tige souterraine appelée stolon. *Glycyrrhiza Glabra L* est caractérisé par:





- **Racines :** Sont grosses, ligneuses, traçantes, jaune à l'intérieur et marron foncé à l'extérieur, aromatiques, sucrées et forment des rhizomes cylindriques.

- **Feuilles :** Sont vertes et pennées, de 7 à 15 cm de long, composées de 9 à 17 folioles oblongues. Elles portent des poils sécréteurs d'huile essentielle qui les rendent poisseuses au toucher (feuilles glutineuses).

- **Fleurs :** Sont violettes d'un centimètre de diamètre, disposées en inflorescence.
- **Fruits :** Sont des gousses plates, de deux à 3 cm de long, ils contiennent de nombreuses graines **[Pharmaceutical Press., 2007]**.

### *D) Ajuga iva* L

*Ajuga iva* (Chendgoura) est une petite plante vivace de goût amer de 5-10 cm, Cette plante aromatique se développe dans le sol profond des terres friches à 2700 m de hauteur, dans la période étendue du printemps jusqu'à la fin de l'été La période de floraison est entre Mai et Juin **[Batanouny et al., 1999; Halimi, 2004].**



- **Tiges :** vertes rampantes et velues
- **feuilles :** vertes de 14-25 mm de longueur, linéaires, denses et couvertes de duvets.
- **Les fleurs :** sont violettes, roses, ou jaunes, de 20 mm de longueur **[Halimi, 2004]**.

### I.2.2. Taxonomie

La taxonomie des quatre plantes médicinales étudiées sera illustrée dans le tableau ci-contre (Tableau I-1) :

**Tableau I-1:** Taxonomie des quatre plantes

| **Espèce** | ***Pistacia lentiscus* L** [Belfadel F.Z, 2009] | ***Marrubium vulgare* L** [Pharmaceutical Press., 2007] | ***Glycyrrhiza galabra L*** **[Pharmaceutical Press., 2007]** | ***Ajuga iva L*** **[Halimi, 2004]** |
|---|---|---|---|---|
| **Règne** | Plantae | Plantae | Plantae | Plantae |
| **Division** | Magnoliophyta | Magnoliophyta | Magnoliophyta | Spermatophyta |
| **Classe** | Magnoliopsida | Magnoliopsida | Magnoliopsida | Dicotyledones |
| **Sous classe** | Rosidae | Asteridae | Rosidae | - |
| **Ordre** | Sapindales | Lamiales | Fables | Tubiflorae |
| **Famille** | Anacardiaceae | lamialceae | Fabaceae | Lamiaceae |
| **Genre** | Pistacia L | Marrubium L | Glycyrriza | Ajuga L |
| **Espèce** | *Pistacia lentiscus* L | *Marrubium vulgare* L | *Glycyrrhiza galabra* L | *Ajuga iva* L |

### I.2.3. Répartition géographique

#### *A) Pistacia lentiscus* L

*Pistacia lentiscus* L est très commun dans le bassin méditerranéen (Figure I-9), il se trouve à l'état sauvage, dans les maquis et les garrigues dans tout type de sols, bien qu'il préfère les terrains en friche, pierreux, secs et ensoleillés.

En Algérie, le lentisque se trouve sur le long du tell et dans les zones forestières, **[More. D et White. J., 2005]**.

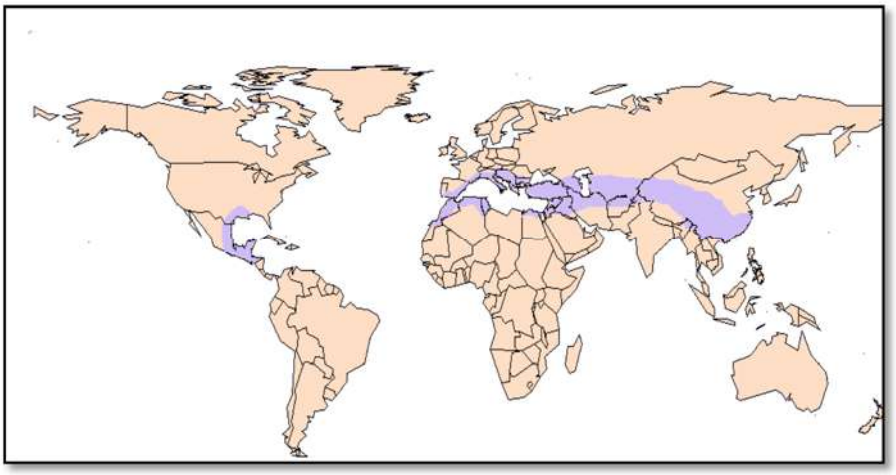


**Figure I-4:** Distribution géographique de genre Pistacia **[Belfadel F.Z., 2009]**

***B) Marrubium vulgare L***

Le genre *Marrubium* comporte quelque 40 espèces, originaire d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie. Répandues principalement le long de la méditerranée, les zones tempérées du continent Eurasien et quelques pays d'Amérique Latine **[Meyre-Silva. C et al., 2005].**

**C) *Glycyrrhiza glabra***

*Glycyrrhiza Glabra* L est originaire du sud de l'Europe et de l'Asie. Elle pousse préférentiellement dans un sol riche et humide et elle a besoin d'un climat chaud, comme sur le pourtour de la Méditerranée, au sud des États-Unis, au Moyen-Orient, et en Afrique du Nord **[Pharmaceutical Press., 2007]**.

***C) Ajuga Iva* L**

Elle est largement distribuée dans la région méditerranéenne: le sud de l'Europe et le nord de l'Afrique, en particulier en Algérie, Maroc, Tunisie, et en Egypte [**Halimi, 2004]**.

### I.2.4. Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques

**A) *Pistacia lentiscus* L**

*Pistacia lentiscus* L est connue pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité [Palevitch. D et Yaniv. Z., 2000]. La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère **[Ouelmouhoub. S., 2005]**.

- La partie aérienne de *Pistacia lentiscus* L est largement utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de l'hypertension artérielle grâce à ses propriétés diurétiques **[Bentley R.Y., 1980, Sanz M.J et al., 1992 et Scherrer A.M et al., 2005]**.
- Les feuilles ont pourvue d'action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante **[Kordali. S et al., 2003, Paraschos. S et al., 2007]**.
- Elles sont également utilisées dans le traitement d'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, ulcères, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires **[Lev. E et Amar. Z., 2000, Said. O et al., 2002]**.

L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L est connue pour ses vertus thérapeutiques :

- Des travaux précédents sur l'huile essentielle révèlent la présence de certaines activités antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne **[Giner-Larza E.M et al., 2000, Papachristos D.P et Stamopoulos D.C., 2002]**.
- L'huile essentielle assure ainsi sa propriété antiseptique atmosphérique, d'antidouleurs, et surtout sa grande valeur de décongestionnante des voies respiratoires, veineuses et même prostatiques. C'est également un remède efficace en cas d'hémorroïde internes et externes **[Iauk. L et al., 1996, Magiatis. P et al., 1999]**.

### *B) Marrubium vulgare L*

*Marrubium vulgare* L est connu dans l'Égypte et la Grèce anciennes depuis la plus haute antiquité pour ses propriétés apaisantes contre la toux et les bronchites, il était considéré contre les morsures de chiens enragés En médecine ayurvédique en Inde, chez les aborigènes d'Australie et les Amérindiens d'Amérique du Nord.

- *Marrubium vulgare* L servait à traiter les infections des voies respiratoires.
- Cette plante est également utilisée dans la fabrication de nombreux sirops et dans le cas d'inflammations des voies respiratoires et de troubles dyspeptiques tels que les flatulences et ballonnements.
- Elle a aussi un pouvoir amaigrissant léger, stomachique, cholérétique et analgésique **[Meyre-Silva. C et al., 2005]**.

.

### *C) Glycyrrhiza glabra L*

*Glycyrrhiza glabra* L est largement utilisé pour ses propriétés médicinales.

- La racine est la partie la plus utilisée dans la plante. Elle stimule la production d'hormones telles que l'hydrocortisone, ce qui lui confère des propriétés anti-inflammatoires **[Mitscher L. A et al., 1980].**
- *Glycyrrhiza glabra* L peut aussi aider à réduire la fièvre, et il peut avoir une action antibactérienne.
- Elle est utilisée aussi dans le traitement des inflammations intestinales et chroniques telles que les maladies arthritiques, rhumatismales et des affections cutanées chroniques **[Tawata. M et al., 1990].**
- *Glycyrrhiza glabra* L est également utilisé comme antispasmodique et expectorant. Elle est efficace pour combattre de nombreux virus **[Mitscher L. A et al., 1980].**

D'autres études ont aussi montré que :

- La réglisse avait une activité antioxydante et qu'elle empêchait l'adhésion de la bactérie *Helicobacter pylori* à la paroi de l'estomac. Ce faisant, elle contribue à lutter contre l'infection par cette bactérie qui représente la principale cause des ulcères gastroduodénaux **[Tawata. M et al., 1990].**



### *D) Ajuga iva* L

En médecine traditionnelle, *Ajuga iva* L. est utilisée entière sans racines. En Algérie, elle est employée, après macération aqueuse de plusieurs jours ou en poudre, pour traiter le diabète et l'hypertension.

- Elle est aussi consommée en poudre sec ou avec du miel pour surmonter son goût amer, pour traiter les troubles gastro-intestinales et contre l'ulcère de l'estomac.
- L'infusion de 20 à 30g de Chendgoura dans un litre d'eau; 2 ou 3 tasses par jour est indiquée contre la fièvre, la diarrhée et les gaz.
- En usage externe, elle est souvent employée en applications locales contre les rhumatismes **[ Bouderbala et al. 2008].**

Les études de Pascual-Villalobos et Robledo (1998; 1999) ont montré que l'extrait aqueux de *Ajuga iva* inhibe la croissance de la larve *Tribolium castaneum*. Son effet insecticide est aussi étudié par Simmonds et Blaney (1992) contre *Spodoptera frugiperda* e t *S. littoralis*. L'ivette a une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Pseudomonas aeruginosa* **[Ben Jannet et al., 1999].**

### I.2.5. Etude chimique

#### *A) Pistacia lentiscus* L

La séparation des polyphénols a été effectuée sur les feuilles de *Pistacia lentiscus* par l'utilisation des méthodes HPLC semi-préparatoires, HPLC avec détecteur photomètre UV-VIS à barrette de diodes (PDA) ainsi que par analyse HPLC-SM, 1H – et RMN 13C **[Romani et al., 2002]**.

Trois grandes classes de métabolites secondaires ont été détectées :

- Acide gallique et dérivés galloyls.
- Anthocyanes, à savoir delphinidine 3-O-glucoside et cyanidin 3-O-glucoside.
- Glycosides de flavonol comme les glucosides de quercetine et de myricetine (Figure I-3).

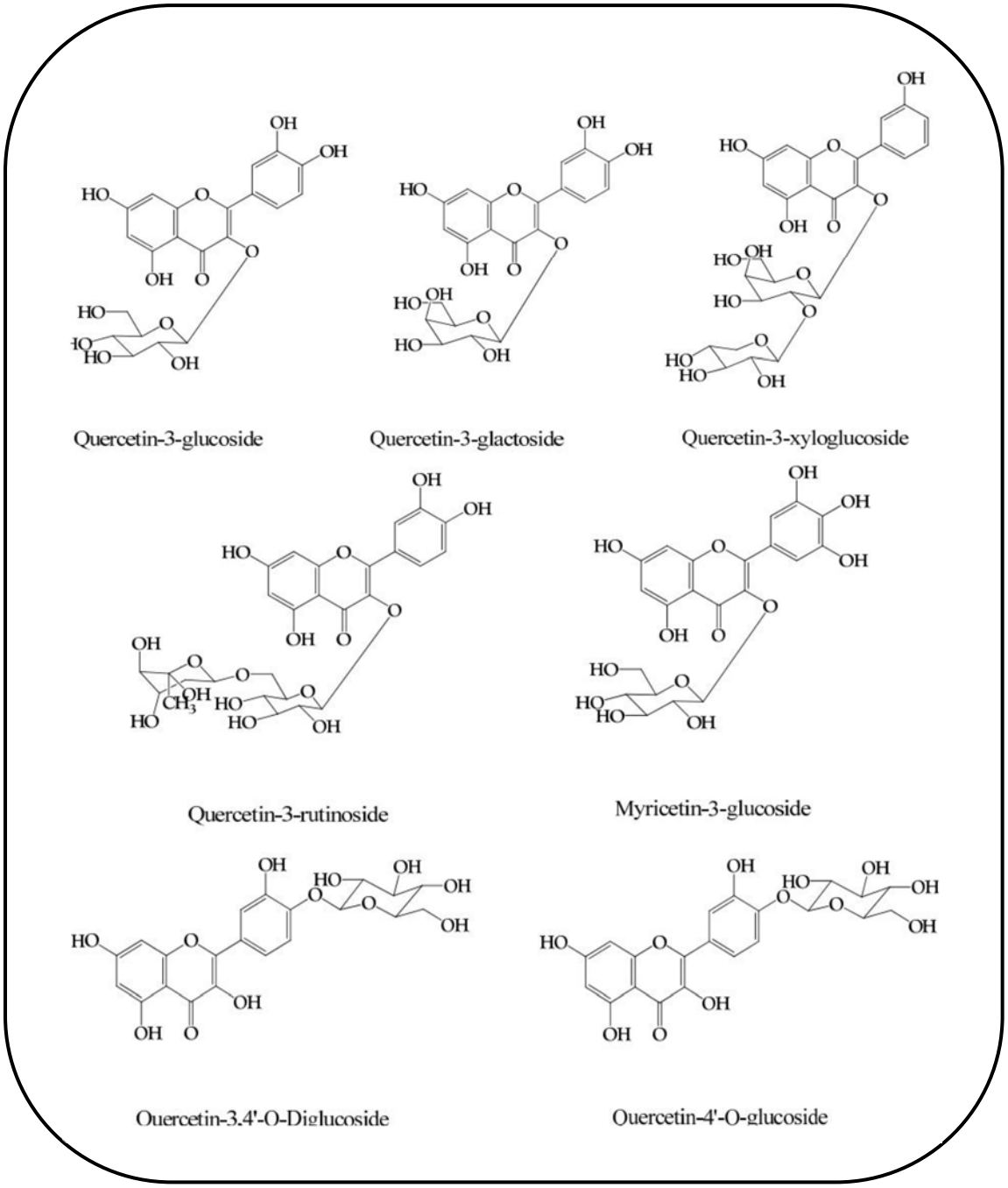



**Figure I-3 :** Structures chimiques des glycosides de flavanol dans les Feuilles de *Pistacia lentiscus* L **[Belfadel F.Z., 2009]**.

### *B) Marrubium vulgare L*

Les diterpènoïdes est la famille de composés naturels la plus explorée, jusqu'à présent, dans le genre *Marrubium* **[Karioti. A et al., 2007]**. Certains auteurs rapportent la richesse de ce genre en polyphénols, en particulier les flavonoïdes et les phényl propanoïdes. Il convient aussi de signaler la présence d'acides phénoliques et de certains polymères comme les lignanes **[Hennebelle. T et al., 2007].**

*Marrubium vulgare* L se compose de :

- **Huiles volatiles.**
- **Diterpènes**
  - Marrubiine (0,3-1,0 %)
  - Lactone, comme composant principal avec des quantités moindres d'alcools différents (par exemple marrubenol, marrubiol, peregrinol et vulgarol).
- . **Alkaloids**
  - Pyrrolidine-type.
  - Betonicine (0.3%).
  - Cis-isomère turicine .
- **Flavonoids**
  - Apigénine.
  - Lutéoline.
  - Quercétine, et leurs glycosides.

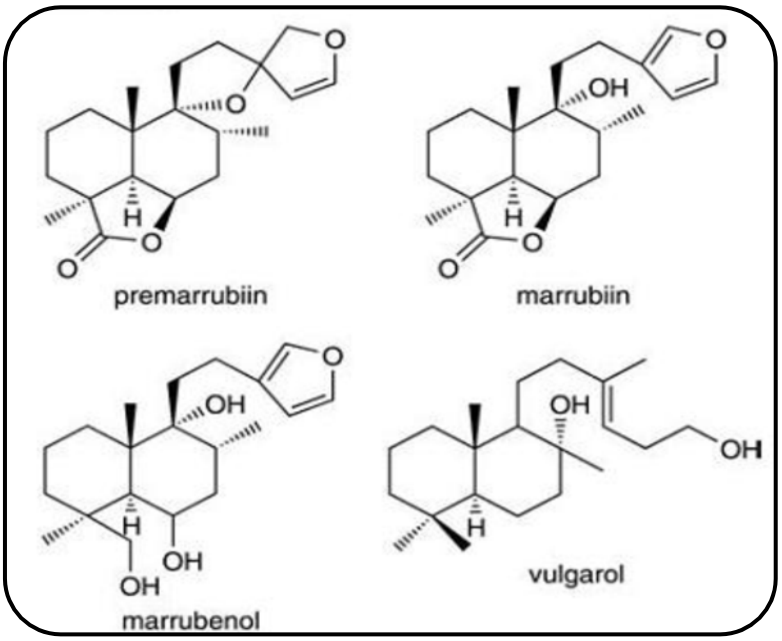


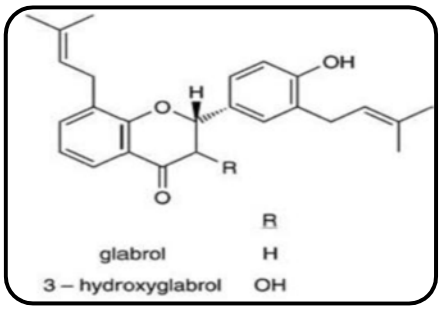

**Figure I-4 :** Structure chimique de quelques constituants dès différentes parties de *Marrubium vulgare* L **[Pharmaceutical Press., 2007].**

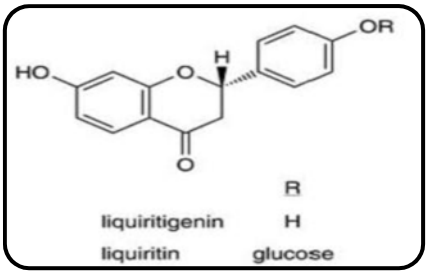
### *C) Glyccerizae glabra* L

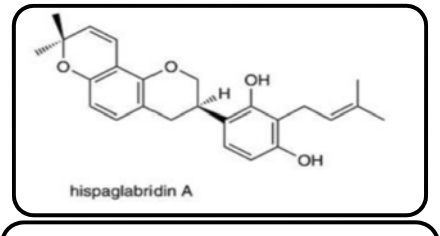
L'étude bibliographique sur les composés chimique de *Glycyrrhiza glabra* L a montré la richesse en flavonoïdes, Terpénoïdes, traces d'huiles essentielles et d'autres constituants chimiques **[Miething. H., Speicher-Brinker. A et Neolicuroside. A., 1989]**.

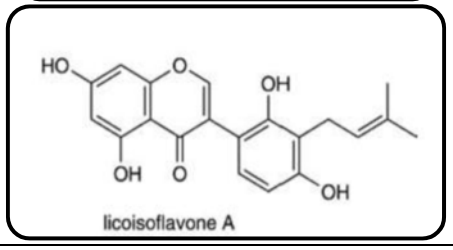
**Tableau I-2 :** Structure chimique de quelques constituants des différentes parties de *Glycyrrhiza glabra* L **[Pharmaceutical Press., 2007].**

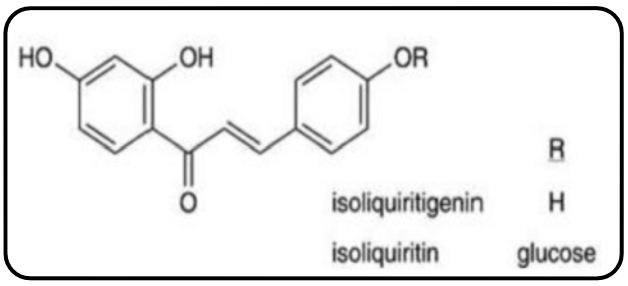
| **Flavonoïdes** | **Terpénoïdes** | **Autres constituants** |
|---|---|---|
| - Flavonols,<br>- Isoflavones,<br>- Glabrin et Glabrol,<br>- Glabrone,<br>- Glyzarin,<br>- Glycyrol,<br>- Glabridine<br>- Kumatakenin,<br>- Licoflavonol,<br>- Licoisoflavones A et B,<br>- Licoricone,<br>- liquiritin<br>- Isoliquiritigénine, licuraside,<br>- Echinatin,<br>- licochalcones A et B<br>- Néo-licuroside<br>[**Mitscher L.A et al., 1980].** | - Glycoside<br>- Glycyrrhizine (acide glycyrrhizique<br>- Acide glucuronique.<br>- Glycyrrhetol,<br>- Glabrolide,<br>- Acide licorique,<br>- Acide liquiritique<br>- ß-amyrine. | - Acides aminés.<br>- Coumarines Glycyrin.<br>- Amines,<br>- Gommes,<br>- Lignine et l'amidon.<br>- Stérols (ß-sitostérol, le stigmastérol),<br>- cire.<br>- .kaempférol et ses dérivés,<br>- Isoquerce-étain,<br>- Quercétine,<br>- Phytoalexines,<br>- Coumarines (bergap-dix, xanthotoxine),<br>- Phytoestrogènes,<br>- b-sitostérol<br>- Saponaretin. |

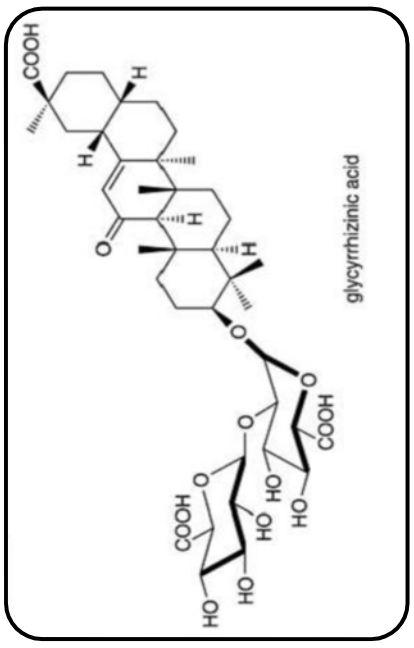


***D) Ajuga iva* L**

La séparation des flavonoïdes a été effectuée sur les feuilles de *Ajuga iva* L par l'utilisation des méthodes chromatographie sur couche mince est donne les composes suivant :

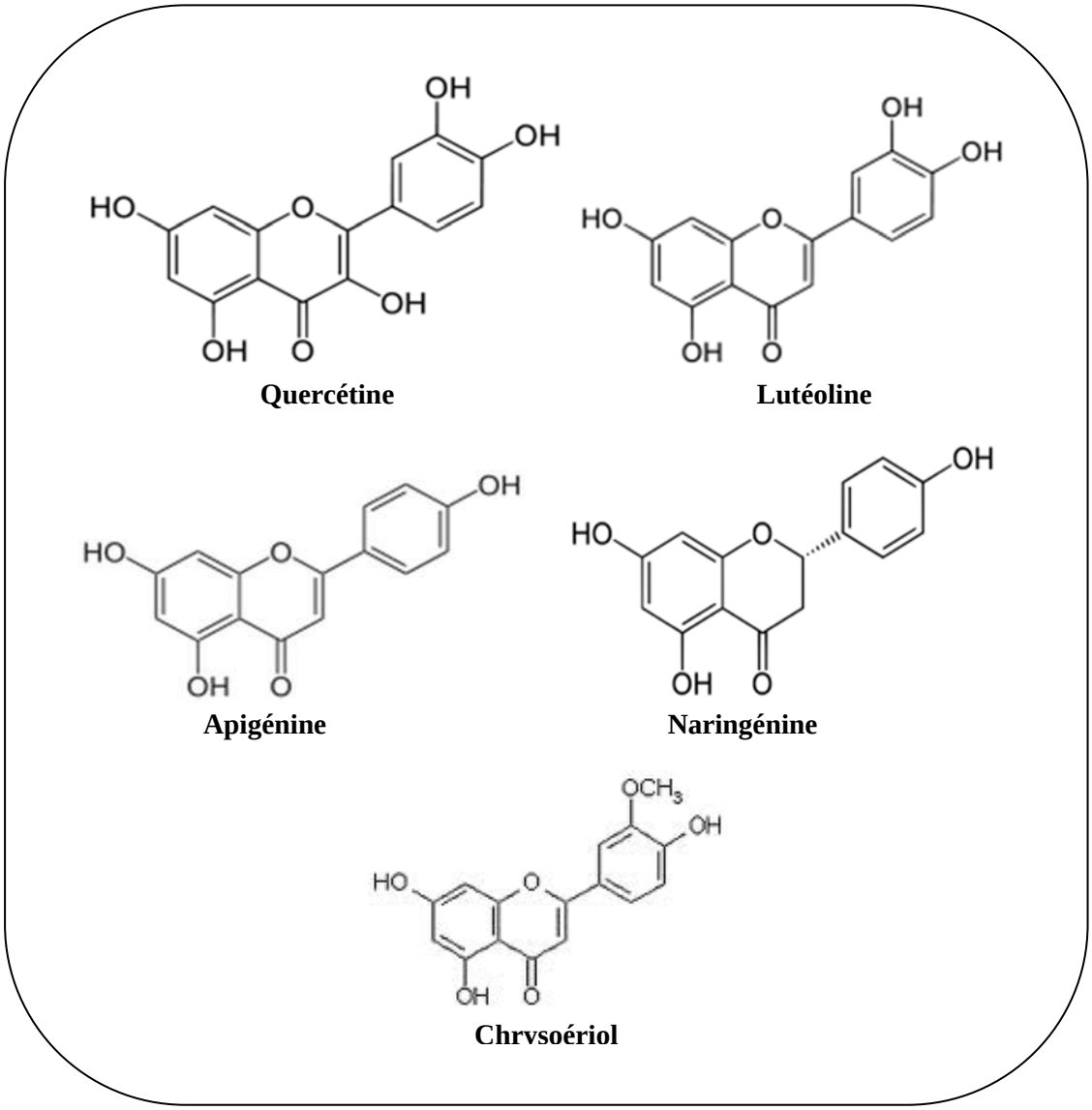



**Figure I-5 :** Structure chimique de quelques constituants des différentes parties de *Ajuga iva* L [**BENNAGHMOUCH L, 2002].**

## I.3 Conclusion

Les substances d'origine naturelle connaissent une application croissante dans de produits de consommation. En effet, leur utilisation est encouragée car les produits équivalents issus de synthèses chimiques ont, à tort ou à raison, mauvaise presse dans le grand public. Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis longtemps. Il y a donc un besoin de production de substances bioactives isolées, pour une utilisation dans un large champ d'application.

# Chapitre II
## *Les huiles essentielles*

# CHAPITRE II

# LES HUILES ESSENTIELLES

## II.1 Introduction

L'association française de normalisation **(AFNOR)** définit une huile essentielle comme étant un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entrainement àla vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec. L'HE est ensuite séparé de la phase aqueuse par des procédés physiques **[Afnor., 2000].**

Les HE extraites des plantes comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes **[Iserin., 2001].** Elles constituent le facteur odorant qui peut s'exhaler spontanément **[Erika. L, 2001].** On peut les extraire par divers moyens et les recueillir sous forme de liquide, en particulier. Ces derniers sont donc la matérialisation palpable de la substance odorante. Elles sont volatiles, et par évaporation, peuvent retourner a l'état d'odeur sans laisser de traces. Les huiles essentielles ont été initialement appelées "esprit" puis "essence". Pour un souci de normalisation, cette dénomination "essence" a été abandonnée au profit de celle d'« huile essentielle » **[Parf. C., 1983].**

## II.2 Présentation des huiles essentielles

### II.2.1 Rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont quatre principaux rôles :

- Protection de la plante contre les déprédateurs (insectes).
- Attraction des insectes pollinisateurs.
- Inhibe la germination de la graine des espèces qui partagent le même espace.
- Elles ont aussi un rôle dans les échanges calorifiques dans les phénomènes capillaires.

### II.2.2 Composition des huiles essentielles

Jusqu'à présent, plus 3000 constituants ont été isolés à partir des HE, ces dernières sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes :

- Composés terpéniques.
- Composés aromatiques dérivés du phenylpropane.

Les HE peuvent également renfermer divers produits issus de processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils **[Brunetton. J., 1999].**

**II.2.2.1 Composés terpénique**

**a. Terpènes**

Ce sont des hydrocarbures cycliques, volatils de formule générale $(C_5H_8)$ n qui se trouvent dans les huiles essentielles naturelles. Les terpènes ont un certain nombre de propriétés communes tenant à leur caractère insaturé : parenté d'odeur, fixation d'hydrogène, isomérisation, polymérisation, etc. **[Brunetton. J., 1999].**

**b. Diterpènes**

Ce sont des composés en $C_{20}$ moins volatils (quatre molécules iospréniques), ils sont cycliques ou acyclique.

**c. Triterpènes**

Ce sont des composés en $C_{30}$ (six molécules isopréniques) aliphatique ou poly cycliques. On les utilise dans l'industrie des parfums. Il y'a aussi les tétraterpènes et polyterpènes qui sont des composés importants du point de vue biochimique. Ils contiennent des chaînes à plusieurs doubles liaisons conjuguées, responsables de leurs couleurs. La coloration de ces hydrocarbures tétra et polyterpènes est facilement explicable par le nombre important de doubles liaisons conjuguées.

**d. Sesquiterpènes**

Ce sont des composés moins volatils de formule moléculaire $C_{15}H_{22}$, $C_{15}H_{24}$, $C_{15}H_{26}$ (Trois molécules isopréniques disposées). On trouve quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des HE: Carbures mono ou polycyclique (B-bisabolene), Alcools (farnésol), Cétones (nootkatone), Aldéhydes (sinensals) et Esters (acétate de cédryle) **[Brunetton. J., 1999].**

**II.2.2.2 Composés aromatiques**

Les composés aromatiques dérivés du phénol propane $(C_6C_3)$ sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyles et propenylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines HE d'Apiacea (fenouil, persil…).

**II.2.2.3 Composé d'origine diverse**

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles. Ces composés contribuent souvent aux aromes de fruits, compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en renfermer. Il en est de même pour les HE lorsqu'ils sont entrainables par la vapeur d'eau.

- Les composés issus de la dégradation d'acides gras.
- Les composés issus de la dégradation de terpènes.
- Les composés azotés ou soufrés **[Brunetton. J., 1999].**

### II.2.3 Propriétés des huiles essentielles

#### II.2.3.1 Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles possèdent un certain nombre de propriétés physico-chimiques connues qui sont les suivantes :

- On trouve généralement les HE incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire.
- Toutes les HE sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois HE officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HE de cannelle, de girofle et de sassafras.
- Elles sont peu polaires et peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques.
- Elles sont également très sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux. **[Seguin. E et al., 2001].**

#### II.2.3.2 Propriétés biologiques

Quelque propriétés biologiques seulement sont reconnues et proviennent d'un usage traditionnel validé : il s'agit des propriétés antiseptiques et stimulante digestives a l'intérieur et, à l'extérieur, de propriétés antiseptiques, cicatrisantes et antalgiques. D'autres propriétés sont revendiquées et font l'objet de prescriptions sous l'entière responsabilité du médecin prescripteur. **[Seguin. E et al., 2001].**

#### II.2.3.3 Propriétés pharmacologiques

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants en proportion souvent variable, d'où la difficulté de mener des études pharmacologiques rigoureuses. Quelques propriétés principales peuvent cependant être dégagées. Un grand nombre d'huiles essentielles présentent des propriétés « digestives » ou des propriétés antispasmodiques, sédatives, irritantes **[Seguin. E et al., 2001].**

### II.2.4 Biochimie des huiles essentielles

#### II.2.4.1 Apparitions des huiles essentielles dans les plantes

Les huiles essentielles sont extraites de plantes ou d'arbres de diverses familles dont le caractère commun est de pousser dans les régions chaudes du globe. Les essences sont synthétisées et stockées par la plante par exemple dans les :

**Tableau II-1 :** Apparitions des huiles essentielles dans les plantes **[Khoudja. A., 1997].**

| *Les organes* | *Les plantes* |
|---|---|
| **Grains** | Macis, angélique, céleri, cardamone. |
| **Fleurs** | Jasmin, rose, lavande, néroli. |
| **Feuilles et tiges** | Géraniums, oeillet, eucalyptus. |
| **Fruits** | Bergamote, anis, cumin. |
| **Écorce** | Cannelle, citron, orange. |
| **Racines** | Iris. |
| **Aiguilles et rameaux** | sapin argenté, sapin, pin |

### II.2.4.2 Fonction biologique des huiles essentielles

La cause et le but de la formation des huiles essentielles sont encore presque inconnus. L'odeur des fleurs attire les abeilles pour féconder les fleurs.

Pour les plantes et les racines, c'est un dispositif de protection contre la transpiration et l'infection par les bactéries

### II.2.5 Mode d'utilisation des huiles essentielles

#### II.2.5.1 Voie orale (ou buccale)

C'est la voie royale (la plus rapide et la plus efficace) pour les huiles essentielles, mais celle de tous les dangers. Il ne faut pas les utiliser pures, car elles peuvent provoquer des brûlures digestives. Elles peuvent être prises dans une cuillère à café de miel, dans des boissons ou encore dans une boulette de pain. **[Biogassendi., 2003].**

#### II.2.5.2 Voie rectal

Elles doivent être prises sous forme de suppositoires, cette voie permet d'éviter le système digestif donc la diffusion dans l'organisme se fait par circulation générale

#### II.2.5.3 Voie cutanée

Cette voie est la plus fréquemment utilisée, car c'est la moins toxique, elle permet une pénétration facile et rapide de l'huile essentielle qui va se diffuser dans la microcirculation périphérique puis dans la circulation générale où elle va exercer son activité **[Willem J.P., 2004].**

## II.3 Extraction des huiles essentielles

### II.3.1 Définition

L'extraction est une technique de séparation en génie chimique. Cette technique utilise un moyen d'extraction pour séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de propriétés chimiques ou physiques.

### II.3.2 Procédés d'extractions

L'odeur parfumée des plantes est due en grande partie aux huiles essentielles présentes dans leur organisme. Très vite, ces composés ont intéressé 1'industrie de la parfumerie et des cosmétiques, c'est pourquoi des techniques d'extraction ont été mises au point rapidement par les industriels. Aujourd'hui, il existe différentes techniques d'extraction. Cette diversité dépend des facteurs suivants :

- La nature du solide lui-même (texture de la matière première).
- La distribution d'huile essentielle au sein du solide.
- La proportion des matières à extraire.
- La sensibilité thermique et chimique des extraits.

Nous donnerons ci-dessous un aperçu général sur quelques procédés d'extractions utilisées jusqu'à l'heure actuelle.

#### II.3.2.1 Distillation

La distillation peut être définie comme un procédé de séparation des composés d'un mélange, qui est basé sur la différence de leur volatilité relative. Dans le cas des huiles essentielles, la distillation est habituellement menée selon deux objectifs: la récupération et le fractionnement.

La première opération consiste en la séparation de l'huile à partir de la matière végétale, tandis que la deuxième est la séparation d'un composé à partir du mélange constituant l'huile **[Richard. H et Multon. JI., 1992].**

**a. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau**

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. À la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille.

Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange «eau + huile essentielle». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : « L'huile essentielle ». L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [**Lucchesi M.E., 2005 et Guenther., 1972].**

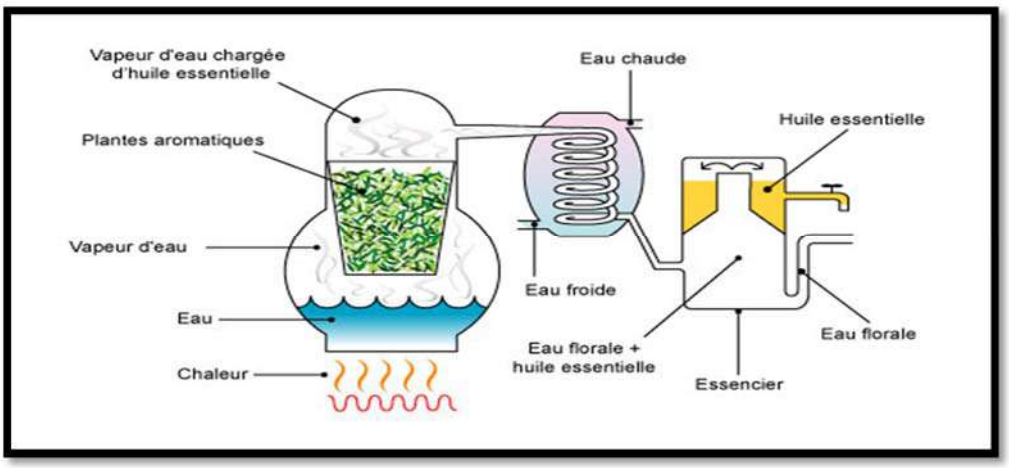



**Figure II-1:** Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau **[Lucchesi M.E., 2005].**

**b. Extraction par hydrodiffusion**

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur, elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar). Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétale .La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classique **[Brunetton. J., 1993].**

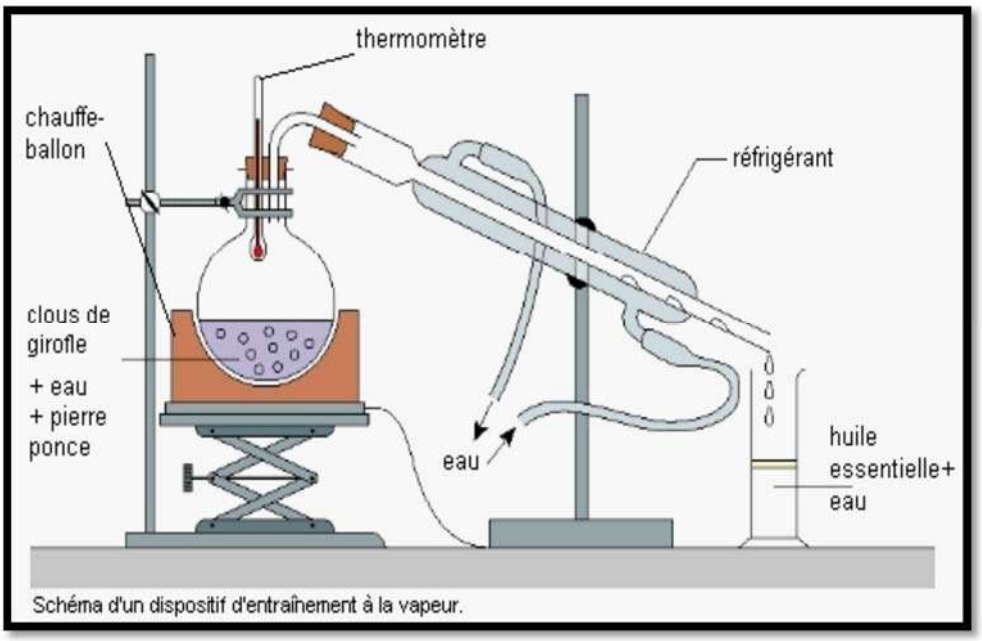
**c. Extraction par hydrodistillation**

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. Cette méthode peut facilement être reproduite en laboratoire et ne nécessite pas beaucoup de matériel **[Rivera L.L., 2006].** Elle est réalisée en deux étapes.

La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans un erlenmeyer où il est possible de distinguer deux phases bien distinctes : l'huile essentielle et, dessous, l'eau aromatique (ou hydrolat) chargée d'espèces volatiles contenues dans la plante et ayant une densité plus élevée **[CNDP., 2000].**

Les deux phases contenues dans l'erlenmeyer sont ensuite transférées dans une ampoule à décanter. Après avoir laissé reposer le contenu quelques secondes, il est

possible d'éliminer totalement l'eau aromatique **[Willem J.P, 2004].** Il ne reste alors plus que l'huile essentielle dans l'ampoule à décanter (Figure II-2).




**Figue II-2:** Montage de l'hydrodistillation simple **[Willem J.P, 2004].**

**d. Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous vide**

Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement de micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle, l'huile essentielle est entraînée dans le mélange isotopique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Très rapide et peu consommateur d'énergie, ce procédé fournit un produit de qualité et de quantité supérieure à celle obtenu par l'hydrodistillation **[Brunetton. J., 1999].**

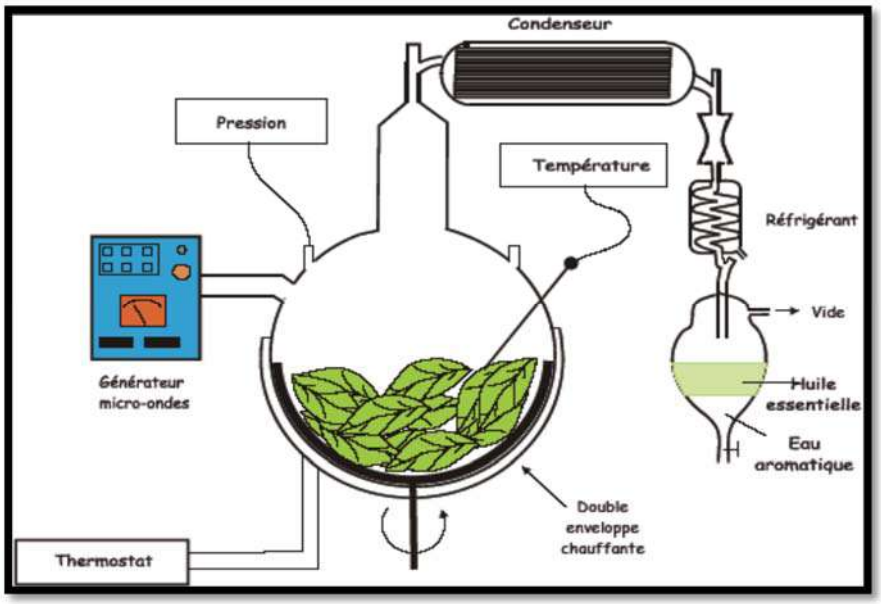



**Figure II-3 :** Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite **[Lucchesi M.E., 2005].**

### II.3.2.2 Extraction par solvants organiques

L'extraction par solvants organique volatils reste la méthode la plus pratiquée. Le principe consiste à faire macérer la matière première avec le solvant à froid ou à chaud afin de faire passer les substances odorantes dans les solvants.

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone.

Le solvant utilisé doit satisfaire à certaines conditions, dont les plus importantes sont :

- Être un bon solvant des produits odorants.
- Avoir un point d'ébullition assez bas (de 50 à 80°C).
- Inerte vis à vis des constituants à extraire.
- Être à moindre coût.
- Ne pas être nuisible pour les humains ou les manipulateurs (Propriétés cancérigènes ou toxiques par exemple) **[Richard. H et Multon J.I., 1992].**

**a. Extraction par macération (à froid)**

La macération à froid consiste à laisser tremper un végétal dans le solvant (parfois salée) pendant plusieurs heures, jours ou semaines. L'intérêt de la macération est généralement la conservation du végétal ou au contraire son délitement. Les molécules de ces substances sont toutes solubles dans un grand nombre de solvant usuels. Une fois que le végétal est en contact avec un solvant, les substances odorantes passent par diffusions à travers les parois cellulaires du végétal vers le soluté **[Blackeway. J et Salerno M., 1987].**

On soutire ensuite la solution et on l'évacué à travers un décanteur filtre vers un évaporateur primaire, ou l'on distille le solvant. On obtient finalement un produit solide, ou pâteux « concrète ».

**b. Extraction par Soxhlet (à chaud)**

Un extracteur de Soxhlet (ou appareil de Soxhlet) est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique qui permet de faire à chaud l'extraction par solvant d'un solide avec une grande efficacité. Cet appareil (Figure II-4), porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet**.**

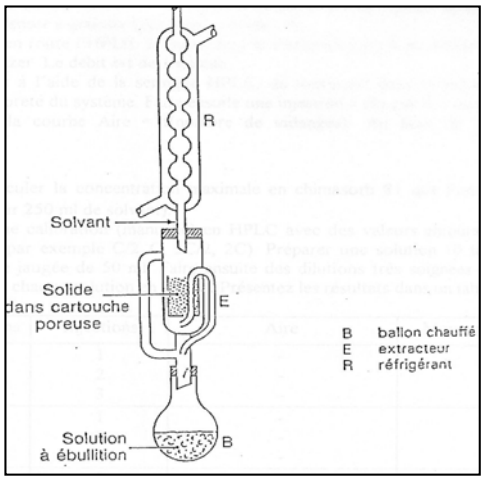



**Figure II-4 :** Montage de Soxhlet **[Rezazi. S et Bouziani. S., 2008]**

Ce montage se compose d'un corps en verre dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais, d'un tube siphon et d'un tube d'adduction. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction.

Dans l'extracteur est insérée une cartouche dans laquelle est placé le solide à extraire, puis un réfrigérant est adapté au-dessus de l'extracteur. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Il s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites, et le solvant contenu dans le ballon s'enrichit donc progressivement en composés solubles. Le cycle peut se répéter indéfiniment jusqu'a épuisement complet du solide.

### II.3.2.3 Extraction par $CO_2$ supercritique

Une nouvelle technique d'extraction se développe utilisant le dioxyde de carbone à l'état supercritique ($P_c$=72,9atm et $T_c$=31,3°C). Le dioxyde de carbone à l'état supercritique présente un pouvoir de dissolution accru, vis à vis des divers mélanges. La solubilité du $CO_2$ passe de l'état gazeux à l'état supercritique. Cette propriété est utilisée pour réaliser l'extraction dans le domaine supercritique d'une part, et la séparation par détente du $CO_2$ supercritique à l'état gazeux d'autre part.

Dans ce dernier état, le soluté extrait n'est plus soluble dans le $CO_2$ et se dépose dans l'extracteur.

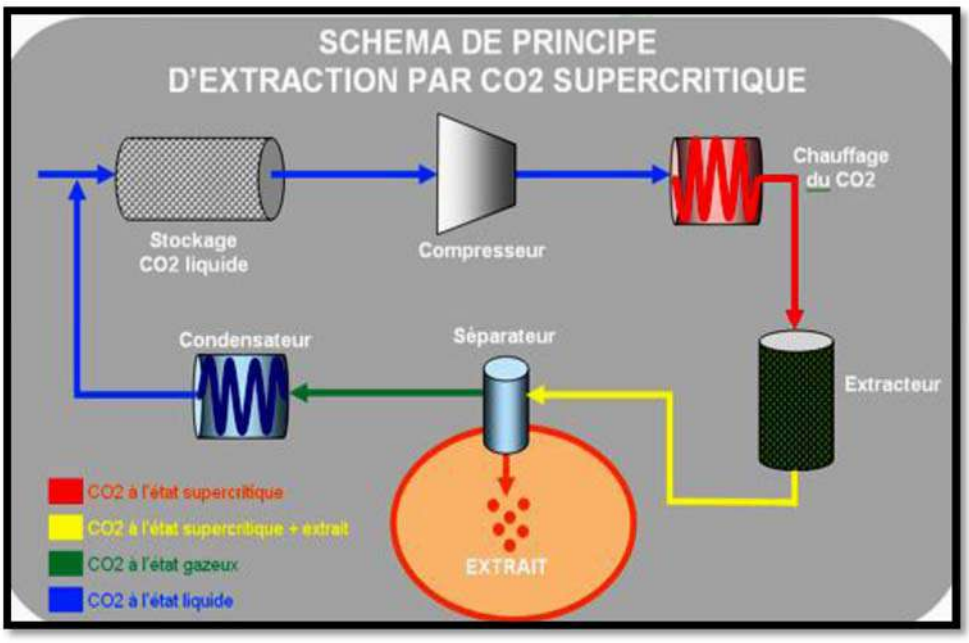



**Figure II-5 :** Schéma du système d'extraction par CO2 supercritique**[Lucchesi M.E., 2005].**

Le $CO_2$ gazeux récupéré subira par la suite, un cycle de transformation qui lui fera retrouver son état supercritique avant sa réadmission dans l'extracteur. Ce cycle se répète durant toute la période d'extraction **[Brunetton. J., 1993].**

### II.4 Caractérisation et analyse des huiles essentielles

Chaque huile essentielle est caractérisé par ses constantes physiques et chimiques dans le but d'une étude qualitative, comparative et pour prouver sa conformité aux normes internationales établies par les organismes de normalisation tel que : L'association Française de normalisation « AFNOR » ou l'organisation de standardisation international « ISO ».

Les constantes physico-chimiques, une fois déterminées, servent d'indice de qualité et permettent de donner une idée sur la composition des huiles essentielles. Par exemple, l'indice de réfraction trop élevé indique la présence de composés renfermant les doubles liaisons. D'autre part, l'utilisation de méthodes physiques d'analyses comme la chromatographie, la résonance magnétique nucléaire et la spectrométrie de masses est devenue incontournable du fait des nombreuses et précieuses informations qu'elles fournissent **[Guide pratique, 1983].**

**TableauII-2:** Caractérisation des huiles essentielles

| **Caractérisation des huiles essentielles** | | |
|---|---|---|
| **Caractéristiques organoleptiques** [Benmerième. L et Bourguig. C., 1996]. | **Caractéristiques physiques** [Pharmacopée E., 2001]. | **Caractéristiques chimiques** [Pharmacopée E., 2001]. |
| - L'aspect.<br>- L'odeur.<br>- La couleur | -La densité relative ($\boldsymbol{d_{20}^{20}}$**).**<br>**-** Le pouvoir rotatoire **(**$\boldsymbol{a^{20}_{D}}$**).**<br>- L'indice de réfraction ($\eta\ ^{t}_{\lambda}$) | - L'indice d'acide ($I_A$).<br>- L'indice d'ester ($I_E$).<br>- La miscibilité dans l'éthanol..<br>- L'indice d'hydroxyle ($I_{OH}$).<br>- L'indice d'iode( $I_I$).<br>- L'indice de saponification ($I_s$). |

## II.4.2 Analyse des huiles essentielles par les méthodes chromatographiques

### II.4.2.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode de choix pour la séparation d'un mélange complexe de produits volatils. Grace à son introduction dans les laboratories analytiques des universités ou dans ceux des industries, beaucoup de secrets de la nature concernant la composition chimique de tels mélanges ont été dévoilés.

A l'aide de la chromatographie en phase gazeuse, des produits très complexes de substances odorantes peuvent être séparés, identifiés dans un temps relativement bref (court). De plus, La chromatographie en phase gazeuse a été largement utilisée pour l'analyse profonde des différents constituants volatils des huiles essentielles.

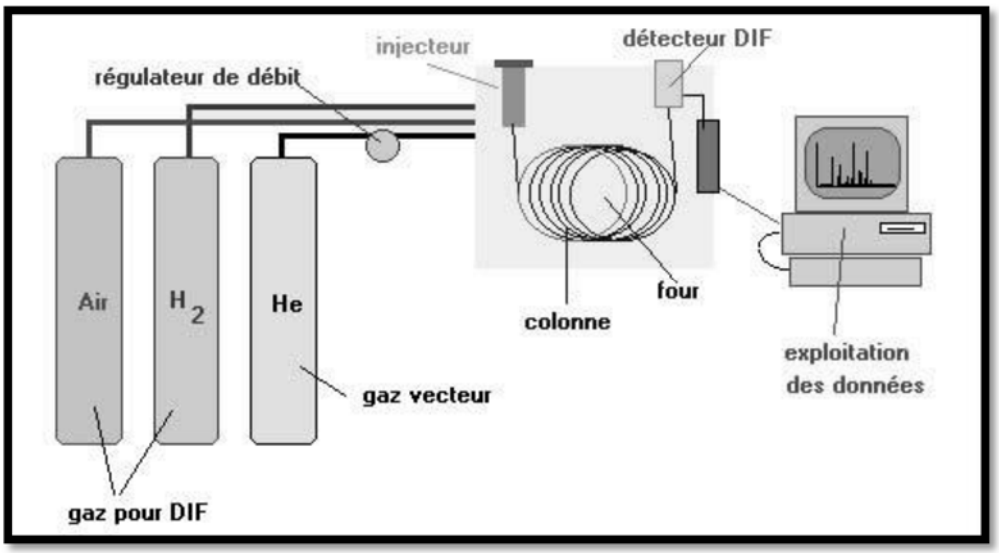



**Figure II-6:** Appareil de CPG, muni d'un détecteur à ionisation de flamme **[Lucchesi M.E., 2005].**

### II.4.2.2 Chromatographie liquide à hautes performances (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) n'est pas une variété particulière de la chromatographie liquide. C'est une méthodologie spéciale, applicable à tous les types de la chromatographie avec élution en phase liquide.

Cette méthodologie qui nécessite un appareillage lourd et couteux, se distingue de la chromatographie classique par :

- Des colonnes, de petits diamètres, réutilisables.
- Des pressions d'entrée relativement élève.
- Des détecteurs spéciaux fonctionnant sur des débits faibles.
- Des appareils automatisés.
- La rapidité des analyses

Les colonnes utilisées en HPLC sont généralement courtes (de 5 à 25 cm de long). Elles sont constituées le plus souvent par un tube d'acier inoxydable, **[Guide pratique, 1983].**

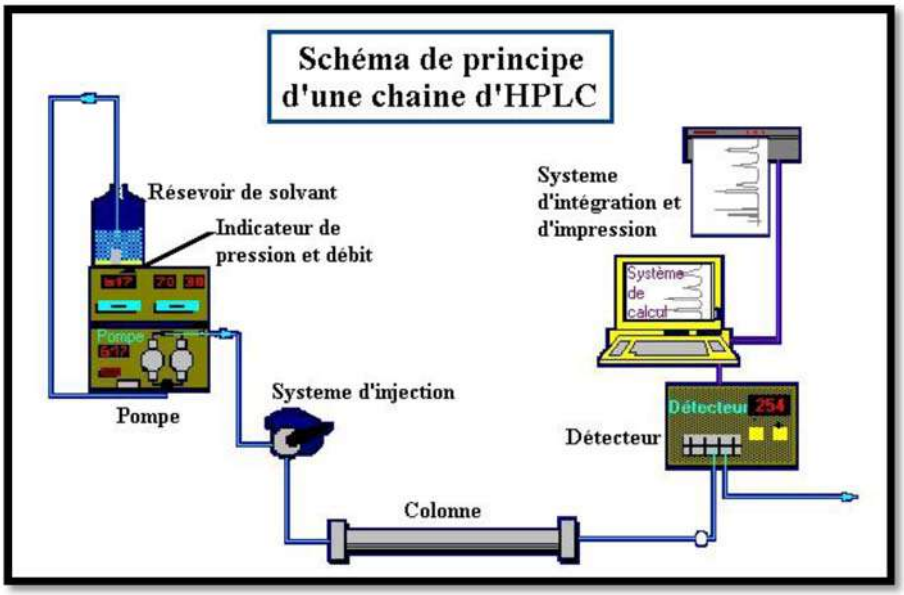



**Figure II-7**: Principe de fonctionnement de l'HPLC **[Brunetton. J., 1993].**

### II.4.2.3 Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM), est une technique de chromatographie couramment utilisée pour séparer des composants dans un but d'analyse (CCM analytique) ou de purification (CCM préparatoire).

Elle comprend:

- Une phase stationnaire: constituée de matériau approprié, est répandue en une couche mince et uniforme sur un support (plaque) de verre, de métal ou de plastique.
- Une phase liquide, dite phase mobile ou éluent: un solvant ou un mélange de solvants qui va entrainer les composés à séparer le long de la phase stationnaire **[Skoog D.A et al., 2003].**

## II.5 Pouvoir antibacterien des huiles essentielles

Les plantes aromatiques sont connues depuis longtemps et mis à profit de manière empirique pour l'assainissement de l'air (encensoir) ou pour augmenter la durée de vie des aliments (bouquet garni). Les propriétés antimicrobiennes sont essentiellement dues à la fraction d'huiles essentielles contenues dans ces plantes **[Lacroix. M et Caillet. S., 2007].**

En 1888, Cadeac et Meunier publient leurs recherches dans les annales de l'institut Pasteur. De nombreuses études in vitro ont été réalisées par des médecins et des pharmaciens avec des résultats concluants.

Dans son livre "Antiseptiques essentiels " publié en 1938, Rene-Maurice Gattefosse, le père de l'aromathérapie, décrit déjà la considérable avancée de la recherche dans ce domaine. Depuis de nombreux travaux, essentiellement de laboratoire, sont venus renforcer ces résultats et expliquer les modes d'actions de certains de leurs composants **[Gattefossé R.M., 1938].**

**II.5.1 Bactéricide et Bactériostase**

A la manière des agents chimiques, on distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur les microorganismes une activité létale (bactéricide) et une inhibition de la croissance (bactériostase).

L'activité des HE est souvent assimilée à une activité bactériostatique. Cependant les études suivantes ont montré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides et fongicides **[Hermal. C., 1993].**

Des clichés de microscopie électronique illustrent ces études en montrant les dommages de cellules des microorganismes suivants:

- Staphylococcus aureus en contact avec des huiles essentielles riches en monoterpénols et en phénols **[Franchomme P.D et Pénoël., 1990].**
- Des cellules d'Escherichia coli visiblement très endommagées par l'Origan compact qui collapsent après une minute de contact,
- La lyse de cellules fongiques provoquée par la Citronnelle de Java, Cymbopogon nardus.

**II.5.2 Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne**

L'examen des données bibliographiques fait apparaître d'emblée la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.

L'insolubilité des huiles essentielles dans l'eau et d'une manière générale dans les milieux aqueux largement utilisés en microbiologie, est une explication de la variété des techniques. Selon la souche microbienne, l'huile essentielle et l'application choisie, divers milieux de culture peuvent être mis en oeuvre. Les différents protocoles peuvent ainsi être classés :

- Selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'huile essentielle, soit liquide, solide ou gazeuse.
- Selon la nature du contact de l'huile essentielle avec le germe : diffusion sur disque, solution alcoolique ou dispersion dans un émulsionnant.

Ces différentes techniques sont répertoriés et décrites dans des mémoires de thèses de doctorat [Porcher-Pimpard., 1942; Auriol., 1990; Poudevigne., 1991; Billerbeck. G., 2000] ainsi que dans différentes publications **[Zaika. L., 1988; Smith M.D et Navilliat P.L., 1997; Mann C.M et Markham J.L., 1998; Lahlou. M., 2004].**

**II.5.2.1 Aromatogramme**

L'aromatogramme est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. Cet examen est donc l'équivalent d'un antibiogramme ou les antibiotiques sont remplaces par des huiles essentielles **[Lernbaum. S., 1990].**

**II.5.2.1.1 Intérêt d'aromatogramme**

Lorsque les antibiotiques classiques n'agissent plus ou que la sensibilité de la personne aux infections devient chronique ou tout simplement par choix, on peut avoir recours à l'aromatogramme. L'aromatogramme permet un choix judicieux, en adaptant la prescription d'essences à chaque syndrome infectieux. Il permet une aromathérapie véritablement sur mesure et appropriée à chaque cas particulier **[Belaiche. P., 1979].**

**II.5.2.1.2 Technique d'aromatogramme**

L'aromatogramme est basée sur la technique d'antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale **[Fauchère J.L et Avril J.L., 2002].**

La technique consiste à utiliser les disques de papier imprégnés des différents produits à tester (huile essentielle). Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier (Figure II-8).

Chaque huile diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance.

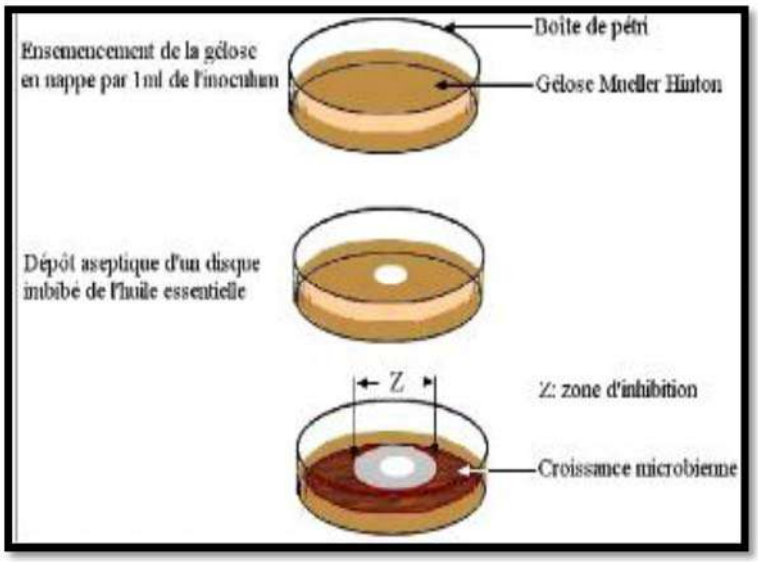



**Figure II-8 :** Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri **[Zaika. L., 1988].**

On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'huile essentielle. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante **[Fauchère J.L et Avril J.L., 2002].**

### II.5.2.2 Microatmosphères

Dérivé de la méthode précédente le protocole des microatmosphères est techniquement proche de celle des aromatogrammes. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné.

Dans cette technique, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé (Figure II-9).

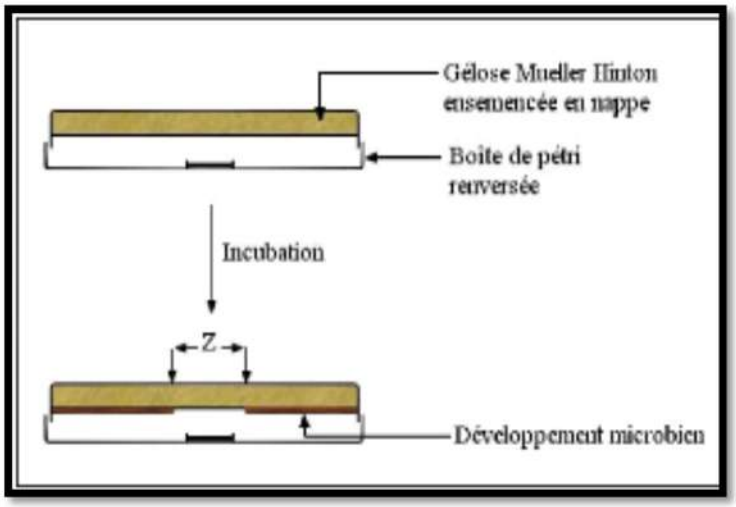



**Figure II-9 :** Illustration de la méthode des microatmosphères **[Zaika. L., 1988].**

Cette technique est utilisée dont le but est d'exploiter les propriétés de la phase volatile des huiles essentielles. Cette méthode est rarement citée car les auteurs qui se sont penchés spécifiquement sur l'activité de la phase gazeuse sont encore peu

nombreux [Sarbach. R., 1962; Didry. N et al., 1993; Billerbeck. G., 2000; Pibiri M.C et Seigniez., 2001].

## II.6 Conclusion

L'étude des huiles essentielles est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et les développements exponentiels des biotechnologies végétales. L'histoire de l'aromathérapie naquit ainsi et, avec les progrès de la science, de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques ont permis de faire des plantes aromatiques et médicinales (PAM) d'authentiques médicaments.

L'Algérie, de part sa position géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de grandes variations climatiques auxquels s'ajoutent les ressources hydriques, tous favorables au développement des cultures intensives des PAM.

# Deuxième partie
## *Étude expérimentale*

# Chapitre III
## *Matériel et méthodes*

# Remerciements

Nous tenons d'abord à exprimer nos profonds remerciements à

« Allah tout puissant »

Nous remercions notre promotrice : Melle REZAZI. S pour son aide, ses conseils et ses encouragements.

Nous remercions Mr. NEDJIOUI. M, chef de département du génie des procédés*a*insi que Mr. HAMDECHE.M, le directeur des études de la Faculté des Sciences et la Technologie.

Nos respects aux président et membres de jury, Professeur HANINI. S et monsieur SI-MOUSSA. C qui nous font l'honneur d'accepter et de juger ce travail et d'apporter leur réflexion et leurs critiques scientifiques.

Nous exprimons mes vifs remerciements à tous les gens qui nous ont facilité mes travaux et mettre à nos disposition les moyens nécessaires au hall technologique de l'université de Médéa et au complexe SAIDAL de Médéa.

*Nos* sincères remerciements vont également à tous les enseignants du département de génie des procédés de la faculté des sciences et de la technologie de l'université de Médéa qui ont participé à notre formation.

Nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce mémoire.

# CHAPITRE III

# MATERIEL ET METHODES

## III.1 Matériel végétal

### III.1.1 Récolte des plantes

Les quatre plantes médicinales sélectionnées dans notre étude (*Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L ,*Glycyrrhiza glabra* Let *Ajuga iva* L) ont été récoltées pendant le mois Mars à Juin de la région de Benchicao, cette dernière est située dans la wilaya de Médéa qui se trouve au nord d'Algérie.

(1) (2)





(3) (4)





**Figure III-1 :** Les quatres plantes utilisées dans l'extraction des huiles essentielles (**1 :** *Pistacia lentiscus* L, **2 :** *Marrubium vulgare* L, **3 :** *Glycyrrhiza glabra* L et 4 *Ajuga Iva* L).

### III.1.2 Conservation des plantes

Les plantes fraichement récoltées, sont lavées et laissées sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant une semaine **[Parthasarathy V.A et Chempakam. B., 2008].** Devenues sèches, les parties utilisées (Tableau III-1) sont récupérées dans des sacs propres. Notant qu'avant le lavage, une certaine quantité est récupérée pour la mesure du taux d'humidité.

**Tableau III-1 :** Organes végétaux destinés pour l'extraction

| **L'espèce végétale** | **Les parties utilisées** |
|---|---|
| *Pistacia lentiscus* L | Les feuilles |
| *Marrubium vulgare* L | Les feuilles |
| *Glycyrrhiza glabra* L | Tiges |
| *Ajuga iva L* | Toute la plante |

## III.2 Procédé d'extraction des huiles essentielles

### III.2.1 Extraction par Hydrodistillation

Les quatre plantes médicinales (*Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L ,*Glycyrrhiza glabra* L et *Ajuga iva* L) sont soumises à une opération d'extraction par hydrodistillation en utilisant le montage schématisé dans la Figure III-2.



**Figure III-2:** Montage d'hydrodistillation.

### III.2.1.1 Optimisation du rendement de l'extraction par hydrodistillation

Cette partie a pour but l'optimisation de certains facteurs influençant le rendement d'extraction par hydrodistillation, notamment :

- Le séchage.
- Le broyage (différents granulométries).
- Le rapport pondéral (matière végétale/solution conductrice).

#### III.2.1.1.1 Effet de séchage

Les matériels utilisés ainsi que les différents réactifs et verreries sont représentés dans le tableau ci-contre :

**Tableau (III-2):** Matériels utilisés pour l'extraction

| Materiel | Verreries | Réactifs |
|---|---|---|
| • Chauffe ballon.<br>• Balance analytique. | • Ballon (500 ml)<br>• Réfrigérant.<br>• Ampoule à décanter | • Eau distillée.<br>• NaCl.<br>• Diéthyle éther. |

❖ **Méthode**

On pèse une quantité de 10.5 g (*Ajuga iva* L) et 35g (*Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L *et Glycyrrhiza glabra* L) fraiches respectivement dans la première expérience et les même quantités de la plante séchée à l'air libre et à l'ombre pendant 7 jours dans la 2ème expérience, en suite on met la matière végétale pesée dans un ballon de volume de 500ml et on verse d'environ 350 ml d'eau distillée pour *Ajuga iva* L et un ballon de 1L ,on verse d'environ de 700ml d'eau distillée pour *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L *et Glycyrrhiza glabra* L.

On place sur le ballon un réfrigérant à eau et on porte l'ensemble à l'ébullition grâce à un chauffe-ballon et on règle le débit de refroidissement, après, on place une erlenmayer à la sortie de réfrigèrent pour récupérer le distillat (huile essentielle + eau aromatique) chaque 20 minutes.

Lorsque le mélange (matière végétale et l'eau distillée) arrive à son point d'ébullition, les vapeurs chargées en huiles essentielles passent par le réfrigérant pour se condenser et dés l'apparition de la première goutte on démarre le chronomètre et on fait le relargage pour le condensat recueilli (eau aromatique + HE), ce dernier consiste à rendre les huiles essentielles extraites moins solubles dans l'eau en ajoutant du

chlorure de sodium (NaCl). Puis on mettre le mélange (eau aromatique+HE+Na Cl) dans une ampoule à décanter pour faire la décantation du condensat recueilli avec di-éthyle éther, puis mettre les phases organiques séparées (di-éthyle éther + HE) dans des tubes à essais secs et laisser le di-éthyle-éther s'évaporer. Enfin, on pèse les tubes à essais, la différence du poids représente les masses des huiles extraites.

❖ **Calcul du rendement**

Le rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal sec à traiter. Il est exprimé en pourcentage par la relation suivante :

$$R(\%)=\left(\frac{m}{M}\right)*100 \qquad \textbf{(III-1)}$$

Avec :

R : Rendement en huile essentielle exprimé en (%).

m : Masse de l'huile essentielle en (g).

M : Masse de la matière végétale en (g).

**III.2.1.1.2 Effet du rapport pondéral**

Le rapport pondéral (P) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'échantillon à traiter (m) et le volume de la solution conductrice utilisée (V). Il est exprimé en pourcentage par la relation suivante :

$$\boldsymbol{P}(\%) = \left(\frac{\boldsymbol{m}}{\boldsymbol{V}}\right) * \mathbf{100} \qquad \textbf{(III-2)}$$

Avec :

P : Rapport pondérale exprimé en (%).

m : Masse de la matière végétale exprimée en (g).

V : Volume de l'eau distillée exprimé en (ml).

❖ **Méthode**

Pour tous les essais de cette section :

- Le volume de l'eau distillée introduite dans le ballon est 700 ml pour *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L *et Glycyrrhiza glabra* L et 350 ml pour *Ajuga iva* L

- La masse de la plante utilisé est de est de 21g ; 35g et 49g pour *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L *et Glycyrrhiza glabra* Let de 10.5g;17.5g et 24.5g pour *Ajuga iva* L pour différentes valeurs de rapport pondéral de 3% ; 5% et 7% respectivement.
- Le temps de distillation est conditionné par la cinétique d'hydrodistillation des huiles essentielles.

Trois essais ont été réalisés pour chaque plante.

#### III.2.1.1.3 Effet du broyage

Dans cette partie, on étudie l'influence du broyage des plantes sur le rendement de l'HE extraite par hydrodistillation.

❖ **Méthode**

On réalise le même montage précédent et on suit le même mode opératoire sauf, dans la 1ère expérience on utilise la plante sèche entière et on met la plante broyée avec différents diamètres ($\Phi>2mm$; $1.25<\Phi<2mm$; $0.63<\Phi<1.25mm$ et $0.1<\Phi<0.63mm$) pour la deuxième expérience (les deux expériences seront effectuées pour chacune des plantes).

### III.3 Caractérisation et Analyse des huiles essentielles

### III.3.1 Caractérisation des huiles essentielles

Le but de cette étude est de caractériser les huiles essentielles de (*Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L, *Glycyrrhiza glabra* L et *Ajuga iva* L) par ses qualités organoleptiques et ses constantes physico-chimiques pour effectuer une étude comparative visant à vérifier sa conformité et apprécier la qualité de notre substrat végétale ainsi la détermination de la composition chimique de ces huiles.

### III.3.1.1Caractéristiques physiques des huiles essentielles

❖ **Densité relative($d_{20}^{20}$)**

La densité relative d'une substance est. le rapport entre la masse d'un certain volume de cette substance à 20°C à la masse d'un volume égale d'eau à la même température **[Pharmacopée. E., 2001].**

La densité relative ($d_{20}^{20}$) est donnée par la formule suivante :

$$d_{20}^{20} = \rho_{HE} / \rho_{Eau} \qquad \textbf{(III-3)}$$

**a. Matériel**

- Fiole de 5 ml.
- Balance analytique.

**b. Méthode**

Au moyen d'une balance de précision et à l'aide d'une fiole de 5ml on a pesé 4ml d'HE de la plante choisie, puis on a pesé le même volume d'eau distillée (L'opération est faite pour les quatre plantes).

❖ **Indice de réfraction ($\eta_{\lambda}^{t}$)**

L'indice de réfraction($\eta_{\lambda}^{t}$) d'un milieu rapporté à l'air est égale au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air et le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré **[Pharmacopée. E., 2001].**




**Figure III-3 :** Refractomètre.

**a. Matériel**

- Réfractomètre.

**b. Méthode**

On place 2 à 3 gouttes de l'HE de la plante choisie à l'aide d'une pipette dans la Cellule de mesure jusqu'au trait signal, puis on referme le couvercle pendant 15 secondes (temps nécessaire pour que l'appareil soit stabilisé à 20°C) et on règle avec

les deux boutons, jusqu'à la localisation du trait signal au centre de la cellule. A la fin on lit la valeur de l'indice de réfraction sur le cercle gradué.

### III.3.1.2 Caractéristiques chimiques des huiles essentielles

- **Indice d'acide ( $I_A$)**

L'indice d'acide ($I_A$)est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans un gramme de substance **[Pharmacopée. E, 2001].**

L'indice d'acide **($I_A$)** est exprimé par la formule suivante :

$$I_A = \frac{5.61 * n}{m} \qquad \textbf{(III-5)}$$

Avec :

5,61 : Équivalant de KOH.

n : Volume de $V_{KOH}$ 0.1M consommée.

m : Masse de l'échantillon.

**a. Matériel**

- Fiole de 100 ml.
- Burette graduée.
- Pipette.
- Balance analytique

**b. Réactifs**

- Alcool éthylique.
- Éther di- éthylique.
- Hydroxyde de potassium 0,1 M.
- Phénol phtaléine.

**c. Méthode**

On dissolve 0,5g d'HE de la plante choisie dans 25ml d'un mélange à volumes égaux d'alcool et d'éther. Le solvant a été neutralisé au préalable par l'hydroxyde de potassium 0.1M en présence de 0.5ml de solution de phénophtaléine. Après dissolution, on titre par l'Hydroxyde de Potassium 0.1M. Le titrage est terminé lorsque la couleur rose persiste pendant 15s au moins ($n_{ml}$ d'Hydroxyde de Potassium 0.1M) (L'opération est faite pour les quatre plantes) **[Pharmacopée. E., 2001].**

## III.4 Activité antibactérienne

### a. Matériels

- Boite de pétri (1000 mm).
- Disques stériles (9 mm).
- Incubateur.
- Appareil pour la mesure de diamètre.

### b. Milieux de cultures

- Soja Agar (gélose de soja tryptique).

### c. Solutions testées

- L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L, *Glycyrrhiza glabra* L et *Ajuga iva* L extraite par hydrodistillation classique.
- L'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L, *Glycyrrhiza glabra* L et *Ajuga iva* L.

### d. Souches utilisées

Les souches utilisées dans notre travail son regroupées dans le tableau III-3.

**Tableau III-3 :** Les propriétés des souches bactériennes utilisées **[Fauchère et Avril., 2002].**

| Souche | Type | Effet |
|---|---|---|
| ***Staphylococcus aureus*** **(ATCC 29737)** | Gram positif | Responsable d'infections graves communautaires et nosocomiales Responsable d'infections des plaies, de la peau et du sang. |
| ***Staphyloccocus Epidermidis*** **(ATCC 12228)** | Gram négatif | Responsable d'infection cutanée et d'infection nasale comme des sinusites. |
| ***Bacillus subtilus*** **(ATCC 10536)** | Gram positif | Elle peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer une intoxication alimentaire. |
| ***Escherichia Coli*** **(ATCC 6633)** | Gram négatif | E. coli peuvent être pathogènes entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou septicémies. |

### III.4.1 Préparation des milieux de cultures

**Soja Agar (gélose de soja tryptique)**

❖ **Composition**

- Caséine : 15g.
- Farine de soja : 5g.
- Chlorure de sodium : 5g.
- Gélose : 15g.

❖ **Préparation**

- On met 40 g de poudre en suspension dans 1 L d'eau distillée et on mélange
- On chauffe sous agitation fréquente et on laisse bouillir pendant 1 min jusqu'à dissolution complète
- On procède à la stérilisation en utilisant l'autoclave à 121°C pendant 15 à 20min.
- PH final : 7,3$\pm$0,2.

### III.4.2 Réalisation d'aromatogramme

❖ **Mode opératoire**

Le mode opératoire est identique pour les différentes cultures et souches. On procède comme suit :

On met 21 ml de l'un des milieux de culture cité précédemment dans chaque boite de pétri en le répartissant uniformément dans les boites et on le laisse se solidifier un court moment. Puis, on dépose les souches bactériennes de concentration cellulaire [C] = $10^6$ c/ml dans les milieux de culture appropriés par la méthode d'ensemencement. Après, on dépose dans chaque boite des disques en papier buvard imbibés dans l'huile essentielle ou dans l'extrait obtenu par hydrodistillation classique.

Enfin, On procède les boites de pétri à une incubation de 24 heures à une température de 35°C pour *Staphylococcus aureus* et *epidermidis*, *Bacillus subtilus* et *E. coli*. Et après la période d'incubation, on mesure le diamètre inhibition à l'aide d'un appareil pour la mesure de diamètre (Figure III-4).




**Figure III-4 :** Appareil de lecture des diamètres d'inhibitions

## III-5 Étude de l'activité anti-oxydante (détermination du pouvoir réducteur)

### III-5-1 Les solutions testées

- L'huile essentielle de Pistacia lentiscus L, Marrubium vulgare L Glycyrrhiza glabra Let Ajuga iva L extraite par hydrodistillation classique.
- L'extrait aqueux de Pistacia lentiscus L, Marrubium vulgare L, Glycyrrhiza glabra L et Ajuga iva L .
- L'extrait méthanolique de Pistacia lentiscus L, Marrubium vulgare L, Glycyrrhiza glabra L et Ajuga iva L.

### III-5-2 But

Les antioxydants, sont des composés qui protègent les cellules du corps des dommages causés par les radicaux libres. Ces derniers sont des molécules très réactives qui seraient impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies liées au vieillissement.

### III-5-3 Principe

Le pouvoir réducteur, mesure la capacité qu'a un antioxydant à donner un électron **[Balasundram N, et autres, 2005].** La détermination du pouvoir réducteur est réalisée selon la méthode d'OKTAY *et al,* (2003), comme l'indique la figure III-7

La réduction de l'ion ferrique ($Fe^{3+}$) en ion ferreux ($Fe^{2+}$), est mesurée par l'intensité de la solution bleue vert qui en résulte. Celle-ci absorbe à une longueur d'onde de 700 nm. Une augmentation de l'absorbance est indicatrice d'un pouvoir réducteur élevé **[Balasundram N, et autres, 2005].**

**III-5-4 Protocol**

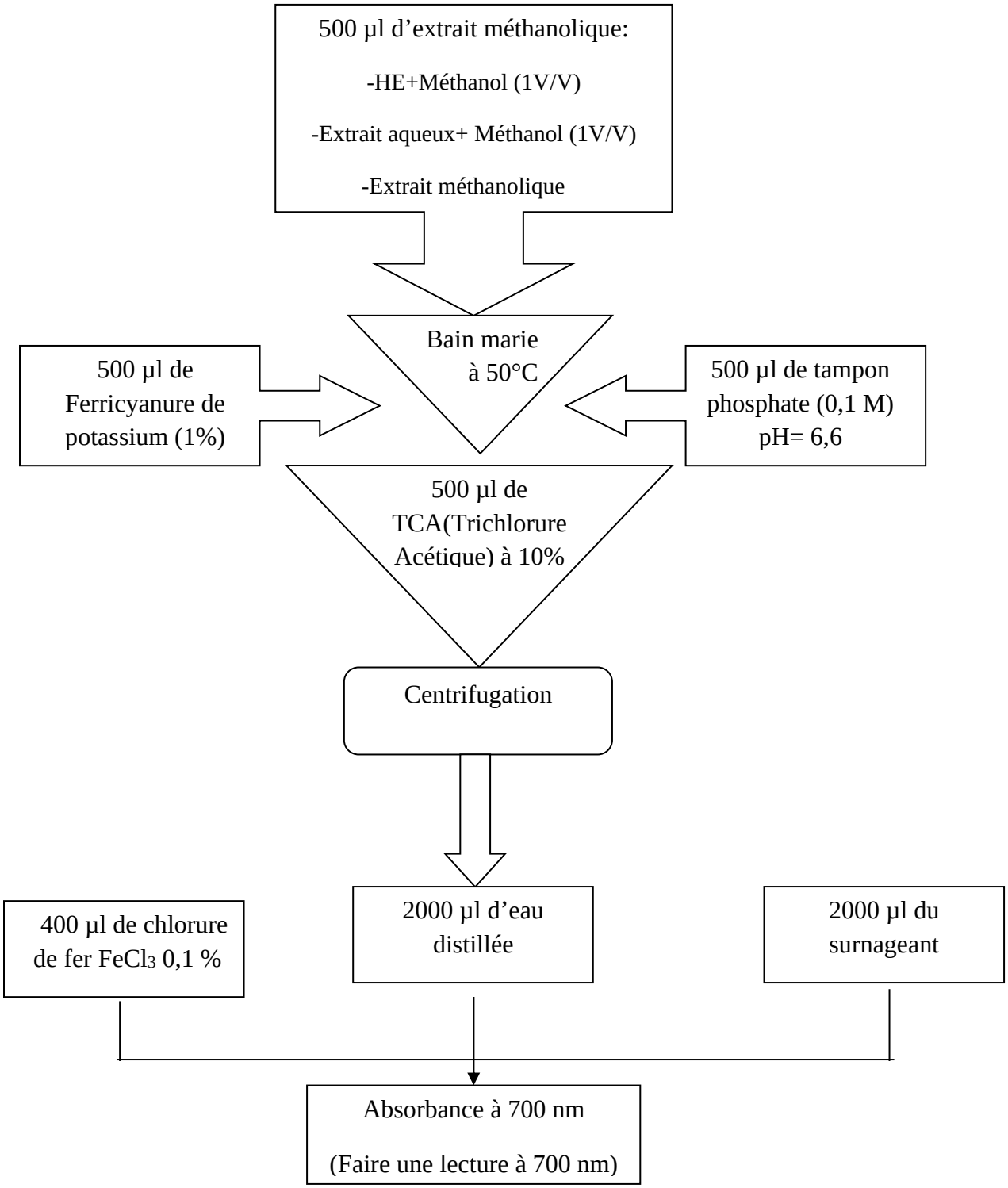



**Figure III-5:** Protocole d'étude d'activité anti-oxydante **[Hubert, 2006].**

- Le blanc, est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.
- Le témoin, est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par du méthanol.
- Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons sauf pour la longueur d'onde puisqu'on a vérifié que la solution méthanolique de l'acide ascorbique absorbe mieux à 686 nm.
- Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés **[Hubert, 2006].**

# Chapitre IV
## *Résultats et discussion*

# CHAPITRE IV
# RÉSULTATS ET DISCUSSION

Dans ce chapitre tous les résultats expérimentaux obtenus lors de cette étude sont présentés et discuté, commençant par l'étude de l'influence des paramètres opératoires sur les rendements d'extraction

## IV.1 Rendement en huile essentielle

### IV.1.1 Hydrodistillation

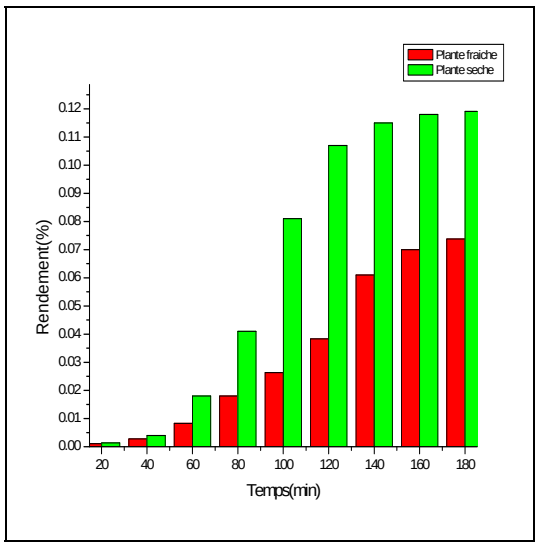
Afin d'optimiser les différents paramètres modifiants le rendement d'extraction, on a essayé d'évaluer la cinétique du procédé d'HD par l'étude de l'influence de séchage, de broyage (différent granulométrie) ainsi que l'hydromodule (Rapport pondéral) sur la quantité d'HE obtenue.

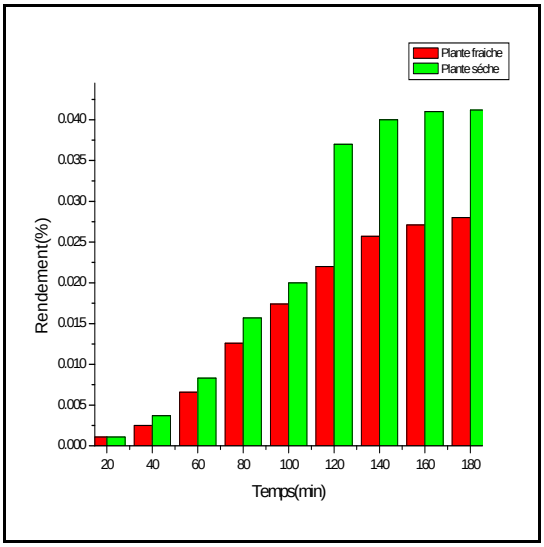
#### IV.1.1.1 Effet de séchage

**a. Résultats**

La figure IV-1 représente les résultats trouvés en termes de rendement après réalisation de l'Hydrodistillation sur les quartes plantes (état sec et frais).

***Pistacia lentiscus*L** ***Marrubium vulgare* L,**




.

***Glycyrrhiza glabra* L** ***Ajuga Iva* L.**

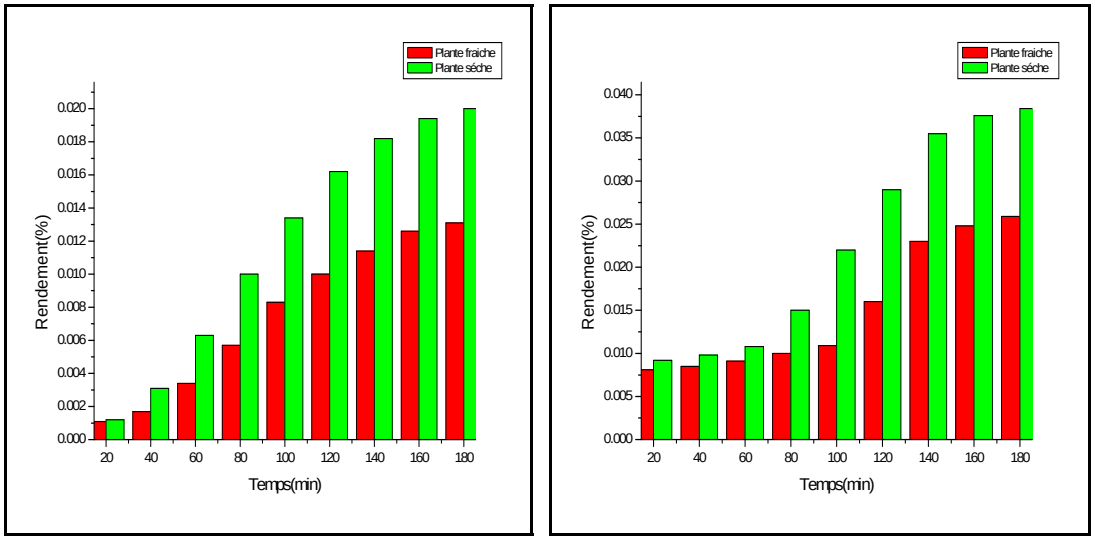



**Figure IV-1 :** Effet de séchage sur le rendement obtenu par HD

### b. Discussion

Pour les quatre plantes : *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L, *Glycyrrhiza glabra* L *et Ajuga Iva* L les rendements obtenus par utilisation de la matière végétale sèche (0.118%; 0,041% ; 0,020% et 0.0384%) sont plus quantitatifs que ceux obtenus avec la matière végétale fraiche (0.0738% ; 0.028% ; 0,0131% et 0.0259%) et par conséquent le séchage a augmenté le rendement en HE de 59,89 % pour *Pistacia lentiscus* L, de 46,62 % pour *Marrubium vulgare* L , de 52,67 % pour *Glycyrrhiza glabra* L et de 48.28 % pour *Ajuga iva* L.

Cela s'explique par le fait que la masse de la matière végétale fraiche utilisée renferme une quantité d'eau contrairement à une même masse de matière végétale sèche, donc la masse de la matière végétale traitée est pratiquement différente dans les deux cas.

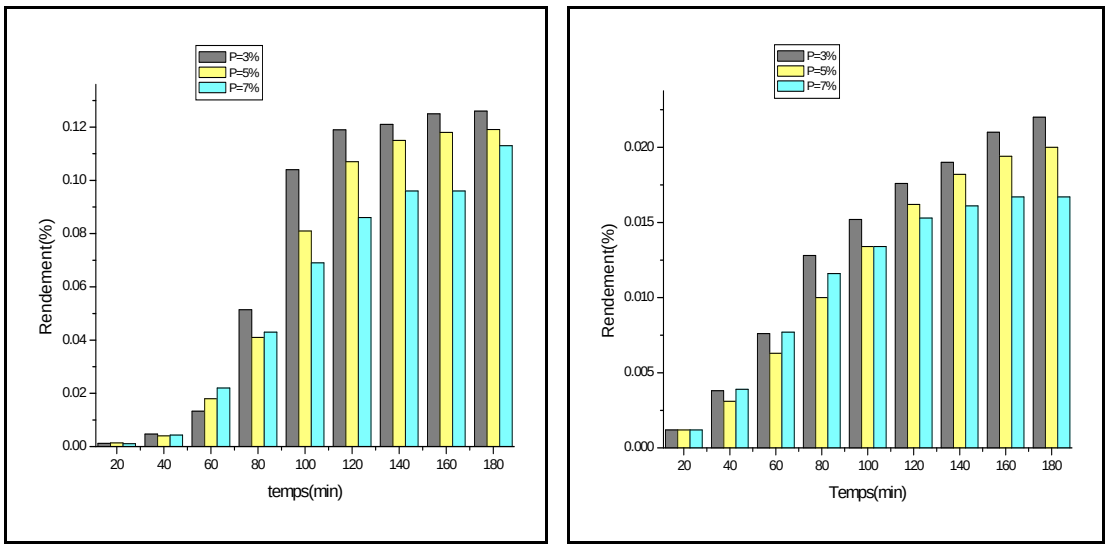
Et d'autre part, selon Zrira. S et Benjilali. B, (1991), la plante après sa récolte continue à vivre et son activité de biosynthèse des terpènes et dérivés s'accentue pour quelques jours donc le séchage de la plante, avant sa mise en distillation, est un traitement qui a des effets très nets sur le rendement en huile essentielle.

### IV.1.1.2 Effet du rapport pondéral

#### a-Résultats

Les résultats en termes de rendement des procédés d'extractions effectués sur les plantes médicinales en utilisant des différents rapports pondéraux sont représentés dans les graphes suivants :

***Pistacia lentiscus* L** ***Marrubium vulgare* L**




***Glycyrrhiza glabra* L** ***Ajuga Iva* L.**

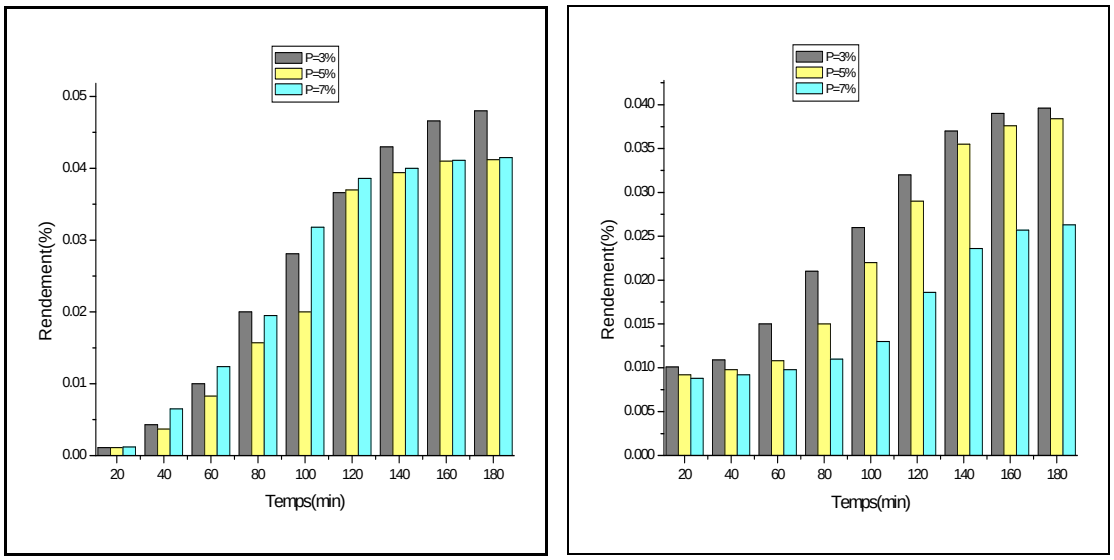



**Figure IV-2 :** Effet du rapport pondéral sur le rendement obtenu par HD

#### b. Discussion

La figure IV-2 montre les cinétiques d'HD menées pour différents valeurs de rapport pondéral (3%, 5 % et 7%). Les rendements maximaux en HE obtenus à

différents rapports pondéraux (3%, 5% et 7%) sont (0,126%; 0,118% et 0,096%) pour *Pistacia lentiscus* L, (0,048%; 0,041% et 0,040%) pour *Marrubium vulgare* L et (0,022% ; 0,02% et 0,0167%) pour *Glycyrrhiza glabra* L et (0.0396%;0.0384% et 0.0263%) pour *Ajuga Iva* L.

D'une manière individuelle on peut observer que le rapport pondéral de 3% donne toujours le rendement le plus intéressant par rapport à ceux obtenus avec les rapports pondéraux les plus grands (5% et 7%). Par conséquent, le rapport matière végétale/eau a une influence importante sur le rendement. Cela peut être interpréter comme suit : le rapport matière (végétale/eau) définit la surface de contact entre la plante et la solution extractive se qui facilite l'hydrodiffusion et les échanges liquide-solide et influe sur le rendement en HE.

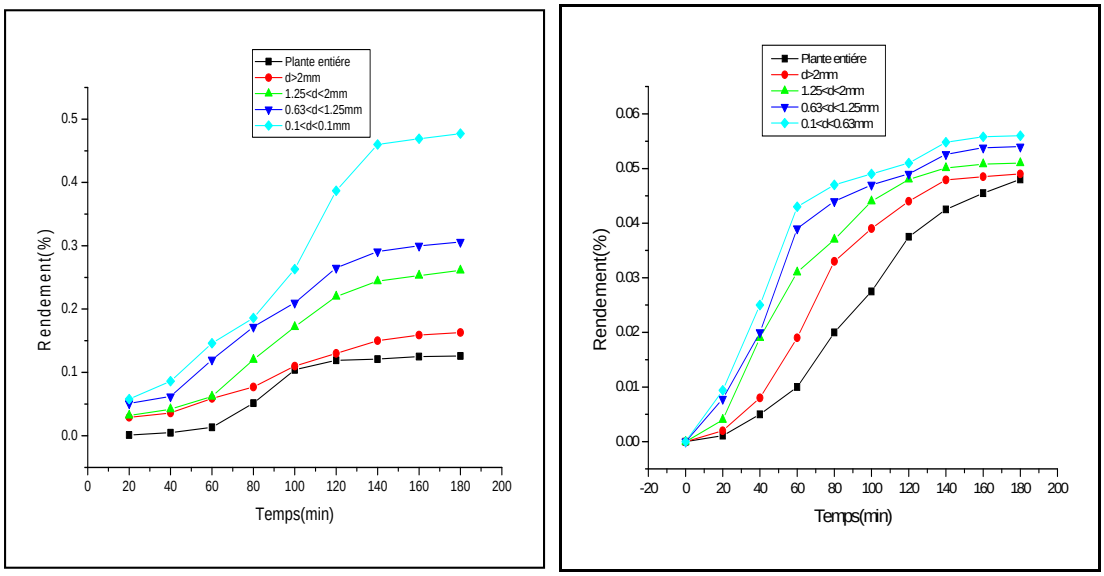
D'autre part, et selon Muñoz. F., (1987), plus la quantité de matière végétale dans la solution est importante, plus la phase aqueuse devient de plus en plus chargée en matière organique au cours du temps, ce qui limite par conséquent le phénomène de diffusion de l'HE. En plus un tassement trop fort risque de provoquer un "colmatage" de la masse végétale ce qui ralentit la distillation.

### IV.1.1.3 Effet du broyage

#### a. Résultats

Les résultats de la cinétique d'extraction obtenues après réalisation de l'hydrodistillation sur les quatre plantes (broyées et non broyées) sont illustrées dans la figure IV-3

***Pistacia lentiscus* L** ***Marrubium vulgare* L**



***Glycyrrhiza glabra* L** ***Ajuga Iva* L.**

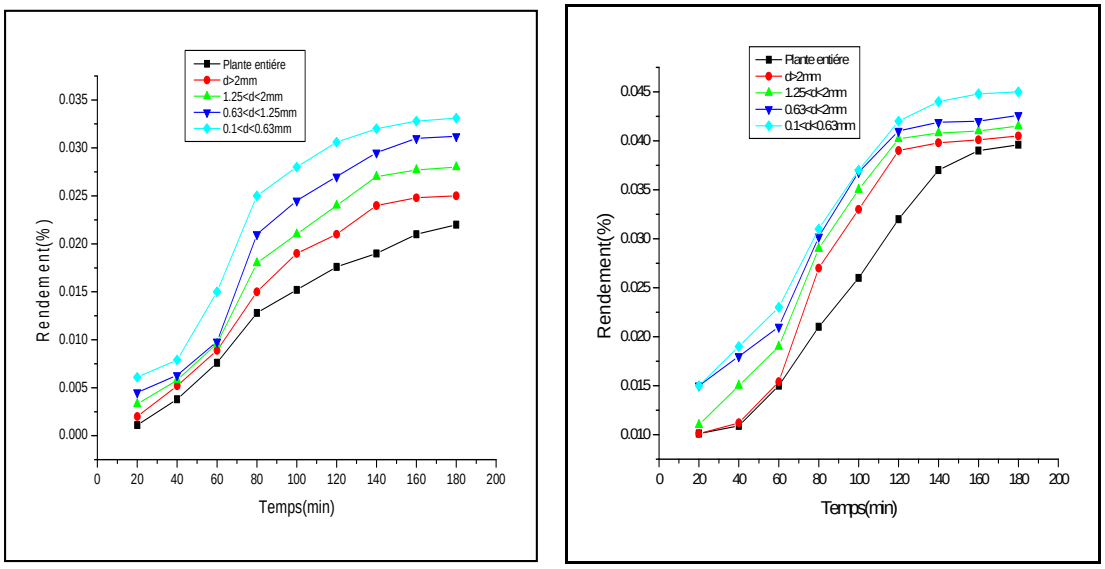



**Figure IV-3 :** Effet de broyage sur le rendement obtenu par HD.

### b. Discussion

Les résultats schématisés sur les graphes ci-dessus montrent que les plantes non broyées ont donné des rendements en HE (0.118%; 0,041% ; 0,02% et 0.0396%) inferieur à ceux obtenus dans le cas des plantes broyées à déférentes granulométrie, tel qu'on a obtenu :

- Pour le diamètre : Φ>2 mm, les rendements maximaux obtenues sont 0.163% ; 0.049% ; 0.025% et 0.0405%
- Pour le diamètre : 1.25<Φ<2 mm ; les rendements maximaux obtenues sont 0.261% ; 0.051% ; 0.028% et 0.0415%
- Pour le diamètre 0.63<Φ<1.25 mm ; les rendements maximaux obtenues sont 0.306%; 0.054% ; 0.0312% et0.0426%
- Et Pour le diamètre : 0.1<Φ<0.63mm ; les rendements sont respectivement : 0.477% ; 0.056% ; 0.0331% et 0.045%

Le broyage augmente la surface de contact et les échanges entre la plante et la solution extractive par conséquent augmentent le rendement en HE. Ces granulométries donnent un effet positif sur le rendement de distillation.

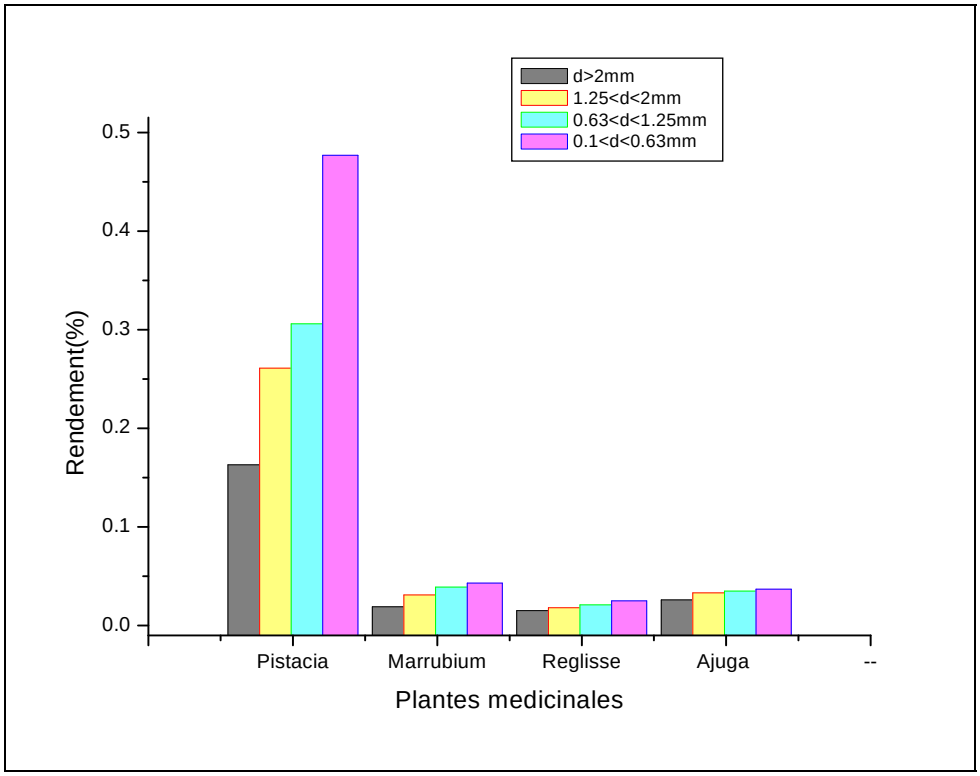



**Figure VI-4** : Effet de granulométrie sur le rendement

On peut observer que le diamètre 0.1<Φ<0.63 mm donne toujours le rendement le plus intéressant par rapport à celui obtenu avec les autres diamètres. Par conséquent, le diamètre a une influence importante sur le rendement.

## IV.2 Caractérisation et Analyse des huiles essentielles

### IV.2.1 Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques de L'HE des quatre plantes médicinales sont regroupées dan les tableaux IV-1.

**Tableau IV-1 :** Caractéristiques organoleptiques des HE extraite par hydrodistillation.

| **Caractéristique Organoleptique / Plante** | **Aspect** | **Couleur** | **Odeur** |
|---|---|---|---|
| *Pistacia lentiscus* L | Liquide mobile limpide | Incolore à jaune pâle | Intense, herbacée |
| *Marrubium vulgare* L | Liquide mobile limpide | Jaune très pâle | Intense, herbacée |
| *Glycyrrhiza glabra* L | Liquide visqueux | Jaune très pâle | Intense, herbacée |
| *Ajuga iva* L | Liquide mobile limpide | Jaune très pâle | Intense, herbacée |



**Figure IV-4 :** L'HE extraite par HD.

### IV.2.2 Caractéristiques physiques des huiles essentielles

- **Densité relative ($d_{20}^{20}$) et Indice de réfraction ($\eta\ {}_{\lambda}^{t}$)**

**a. Résultat**

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau IV-2.

**Tableau IV-2 :** Résultats de la densité relative et Indice de réfraction.

| | ***Pistacia lentiscus* L** | ***Marrubium vulgare* L** | ***Glycyrrhiza glabra* L** | ***Ajuga iva L*** |
|---|---|---|---|---|
| **La densité relative** | 0,864 | 0,890 | 0,901 | 0.852 |
| **Indice de réfraction** | 1.4725 | 1.4538 | 1.5040 | 1.4356 |

**b. Discussion**

Les valeurs obtenues de la densité et Indice de réfraction de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L, *Glycyrrhiza glabra* L et *Ajuga Iva L* appartiennent aux normes.

### IV.2.3 Caractéristiques chimiques des huiles essentielles

- **Indice d'acide ($I_A$)**

**a. Résultats**

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau IV-3.

**Tableau IV-3:** Résultats d'indice d'acide

| | ***Pistacia lentiscus* L** | ***Marrubium vulgare* L** | ***Glycyrrhiza glabra* L** | ***Ajuga iva L*** |
|---|---|---|---|---|
| **Indice d'acide** | 2.085 | 3.071 | 2.406 | 2.603 |

**b. Discussion**

L'indice d'acide déterminé renseigne sur la qualité d'HE, en effet plus l'indice d'acide est élevé plus la qualité de l'HE est moins bonne, car l'($I_A$) représente la concentration totale en acide gras se trouvent libres.

Les valeurs de l'indice d'acide de l'huile extraite de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L , *Glycyrrhiza glabra* L et *Ajuga iva* L est moins élevées ce qui montre la bonne qualité d'HE obtenue.

## IV.3 Activité antibactérienne

- **Aromatogramme**

**a. Résultat**

Les résultats obtenus des diamètres des zones d'inhibition obtenus des HE de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L ,*Glycyrrhiza glabra* L et *Ajuga Iva* L sont regroupés dans le tableau IV-4

**Tableau IV-4 :** Résultats des diamètres des zones d'inhibition des HE.

| | Diamètres des zones d'inhibitions (mm) | | | |
|---|---|---|---|---|
| plante / souches bactériennes | ***Pistacia lentiscus* L** | ***Marrubium vulgare* L** | ***Glycyrrhiza glabra* L** | ***Ajuga iva L*** |
| *Staphylococcus aureus* | 17 | 11.5 | 14 | ------ |
| *Staphylococcus epidermidis* | 13 | 19 | 13.5 | ------ |
| *Bacillus subtilus* | 15 | 15 | 22 | 14 |
| *Escherichia coli* | 16 | 20 | 27 | ------ |

(A) ( B )






(C ) (D )

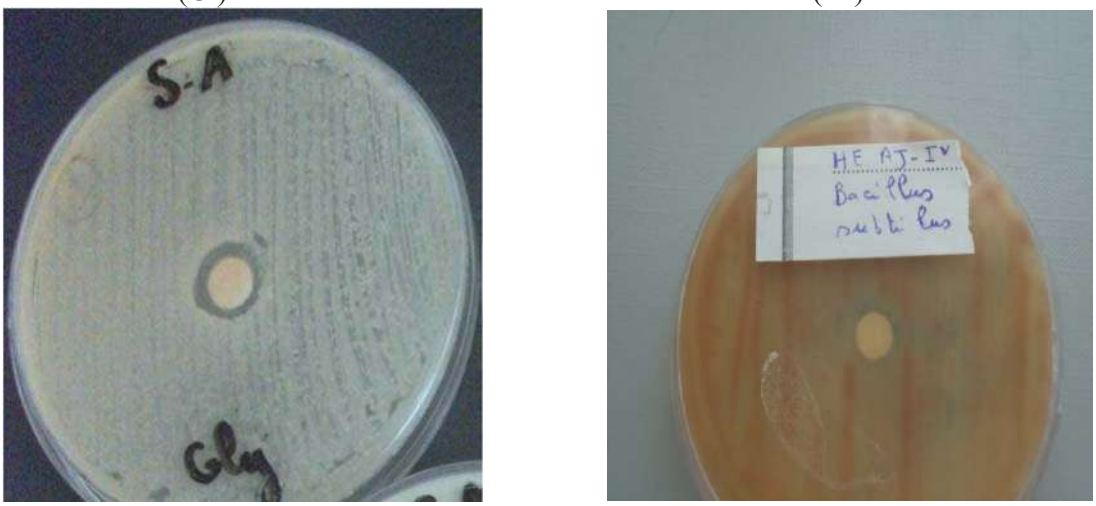



**Figure IV-6 :** Aromatogramme des huile essentielles de

(**A:** *Pistacia lentiscus* L, **B:** *Marrubium vulgare* L , **C:** *Glycyrrhiza glabra* L et D : *Ajuga iva* L).

Les résultats obtenus des diamètres des zones d'inhibition obtenus des extraits aqueux de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L et *Glycyrrhiza glabra* L sont regroupés dans le tableau IV-5.

**Tableau IV-5 :** Résultats des diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux.

| | Diametres des zones d'inhibition (mm) | | | |
|---|---|---|---|---|
| plantes / souches bacteriennes | ***Pistacia lentiscus* L** | ***Marrubium vulgare* L** | ***Glycyrrhiza glabra* L** | ***Ajuga iva L*** |
| *Staphylococcus aureus* | 16 | 15 | --- | 13 |
| *Staphylococcus epidermidis* | 16 | 13 | --- | 11 |
| *Bacillus subtilus* | --- | 14 | --- | 13 |
| *Escherichia coli* | --- | --- | --- | --- |

## b. Discussion

D'après les résultats illustrés dans le tableau IV-4 et IV-5 et si on considère les diamètres des zones d'inhibitions on peut dire que :

- Les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L et *Glycyrrhiza glabra* L obtenues par hydrodistillation sont actives sur les souches : *staphylococcus aureus, staphylococcus epidermidis, bacillus subtilu* et *E. coli*
- L'huile essentielle *Ajuga Iva* L est active sur la souche *Bacillus subtilus*
- Les extraits aqueux de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L et *Ajuga Iva* L sont actives sur les souches : *staphylococcus aureus, staphylococcus epidermidis*

- Les extraits aqueux de *Marrubium vulgare* L et *Ajuga Iva* L sont actives sur la souche *Bacillus subtilus*
- Les extraits aqueux de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L, et *Ajuga Iva* L ne sont pas actives sur la souche *E. coli*-L'etraitx aqeux de *Glycyrrhiza glabra* L n'est pas actives sur les souches ***staphylococcus aureus, staphylococcus epidermidis, bacillus subtilu*** et *E. coli.*
- On peut noter ainsi que les diamètres des zones d'inhibitions des extraits obtenus par hydrodistillation sont plus importants que ceux obtenus pour les extraits aqueux. Cela peut être expliquer d'une part, par la différence des concentrations en composés actifs de divers extraits (les huiles essentielles sont utilisées sous leur forme concentrées) et d'autre part, cette différence peut être expliquer ainsi par le fait que l'activité biologique d'une huile essentielle est en relation directe avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques), la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant.

## IV.4 Étude de l'activité anti-oxydante (détermination du pouvoir réducteur)

Les résultats en densité optique des différents échantillons sont présentés dans le figure IV-8, notons ainsi les densités optiques du témoin et acide ascorbique sont respectivement : 0.21, 2.7.

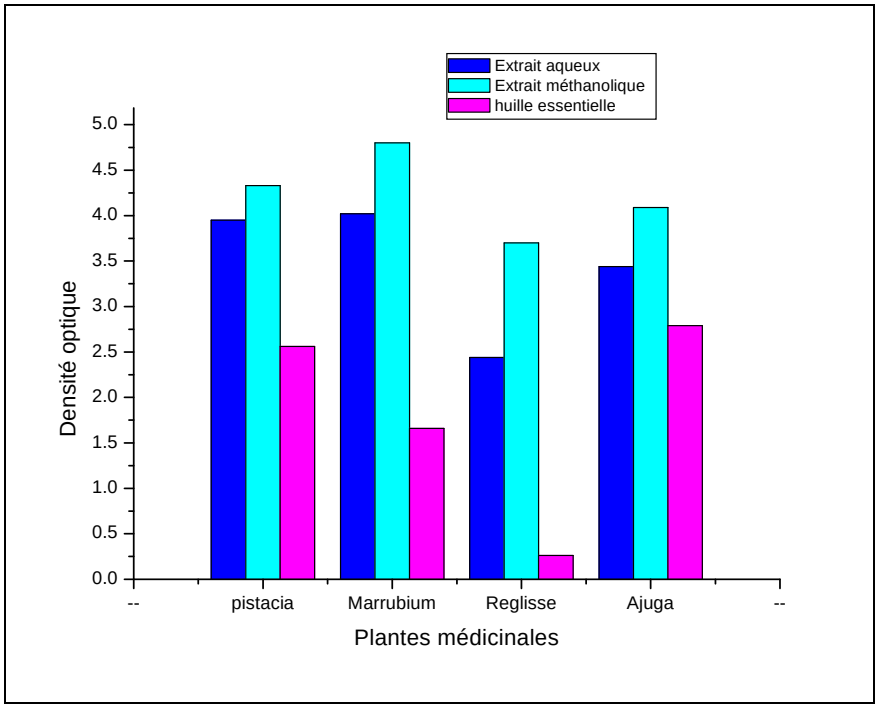
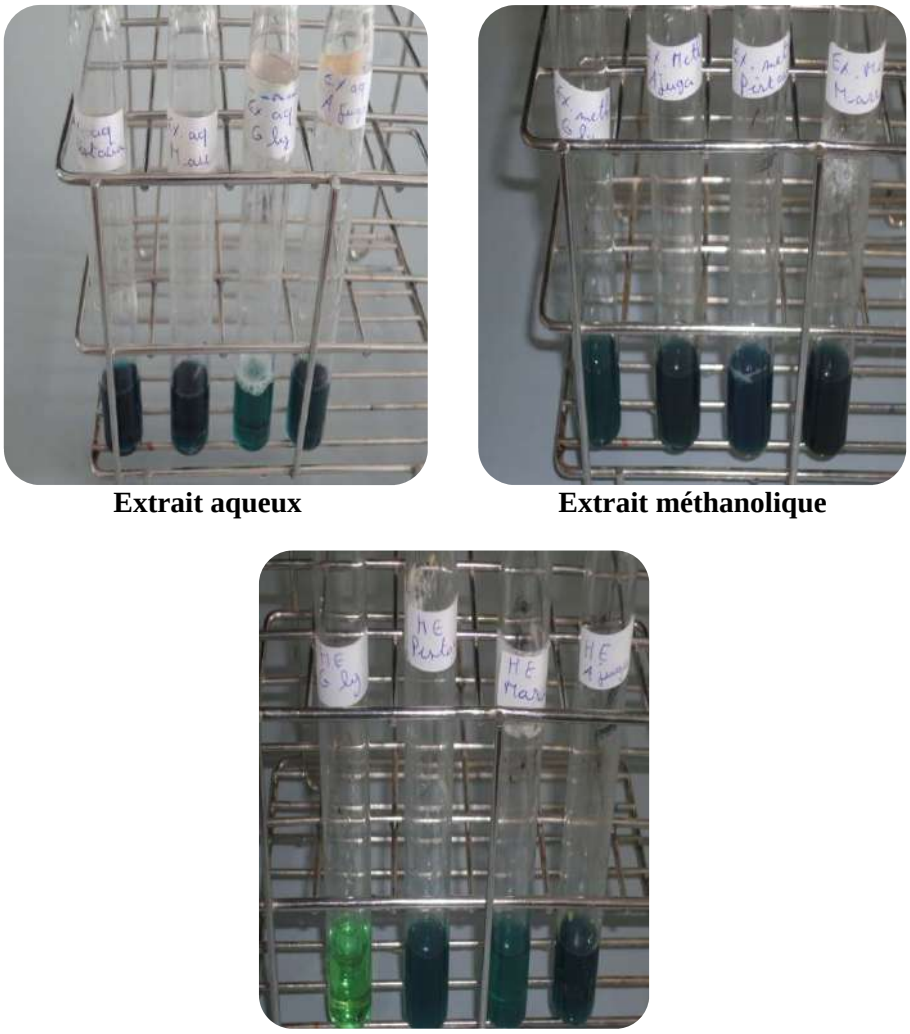



**Figure IV-7:** Pouvoir réducteur des extraits

La présence des réductants dans les extraits des plantes provoque la réduction de $Fe^{3+}$/ complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, $Fe^{2+}$peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700nm **[Chung et al., 2002]**.



**Extrait aqueux** **Extrait méthanolique**

**Huile essentielle**

**Figure IV-8 :** Extraits des quatre plantes avant la lecture.

-L'extrait méthanoïque de quatre plantes donne absorbance supérieure par rapport extrait aqueux et HE.

-L'absorbance de HE de quatre plantes faible par rapport l'extrait méthanoïque et extrait aqueux.

-Les extraits donne l'absorbance supérieure à cette témoin par conséquent les quatre plantes donne une activité réductrice.

-L'activité réductrice de l'extrait méthanoïque et l'extrait aqueux supérieure à celle de l'acide ascorbique.

# *Conclusion générale*

# CONCLUSION GÉNÉRALE

L'industrie des extractions depuis toujours s'est intéressée au rendement et à la qualité des extraits. Ces efforts sont focalisés dans la modification ou le développement des méthodes efficaces de production, de concentration et de purification des extraits aromatiques.

Les huiles essentielles prennent de plus en plus d'importance dans la recherche pharmaceutique, agroalimentaire insecticide et dans divers domaines de la vis moderne.

Au cours de ce travail, on s'est concentré sur l'optimisation du rendement des HE et d'extraits de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L ,*Glycyrrhiza glabra* L et *Ajuga iva* L obtenues par la méthode hydrodistilation .

Un certain nombre de résultats ont été obtenus :

- L'étude quantitative a prouvé que :
  - *Pistacia lentiscus* L donne un rendement en HE élevé par rapport au *Marrubium vulgare* L qui donne un rendement en HE supérieur en comparaison avec *Ajuga iva* L qui a un rendement élève par rapport *Glycyrrhiza glabra L.*
  - Les quatre plantes sélectionnées après séchage donnent un rendement plus élevé par rapport à celui obtenu en utilisant les plantes fraiches.
  - Le rapport pondéral matière végétal/solution conductrice et le rendement en HE est inversement proportionnelle. Plus qu'on diminue ce rapport plus le rendement en HE augmente (un rapport de 3% était le plus rentable).
  - Le broyage des plantes sélectionnées (différents granulométries) augmenté le rendement en utilisant l'hydrodistillation
  - La granulomètrie et le rendement en HE est inversement proportionnelle. Plus qu'on diminue le diametre plus le rendement en HE augmente pour les quatres plantes ($0.63<\Phi<0.1$ mm était plus rentable)
- Des études sur les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles extraites de *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L , *Glycyrrhiza glabra* L et *Ajuga iva* L (pouvoire retatoire ,l'indice d'acide, ,…etc.) ont prouvées que les HE sont conformes.

- Des études de l'effet antibactérien ont montré la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les HE.
- Les extraits a une activité réductrice ; par conséquent la présence des éliments réducteur

# *Références bibliographiques*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES


- **Adjadj. M., 2009,** Propriétés antioxydantes et activité inhibitrice De la xanthine oxydase des extraits de la plante Médicinale *Ajuga Iva* (l.) Schreber, mémoire de magister, Université Mentouri Constantine.
- **Afnor., 2000,** Association française de normalisation, normes français : huile essentielle, ed afnor paris.
- **Bahorun. T., Gressier. B., Trotin. F., Brunete. C., Dine. T., Vasseur. J., Gazin J.C., Pinkas. M., Luycky. M et Gazin. M., 1996,** Oxigen species scavenging activity of phenolic extract from howthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. Arzneim forsh / drug res.1-6.
- **Batanouny K.H., Abou Tabl S., Shabana M. And Soliman F., 1999,** Wild medicinal plants in Egypt. *Academy of scientific research and technology*. International union for Conservation (iucn). Egypt.
- **Belaiche. P., 1979,** L'aromatogramme. Traité De Phytothérapie Et d'aromathérapie. M. S. A. Editeur, Paris. Tome 1, 204.
- **Belfadel F.Z., 2009,** Huile de fruits de *Pistacia Lentiscus*. Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (effet cicatrisant chez le rat), mémoire de magister, Université Mentouri, Constantine.
- **Bellazougui. K., 2000,** Utilisation Des Méthodes Chromatographiques (GC Et HPLC) Et du Couplage GC/MS à l'étude d'HE De Cyprès extraite par hydro distillation, mémoire d'ingéniorat, Centre Universitaire Yahia Fares De Médéa,
- **Ben Jannet. H., Al Mourabit A., Gateau-Olesker A., Marazano C. And Mighri Z. 1999,** Enantio selective synthesis of natural biologically active ivaide a: 1,3-di-(*r*)-â-hydroxyglyceride Glycerol. *Tetrahedron asymmetry* 10, 2381-2386.
- **Bendimerad n., taleb bendiab s. A., breme k., fernandez x.; 2007,** Essential oil composition of aerial parts of *Sinapis Arvensis* l. From Algeria. J. Essent. Oil res., 19, 206-208.
- **Benmerième. L et Bourguig. C., 1996,** Extraction des essences de la sauge officinale, mémoire d'ingéniorat, Université de Blida.
- **Bentley R.Y et Trimen. H., 1980,** Medicinal plants. London, p 68.
- **Billerbeck. G., 2000,** Activité Fongique De l'huile Essentielle De *Cymbopogon Nardus* Sur *l'Aspergillus Niger*. Evaluation d'un Bioréacteur Pour l'étude De l'effet Inhibiteur Des Substances Volatiles En Phase Vapeur. Faculté Des Sciences Pharmaceutiques, Institut National Polytechnique De Toulouse, 236.
- **Biogassendi., 2003,** Http://biogassendi.ifrance.com.
- **Blackeway. J et Salerno M., 1987,** Pour la science. Institut des renseignements scientifiques et techniques, Paris.
- **Bouderbala. S., Lamri-Senhadjia M., Prostb J., Lacaille-Duboisc M.A. and Bouchenak. M. 2008,** Changes in antioxidant defense status in hypercholesterolemic rats treated with *Ajuga iva*. *Phytomedicine*, 453-461.
- **Boukeloua. A., 2009, C**aractérisation botanique et chimique et évaluation pharmaco-toxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia*

*lentiscus l.* (*anac ardiaceae*), mémoire de Magister, Université Mentouri – constantine.

- **Brunetton. J., 1993,** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 3ème Edition, Lavoisier Tec Et Doc, Paris.
- **Clevely. A et Richmond K., 1997,** Plantes et herbes aromatiques : connaitre et préparer, la rousse, paris.
- **Cndp., 2000,** Http://www.cndp.fr/gtd_phychim/pdf/esepc002.pdf
- **Didry. N., Dubreuil. L et Pinkas M., 1993,** Activité Antibactérienne du Thymol, du Carvacrol et de l'Aldehyde Cinnamique Seuls Ou Associés. Pharmacize, 48, 301-304.
- **Duraffourd. c., lapraz j-c., chemli r.; 1997,** La Plante Médicinale De La Tradition A La Science. 1er Congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris, 222.
- **Duru. M.E., Cakir. A., Kordali. S., Zengin. H., Harmadar. M., Izumi. S et Hirata. T., 2003,** Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three pistacia species. Fitoterapia 74, 170
- **Elberling. J et Skov. PS., 2007** Increased release of histamine in patients with respiratory symptoms related to perfume, 676-80.
- **El-rhaffari l., zaid a. ; 2004,** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du maroc (tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et elaboration des pharmacopées savantes, 293- 318.
- **Erika. L, 2001,** Livre des plantes aromatiques et médicinales.
- **Fauchère J.L et Avril J.L., 2002,** Bactériologie générale et médicale: ellipses editions paris, 365.
- **Franchomme P.D et Pénoël., 1990,** Clefs Pour l'aromathérapie. La Molécule Aromatique : Matière, Energie, Information. Limoges.
- **Gardeli. C., Papageorgiou. V., Mallouchos. A., Theodosis. K et Komaitis. M., 2008,** Essential oil composition of pistacia lentiscus l. And myrtus communis l.: evaluation of antioxidant capacity of methalonic extracts. Food chemistry 107, 1120
- **Gattefossé R.M., 1938,** Antiseptiques essentiels, publie en nutra news sciences, nutrition, prévention et santé.
- **Ghedira K., Chemli R., Richard B., Zeches M. And Le-Men-Olivier L. 1991,** Contribution A L'étude de La Pharmacopée Traditionnelle de Tunisie: Etude des Parties Aériennes d'*Ajuga Iva* (L.) Schreb. *Plantes Medicinales Et Phytotherapie* **25**, 100-111.
- **Halimi., 2004,** Les Plantes Médicinales En Algérie. 1ère Edition. *BERTI Editions*, Alger. Pp: 156-157.
- **Hennebelle. T et al., 2007,** Phenolic compounds and diterpenoids from *Marrubium Peregrinum*, biochemical systematics and ecology, 35.624-626.
- **Hermal. C., 1993,** Activité Bactériostatique De Sept Emulsions d'huiles Essentielles Et De Deux Associations d'émulsions d'huiles Essentielles. Faculté De Pharmacie, Université De Montpellier
- **Hubert., 2006,** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voix de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat à l'Institut Nationale Polytechnique de Toulouse, Ecole doctorale des Sciences

Ecologiques, Vétérinaires ; agronomiques et Bioingénieries.

- **Iauk. L., Ragusa. S., Rapisarda. A., Franco. S et Nicolosi. V.M., 1996,** In vitro antimicrobial activity of pistacia lentiscus l. Extracts: preliminary report. Journal of chemotherapy 8, 207-209.
- **Iserin., 2001,** Encyclopédie des plantes médicinales.
- **Kameoka. H et Nakai K., 1987,** Components of essential oil from the root of glycyrrhiza glabra. Nippon nogeikagaku kaishi [j ag chem soc japan], 61: 1119 –1121.
- **Khoudja. A., 1997,** Cours de module chimie industrielle, Université de Blida.
- **Kivçak. B et Akay. S., 2005,** Quantitative determination of Tocopherol in *pistacia lentiscus*, *pistacia lentiscus* var. Chia, and pistacia terebinthus by tlc-densitometry and colorimetry, fitoterapia 76, 62-66.
- **Kordali. S., Cakir. A., Zengin. H et Duru M.E., 20003,** Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in turkey. Fitoterapia 74, 164.
- **Lacroix. M et Caillet. S., 2007,** Recherche En Sciences Appliquées a l'alimentation, P.1-3, France.
- **Lahlou. M., 2004,** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy research, 18, 435-448.
- **Leprieur. M., 1860,** Journal De Médecine, Chirurgie Et De Pharmacie, 3éme Volume, Publié Par La Société De Science Médicale Et Naturelle De Bruscelles, P. 614-615.
- **Lev. E et Amar. Z., 2000,** Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in the kingdom of jordan ». Journal of ethnopharmacology 82, 131-145.
- **Lucchesi M.E., 2005,** Extraction Sans Solvant Assistée Par Micro-Ondes, Conception Et Application A l'extraction Des Huiles Essentielles, Thèse de Doctorat, Université De La Réunion, Faculté Des Sciences Et Technologies.
- **Magiatis. P., Melliou. E., Skaltsounis A.L., Chinou I.B et Mitaku. S., 1999,** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. Chia. Planta med ». 65, 749-751.
- **Mann C.M., Markham J.L., 1998,** A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. Journal of applied microbiology, 84, 538-544.
- **Meynadier J. M et Raison-Peyron N., 1997,** Allergie aux parfums. Re. Fr. Allergol. 641- 650.
- **Meyre-Silva. C., Yunes R.A., Schlemper. V., Campos-Buzzi. F et Cechinel-Filho. V., 2005,** Analgesic potential of marrubiin derivatives, a bioactive diterpene presentin marrubium vulgare (lamiaceae) », 321–326, 2005.
- **Miething. H., Speicher-Brinker. A et Neolicuroside. A., 1989,** New chalcone glycoside from the roots of *glycyrrhiza glabra*. Arch pharm (weinheim), 322: 141 –143. 4.
- **Mitscher L. A et al., 1980,** Antimicrobial agents from higher plants. Antimicrobial isoflavanoids and related substances from *glycyrrhiza glabra* l. Var. Typica . J nat prod 43: 259–269.
- **More. D et White. J., 2005,** Encyclopédie des arbres plus de 1800 espèces et variétés du monde, flammarion, pp 18; 797.
- **Nostro. A., Germanò M.P., D'Angelo. V., Marino. A et Cannatelli M.A., 2000,** Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity ». Letters en microbiologie appliquée 30, 379.

- **Ouelmouhoub. S., 2005,** Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du parc national d'el kala (Algérie).
- **Palevitch. D et Yaniv. Z., 2000,** Medicinal plants of the holy land. Modan publishing house, tel aviv, istrael.
- **Papachristos D.P., Stamopoulos D.C., 2002,** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on acanthoscelidesobtechus (say) (coleopterabruchidae). Journal of stored products research 38, 117-128.
- **Papachristos D.P et Stamopoulos D.C., 2002,** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on acanthoscelidesobtechus (say) (coleopterabruchidae). Journal of stored products research 38, 117-128.
- **Paraschos. S., Magiatis. P., Mitaku. S., Petraki. K., Kaliaropoulos. A., Maragoudakis. P., Mentis. A., Sgouras. D and Skaltsounis A.L., 2007,** In vitro and in vivo activity of chios mastic gum extracts and constituents against helicobacter pylori. Antimicrob. Agents chemother, 51, 551-559.
- **Parf cosmet, 1983,** 2- IX$^{ème}$ congrès international des huiles essentielles de Singapour, arômes, 53, 63-73.
- **Parthasarathy V.A et Chempakam. B., 2008,** Chemistry of spices, Edition CABI North American Office, USA.
- **Pharmaceutical Press., 2007,** *Glycyrrhiza glabra* liquorice. Page de barnes-herbal medicines.
- **Pharmaceutical Press., 2007,** Horehound white *Marrubium Vulgare* page de barnes-herbal medicines.
- **Rezazi. S et Bouziani. S., 2008,** Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *lepidum sativum*, évaluation d'aromatogramme, microatmosphère, l'activité hypotensive et hypoglycémiante, mémoire d'ingéniorat. Centre universitaire de Médéa.
- **Richard. H et Multon J.I., 1992,** Les arômes alimentaires. Edition ter et tor movoisir.
- **Rivera L.L., 2006,** Etude De l'extraction De Métabolites Secondaires De Différentes Matières
- **Romani. A., pinelli. P., galardi. C., mulinacci. N., 2002,** Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *pistacia lentiscus* l. phytochemical analysis 13, 79-86.
- **Rouessac. F et Rouessac. A., 1995,** Analyse chimique : « méthodes et techniques instrumentales modernes ». Ed. Masson, paris.
- **Said. O, Khalil. K, Fluder. S and Azaizeh. H, 2002,** Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the west bank region. Journal of ethnopharmacology 83, 251-265.
- **Sanz M.J, Terencio M.C et Paya. M, 1992,** Isolation and hypotensive activity of a polymeric procyanidin fraction from *Pistacia Lentiscus* l. Pharmacies 47, 466-471.
- **Sarbach. R., 1962,** Contribution A l'étude De La Désinfection Chimique des Atmospheres. Faculté De Pharmacie, Université De Rennes, 181.
- **Scherrer A.M., Motti. R and Weckeerie C.S., 2005,** Traditional plant use in the areas of montevesole and ascea, cilento national park (compania, southern italy). Journal of ethnopharmacology 97, 129-143.

- **Seguin. E., Axel. G., Michel. P et Orecchioni. A., 2001,** Le préparateur en pharmacie dossier 2, p : 108 ,143-206.
- **Skoog D.A et al., 2003**, « Principes d'analyse Instrumentale », 1ére Edition De Boeck Université, 945.
- **Smith M.D and Navilliat P.L., 1997,** a new protocol for antimicrobial testing of oils. Journal of microbiological methods, 28, 21-24.
- **Tawata. M et al., 1990,** Anti-platelet action of gu-7, a 3-*arylcoumarin* derivative, purified from *glycyrrhizae* radix. 56: 259–263.
- **Tranchant. J., 1995,** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, ed. Masson, paris.
- **Tsitsilonis. O., Heilmann. J etskaltsa., H 2007,** Cytotoxicity and immunomodulating**.,** Characteristics of labdane diterpenes from *Marrubium Cylleneum* and *Marrubium Velutinum* », phytochemistry, 68
- **Willem J.P, 2004,** Les Huiles Essentielles, Médecine d'avenir, 318p.
- **Zaika. L., 1988,** Spices and herbs, their antimicrobial activity and its dermination. Journal of food safety.

**DEDICACE**

*Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents qui m'ont soutenu et encouragé durant toute la période de mes études et à qui je souhaite une long et heureuse vie, que dieu les protège et me donne la force pour que je puisse leur rende* un petit peu de leur bienfait et de leur bonté

A mes très chers sœurs : Bouchra, Omayma et Leila.

A mon très cher frère : Ahmed et sa fiancée Lamia

A toute la famille Omari et Bengharbia.

A mes sincères amies : Meriem, Karima, Leila, Ihsen,Hadjar , Imen, Fella, Asma et Selma.

Et enfin, à touts ceux qui m'aiment.

Amina.

# DEDICACE

*Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents qui m'ont soutenu et encouragé durant toute la période de mes études et à qui je souhaite une long et heureuse vie, que dieu les protège et me donne la force pour que je puisse leur rende* un petit peu de leur bienfait et de leur bonté

A ma très cher sœur :Manel

A mes très chers frères :Mouhamed et Mouad

A toute la famille MOULAI MOSTEFA ET ELBERKANI.

A mes sincères amies : Meriem, Karima, Leila, Ihsen,Hadjar , Imen, Fella, Asma et Selma.

Et enfin, à touts ceux qui m'aiment.

Touba.

**ملخص**

في هذا البحث قمنا باستخلاص الزيوت الطيارة لأربعة أنواع من النباتات الطبية (الضرو,المريوت,عرق السوس والشندقورة) باستعمال تقنية التقطير المائي. تمت دراسة تأثير عوامل مختلفة على نسبة الاستخلاص مثل: تجفيف و سحق النبتة ,النسبة بين كمية النبتة والحجم المذيب بهدف تحديد الشروط التجريبية المواتية للحصول على مردود عالي لكل نموذج تجريبي بنسب مختلفة مثل (تجفيف نبتة الضرو اعلى مردود 0.119%,القطر الذي يعطي اكبر مردود هو$< 0.1$ $0.63 < \Phi$بالنسبة اربعة نبتات مثلا الشندقورة 0.045% اعلى مردود) و قد مكننا هذا العمل من الحصول على زيوت طيارة و مستخلصات الضرو .المريوت ,عرق السوس و الشندقورة بنسب مختلفة مثل التي أخضعت إلى تحاليل الفيزيوكيميائية و في الأخير تم تقييم اثر الزيوت الطيارة الأربعة على البكتريا بواسطة تقنية الأروماتوغرام وتحديد النشاط المضاد للتأكسد للمستخلصات المتحصل عليها.

**كلمات المفتاح :**الضرو، المريوت، عرق السوس، الزيوت الطيارة, التقطير المائي, الأروماتوغرام, مضادات الأكسدة.

***Résumé***

Dans ce présent travail, un procédé d'extraction (l'hydrodistillation) a été réalisé sur quatre plantes médicinales (*Pistacia lentiscus* L*, Marrubium vulgare* L*, Glycyrrhiza glabra* L, *Ajuga iva* L), appartenant à la flore Algérienne. L'influence de divers paramètres liés à la matière végétale et aux procédés d'extraction : le séchage et le broyage (déférents diamètres) de la matière végétale, le rapport entre la quantité de la matière végétale et le volume du solvant, sur le rendement d'extraction a été étudiée pour déterminer les conditions opératoires favorables à la réalisation d'un processus d'extraction à rendement élevé (le séchage de *Pistacia lentiscus* L a donné un rendement de l'ordre de 0.119%, le diamètre qui donne le rendement le plus élevé est : $0.63<\Phi<0.1$ pour les quatre plantes : 0.045% pour *Ajuga Iva* L,). Ces travaux ont permis l'obtention des huiles essentielles et d'extraits de *Pistacia lentiscus L, Marrubium vulgare L, Glycyrrhiza glabra L et Ajuga iva L* qui ont été par la suite soumises à une caractérisation par des analyses physico-chimiques. En outre, l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits a été déterminée par la technique d'aromatogramme et de frappe respectivement.

**Mots clés:** *Pistacia lentiscus* L*, Marrubium vulgare* L*, Glycyrrhiza glabra* L,*Ajuga iva* L les huiles essentielles hydrodistillation, , aromatogramme, effet antioxydant.

***Abstract***

In the present work, a process of extraction (hydro-distillation) was performed on four medicinal plants (*Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare*, L Glycyrrhiza glabra L, *Ajuga iva* L), belonging to the flora of Algeria. The effect of various parameters related to plant material and extraction process such as: drying and grinding (various diameters) of the plant material, the ratio between the amount of plant material and the volume of solvent on the extraction yield was studied to determine favorable operating conditions to obtain a high yield extraction process (The drying *of Pistacia lentiscus* L give the high yield: 0.119% and the optimal diameter was $0.63 <\Phi <0.1$ witch give for example for *Ajuga iva* L plant an yield about 0.045%) . Those works allowed obtaining essential oils and extracts of *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare* L, *Glycyrrhiza glabra,* L and *Ajuga iva* L which were subsequently subjected to characterization by physico-chemical analysis in addition, antioxidant and antimicrobial activity of the several essential oils and the extract was determined by techniques aromatogramme

**Keywords:** *Pistacia lentiscus* L, *Marrubium vulgare*, L *Glycyrrhiza glabra* L, *Ajuga iva* L, essential oil, hydro-distillation, aromatogram.

# Table des matières

page

Table des matières……... i
Liste des figures…….. iv
Liste des tableaux…… vi
Liste des acronymes…… vii
Nomenclature et symboles…….. vii
**Introduction générale**…….. 01

**Première partie : Étude Bibliographique**

***Chapitre 1 : Étude bibliographique***

I.1 Introduction…….. 05
I.2 Étude bibliographique……... 05
I.2.1. Étude botanique ……... 05
I.2.2. Taxonomie …….. 08
I.2.3. Répartition géographique…… . 08
I.2.4. Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques …… 10
I.2.5. Etude chimique……. 12
I.3 Conclusion …….. 16

***Chapitre II : Les huiles essentielle***

II.1 Introduction……. 18
II.2 Présentation des huiles essentielles (HE)…… 18
II.2.1 Rôle des huiles essentielles…….. 18
II.2.2 Composition des huiles essentielles……. 18
II.2.2.1 Composés terpéniques……... 19
II.2.2.2 Composés aromatiques…….. 19
II.2.2.3 Composés d'origine diverse…….. 19
II.2.3 Propriétés des huiles essentielles……. 20
II.2.3.1 Propriétés physico-chimiques…… 20
II.2.3.2 Propriétés biologiques……... 20
II.2.3.3 Propriétés pharmacologiques…… 20
II.2.4 Biochimie des huiles essentielles…….. 20
II.2.4.1 Apparitions des huiles essentielles dans les plantes……... 20
II.2.4.2 Fonction biologique des huiles essentielles…… 21
II.2.5 Mode d'utilisation des huiles essentielles……. 21
II.2.5.1 Par voie orale……... 21
II.2.5.2 Par voie rectale…… 21

II.2.5.3 Par voie cutanée……... 21
II.3 Extraction des huiles essentielles……..... 21
II.3.1 Définition…… 21
II.3.2 Procédés d'extractions…… 22
II.3.2.1 La distillation…… 22
II.3.2.2 Extraction par solvants organiques…… 25
II.3.2.3 Extraction par $CO_2$ supercritique……... 26
II.4 Caractérisation et analyse des huiles essentielles…….. 27
II.4.1 Caractérisation des huiles essentielles……. 27
II.4.1.1 Caractéristiques organoleptiques…….. 27
II.4.1.2 Caractéristiques physiques……... 27
II.4.1.3 Caractéristiques chimiques…… 27
II.4.2 Analyse des huiles essentielles par les méthodes chromatographiques…… 28
II.4.2.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)…… 28
II.4.2.2 Chromatographie liquide à hautes performances (HPLC)……. 28
II.4.2.3 Chromatographie sur couche mince (CCM)…….. 29
II.5 Pouvoir antibactérien des huiles essentielles……. 29
II.5.1 Bactéricide et Bactériostase…… 30
II.5.2 Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne…….. 30
II.5.2.1 Aromatogramme…….. 31
II.5.2.1.1 Intérêt d'aromatogramme…….. 31
II.5.2.1.2 Technique d'aromatogramme…… 31
II.5.2.2 Microatmosphère…… 32
II.6 Conclusion…… 33

**Deuxième partie : Étude Expérimentale**

***Chapitre III : Matériel et Méthodes***

III.1 Matériel végétal…… 36
III.1.1 Récolte des plantes……... 36
III.1.2 Conservation des plantes……. 37
III.2 Procédés d'extraction des huiles essentielles…….. 37
III.2.1 Extraction par Hydrodistillation…….. 37
III.2.1.1 Optimisation du rendement de l'extraction par hydrodistillation…. 38
III.2.1.1.1 Effet de séchage…… 38
III.2.1.1.2 Effet du rapport pondéral…….. 39
III.2.1.1.3 Effet du broyage…… 40
III.3 Caractérisation et Analyse des huiles essentielles…….. 40
III.3.1 Caractérisation des huiles essentielles……..... 40
III.3.1.1Caractéristiques physiques des huiles essentielles……... 41
III.3.1.2 Caractéristiques chimiques des huiles essentielle……... 42
III.4 Activité antibactérienne ……. 43
III.4.1 Préparation des milieux de cultures……. 44
III.4.2 Réalisation d'aromatogramme……. 44

III-5- Étude de l'activité anti-oxydante (détermination du pouvoir)……... 45
III-5-1 Les solutions testés……. 45
III-5-2 But ……. 45
III-5-3 Principe ……. 45
III-5-4 le protocol:……. 46
***Chapitre IV : Résultats et discussion***
IV.1 Rendement en huile essentielle…… 49
IV.1.1 Hydrodistillation classique…… 49
IV.1.1.1 Effet de séchage……. 49
IV.1.1.2 Effet du rapport pondéral…….. 50
IV.1.1.3 Effet du broyage…… 52
IV.2 Caractérisation et Analyse des huiles essentielles……. 53
IV.2.1. Caractéristiques organoleptiques…… 53
IV.2.2 Caractéristiques physiques des huiles essentielles…….. 54
IV.2.3 Caractéristiques chimiques des huiles essentielles ……. 55
IV.3 Activité antibactérienne des huiles essentielles ……. 55
IV.4 Étude de l'activité anti-oxydante (détermination du pouvoir réducteur)….. 57
**Conclusion générale……** 61
**Références bibliographiques……** 63

# Liste des figures


| | | |
|---|---|---|
| **LISTE DES FIGURES DU CHAPITRE I** | | |
| **Figure I-1** | Plante de *Pistacia lentiscus* L | 05 |
| **Figure I-2** | Distribution géographique de genre *Pistacia*. | 09 |
| **Figure I-3** | Structures chimiques des glycosides de flavanol dans les Feuilles de *Pistacia lentiscus* L | 13 |
| **Figure I-4** | Structure chimique de quelques constituants dès différentes parties de *Marrubium vulgare* L | 14 |
| **Figure I-5** | Structure chimique de quelques constituants des différentes parties de *Ajuga iva* L | 16 |
| **LISTE DES FIGURES DU CHAPITRE II** | | |
| **Figure II-1** | Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau | 23 |
| **Figure II-2** | Montage de l'hydrodistillation simple. | 24 |
| **Figure II-3** | Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite. | 24 |
| **Figure II-4** | Montage de Soxhlet. | 25 |
| **Figure II-5** | Schéma du système d'extraction par CO2 supercritique. | 26 |
| **Figure II-6** | Appareil de CPG, muni d'un détecteur à ionisation de flamme. | 28 |
| **Figure II-7** | Principe de fonctionnement de l'HPLC. | 29 |
| **Figure II-8** | Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri. | 32 |
| **Figure II-9** | Illustration de la méthode des micro atmosphères | 32 |
| **LISTE DES FIGURES DU CHAPITRE III** | | |
| **Figure III-1** | Les quatre plantes utilisées dans l'extraction des huiles essentielles (A: *Pistacia lentiscus* L, B: *Marrubium vulgare* L, C: *Glycyrrhiza glabra* L,D:*Ajuga iva* L). | 36 |
| **FigureIII-2** | Montage d'hydrodistillation. | 37 |
| **Figure III-3** | Refractomètre. | 41 |
| **FigureIII-4** | Appareil de lecture des diamètres d'inhibitions (FICHER LILIY). | 45 |
| **Figure III-5** | Protocole d'étude d'activité antioxydant | 46 |
| **LISTE DES FIGURES DU CHAPITRE IV** | | |
| **Figure IV-1** | Effet de séchage sur le rendement obtenu par HD de quatre plantes médicinales. | 50 |
| **Figure IV-2** | Effet du rapport pondéral sur le rendement obtenu par HD de quatre plantes médicinales | 51 |
| **Figure IV-3** | Effet de broyage sur le rendement en obtenu par HD de quatre plantes médicinales | 53 |

| | | |
|---|---|---|
| **Figure IV-4** | Effet de granulométrie sur le rendement | 54 |
| **Figure IV-5** | HE extraite par HD de des quatre plantes médicinales. | 55 |
| **Figure IV-6** | Aromatogramme des huiles essentielles de (A: *Pistacia lentiscus* L, B: *Marrubium vulgare* L, C: *Glycyrrhiza glabra* L ,D :*Ajuga iva* L). | 57 |
| **Figure IV-7** | Pouvoir réducteur des extraits | 58 |
| **Figure IV-8** | Les extraits de quatre plantes avant la lecture. | 59 |

# Liste des tableaux


| | | |
|---|---|---|
| **LISTE DES TABLEAUX DU CHAPITRE I** | | |
| **Tableau I-1** | Taxonomie des quatre plantes | 08 |
| **Tableau I-2** | Structure chimique de quelques constituants des différentes parties de *Glycyrrhiza glabra* L | 15 |
| **LISTE DES TABLEAUX DU CHAPITRE II** | | |
| **Tableau II-1** | Apparitions des huiles essentielles dans les plantes | 21 |
| **Tableau II-2** | Caractérisation des huiles essentielles | 27 |
| **LISTE DES TABLEAUX DU CHAPITRE III** | | |
| **Tableau III-1** | Organes végétaux destinés pour l'extraction. | 37 |
| **Tableau III-2** | Les matériels utilisés pour l'extraction | 38 |
| **Tableau III-3** | Propriétés des souches bactériennes utilisées | 43 |
| **LISTE DES TABLEAUX DU CHAPITRE IV** | | |
| **Tableau IV-1** | Caractéristiques organoleptiques de L'HE extraite par hydrodistillation des quatre plantes médicinales | 54 |
| **Tableau IV-2** | Résultats de la densité relative et d'indice de réfraction. | 55 |
| **Tableau IV-3** | Résultats d'indice d'acide. | 55 |
| **Tableau IV-4** | Résultats des diamètres des zones d'inhibition des HE des quatre plantes médicinales | 56 |
| **Tableau IV-5** | Résultats des diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux des quatre plantes médicinales | 57 |

# Liste des Acronymes

| Acronyme | Signification |
|---|---|
| **AFNOR** | Association Française de Normalisation. |
| **ATCC** | American Type Collective Cultures |
| **CCM** | Chromatographie sur Couche Mince |
| **CMI** | Concentration Minimale Inhibitrice |
| **CPG** | Chromatographie en Phase Gazeuse |
| **HD** | Hydroditillation |
| **HE** | Huile essentielle |
| **HPLC** | Chromatographie Liquide à hautes performances |
| **IR** | Infra Rouge |
| **ISO** | Organisation de Standardisation Internationale. |
| **PAM** | Plantes Aromatiques et Médicinales |