République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de MEDEA

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie des Procédés et Environnement

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de master en chimie

Option : Norme et Contrôle de Qualité

Thème

Etude de pouvoir antioxydant et antimicrobien des huiles essentielles de quelques plantes médicinales, cas de :

Ruta Chalepensis et Cuminum Cyminum

Présentée par :

M^{elle} : AZIZI Meriem

M^{elle} : OULDDALI Zineb

Promoteur **Pr KREA. M**

Co-promoteur **M^{me} MEGATELI. S**

Année universitaire 2014-2015.

REMERCIEMENT

En premier lieu, nous tenons à remercier notre Allah, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.

Ma profonde et respectueuse reconnaissance à notre promoteur Pr Krea Mohamed et notre co-promotrice Mme Megatlei Sarah

pour ses précieuses aides et la patience dont elle a preuve à mon égard et pour ses conseils avisés malgré ses lourdes responsabilités.

Nous remercions également les jurées pour le temps et l'effort consacré pour évaluer et examiner notre travail.Je vous remercie surtout pour votre entretien, vos conseils ainsi que vos précieuses discussions

Nous remercions vivement tous les membres de laboratoire de contrôle et inspection de la filliale Anti-bioticale de Médéa .

Également les membres de laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Mohamed Boudiaf, et laboratoire d'Hygiène de Médéa

En plus les membres de laboratoire d'hygiène de la direction de santé et population

Mes profonds remerciements s'adressent à toutes personnes qui m'ont rendu les choses faciles pour aboutir à mon projet, et plus particulièrement à tous mes enseignants qui m'ont encadré durant ma formation à l'université de Médéa

Dédicace

Aceux qui sont les plus chers au monde, nos parents que Dieu protège

Pour votre soutien dans les moments difficiles.

Leurs fiertés à nos Égards aujourd'hui sont pour nous la meilleure des récompenses. A ma meilleure amie et sœur Meriem

pour vos encouragement et soutien, je t'exprime tous mes souhaits de succès.

A mes oncles

Pour votre soutien et encouragement durant ces longues années

A mes adorables sœurs : Hadjer, Ibtissem et kaouther

Je vous exprime ici, toute mon affection et mes souhaits de succès.

A mon frère Toufik et mon fiancé Hamza

Que ALLAH vous protège

Atous mes cousins et cousines

Àtous les membres de ma famille maternelle et paternelle,
Que Dieu leur préserve bonne santé et longue vie.

A toute la promotion de norme et contrôle de qualité 2014-2015

ZINEB

Dédicace

Au nom de Allah celui qui fait miséricorde le miséricordieux
Grâce à l'aide du dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je tiens à dédier :

- *A ma très chère* ***mère****qui s'est sacrifiée pour nous permettre de nous consacrer entièrement à nos études.*

- *A celui qui m'a offert la clé de la réussite sur un plat d'or et qui ne cesse de donner sans recevoir, mon très cher* ***père****. L'exemple de sa vie pleine d'abnégation et de travail et pour moi le meilleur guide de l'honneur et du devoir, dont je suis très fière. Que Dieu nous le garde.*

- *A ceux qui ont été la chandelle qui m'a éclairé le chemin tout au long de ma vie et à qui j'ai une immense dette de gratitude, mes aimables* ***sœurs*** *et* ***frère*** *: Que je les remercie énormément leur tendresse, leur affection, leur soutien illimité et leur encouragement indéfectible. Que Dieu les protège.*

- *A toute ma famille et à tous mes amis.*

- *A tous les gens qui m'ont aidé à la réalisation de ce modeste travail de près ou de loin.*
- *A toute la promotion 2014/2015.*

Meriem

Liste des abréviations

° : degré

°c : degré Celsius

ADN : acide désoxyribonucléique

AFNOR : Association française de normalisation

AH : capteur les radicaux libres

AMP : ampicilline

AMPC : adénosinémonphasphate cyclique

BHA : butylkydroxynisol

BHT : butylhydroxytouène

C.P.C : coprocultures

CMB : concentration minimale bactéricide ou bactériostatique

CMI : concentration minimale inhibitrice

Cpc : coprocultures

CPG : chromatographie en pahse gazeuse

CR : crachats

CTX :cefotaxime

CUPRIC: cupric ion reducing antioxidant capacity

DMH: 1,2diméthyl hydrazine

DPPH: one, 1-diphenyl-2-picrylhydrozyl

E.C.B.U : examen cytobactériologique des urines

ED : eau distillée

EDTA: ethylene diamine tetra acetate

FOX : cefoxitine

FRAP ferric reducing antioxidant power

GN :gentamycine

Gr : gramme

GSH-Px: glutathione peroxidase

H: hydrogene

H_2O_2: eau oxygéné

HAT: hydrogen atom transfer

HD : hydrodistillation

HDF : distillation par hydro diffusion

HE : huile essentielle

IC_{50} : concentration inhibitrice médiane

LPS : lipo polysaccharide

M : masse

Min : minute

Ml : millimètre

mm : millimètre

NaCl : chloride de sodium

NCCLS : National commitee for clinical loboratory standars

NO : monoxyde d'azote

OMS : ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE

PA : pus d'abcès

PG : gallate de propyle

Qj : energie thermique

RO : radical alkoxyde

ROO : radical peroxyle

ROS : espèce réactive de l'oxygène

S.B : sécrétions bronchiques

SB : sécrétions bronchiques

SDE : multaneous distillation extraction

SET : single electron transfer

SOD : superoxydase dismutase

TEC_{50} : temps d'équilibre à la concentration inhibitrice médiane

UV : ultra-violet

We : energie electrique

ملخص

يهدف عملنا إلى دراسة الأنشطة البيولوجية للزيوت الطيارة لاثنين من النباتات الطبية الفيجلو الكمون التي تم الحصول عليها بطريقتين للاستخلاص:التقطير بالبخار الكلاسيكي والحث المغناطيسي. حيث أظهرت هذه الأخيرة فعالية من حيث المردود بقيمة 3.09% و2.64% بالنسبة للتقطير المائي الكلاسيكي 1.66 و 2.50% لنبات الكمون و الفيجل على التوالي.اظهر النشاط المضاد للبكتيريا أن زيت الكمون المتحصل عليه بالطريقتين للاستخراج فعال ضد كل السلالات البكتيرية المختبرة. من ناحية أخرى، النشاط المضاد للأكسدة بطريقة DPPH، يظهر أن زيت الكمون يعطي تثبيط بنسبة 70.84، و 69.60 و 83.67%في حالة التقطير المائي الكلاسيكي والحث المغناطيسي والحث المغناطيسي مع كلوريد الصوديوم على التوالي مقارنة بزيت الفيجل، الذي يعطي نسبة تثبيطأقل تقدر ب 30.62، 26.90 و50.58%.

الكلما ت الرئيسية:الفيجل، الكمون،التقطير المائي ، الحث المغناطيسي، النشاطالمضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة

Résumé

Notre travail a porté sur l'étude des activités biologiques des huiles essentielles de deux plantes médicinales *Ruta chalepensis* L et *Cuminum cyminum* obtenues par deux modes de chauffage, hydrodistillation classique et induction magnétique. Cette dernière a montré une efficacité en termes de rendement de 2,06% et 3,09% par rapport à l'hydro-distillation classique avec un rendement 1,66 % et 2,50% pour les graines de cumin et *Ruta chalepensis* respectivement. L'étude de l'activité antibactérienne a montré que l'HE du cumin obtenue par les deux méthodes d'extraction est active sur la totalité des souches bactériennes testées : *Klebsiella pneumonae*, *Pseudomonas aeruginosa,Staphylococcus aureus, Acinétobacterspp, Esherichia coli, Entérobacters*pet *Proteus mirabilis*, et celle du *Ruta chalepensis* qui se montre active que sur *Staphylococcus aureus*. D'autre part, l'activité anti-oxydante a été déterminée par la méthode de DPPH qui montre que le Cumin donne un taux d'inhibition allant jusqu'à 70,84%, 69,60% et 83,67% pour l'hydro-distillation classique, l'induction magnétique et l'induction magnétique avec NaCl respectivement. Celle de l'HE du *Ruta chalepensis*, adonné des taux plus faibles de 30,62%, 26,90 % et 50,58%.

Mots clés : *Ruta chalepensis*, *Cuminum cyminum*, induction magnétique, hydrodistillation, activités antibactérienne, activité anti-oxydante.

Abstract

Our work has focused on the study of the biological activities of essential oils (EO) of two medicinal plants *Ruta chalepensis L* and *Cuminum cyminum* obtained by two extraction methods, conventional hydrodistillation and magnetic induction. This last has shown efficiency in extraction yield of 2.06% and 3.09% compared with the classical hydro-distillation which give a yield of 1.66 % and 2.50% for the cumin seeds and *Ruta chalepensis* respectively. The antibacterial activity studies have shown that essential of cumin obtained by the two extractionmethods is active on all tested bacterial strains: *Enterobacterpneumonae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus, Acinetobacter spp., Esherichia coli, Enterobacter SP.* and *Proteus mirabilis*. And that of the *Ruta chalepensis*was active only on *Staphylococcus aureus*. On the other hand, the antioxidant activity was determined by the DPPH method and shows that the Cumin gives a rate of inhibition up 70.84%, 69.60 % and 83.67% for the classic hydro-distillation, magnetic induction and magnetic induction with NaCl respectively. however EO of *Ruta chalepensis*, shows less rates 30.62%, 26.90, 50%and 58 %for the classic hydro-distillation, magnetic induction and magnetic induction with NaCl respectively.

Keywords: *Ruta chalepensis*, *Cumininum cyminum*, Hydrodistillation, magnetic induction, antibacterial activity, antioxidant activity.

SOMMAIRE

Introduction générale **.....1**

Chapitre I :Les huiles essentielles et leurs méthodes d'extraction

I.1. Introduction 3

I.2. Définition 3

I.3. Etat naturel et rôle dans la plante 4

I.3.1. Répartition botanique……...4

I.3.2. Localisation……..4

I.3.3. Rôle dans la plante……...5

I.4. Caractéristiques physicochimiques des HE.....6

I.4.1. Caractéristiques physiques……...6

I.4.2. Composition chimique…….7

I.4.2.1. Terpénoïdes 7

I.4.2.2. Les monoterpènes.....7

I.4.2.3. Les sesquiterpènes.....8

I.4.2.4. Les composés aromatiques.....10

I.4.2.5. Divers 10

I.5. Facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles.....10

I.6. Le chémotype 11

I.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles 11

I.7.1. Dans le domaine thérapeutique……..11

I.7.2. En parfumerie et cosmétologie……...12

I.7.3. En pharmacie……..12

I.7.4. Dans les industries agro-alimentaires…….12

I.8. Toxicité des huiles essentielles 13

I.9. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....14

I.9.1. Méthodes d'extraction conventionnelles……14
I.9.1.1. Distillation.....14
I.9.1.2. L'expression à froid 17
I.9.1.3. Huiles essentielles produites par pyrogénation du bois 18
I.9.1.4. Extraction à l'eau surchauffée.....18
I.9.1.5. Distillation par extraction simultanée (SDE) 18
I.9.1.6. Extraction par solvants 19
I.9.1.7. L'enfleurage ou extraction par la graisse froide.....19
I.9.1.8. Extraction par macération dans la graisse chaude.....20
I.9.2. Techniques d'extraction innovantes……...20
I.9.2.1. Extraction par ultra-sons ou sonication.....20
I.9.2.2. Extraction assistée par micro-ondes.....21
I.9.2.3. Extraction au fluide supercritique 22
I.9.3. Extraction par Induction magnétique…….23
I.9.3.1. Principe physique de l'induction magnétique 23
I.9.3.2. La loi de l'induction 24
I.9.3.3. Effet de joule 25
 L'énoncé de la loi de Joule 25
I.9.3.4. Caractérisation du chauffage par induction.....25
I.9.3.5. Applications 26
I.9.3.6. Avantages et Inconvénients.....26
I.10. Conclusion.....27
ChapitreII : Activités biologiques des huiles essentielles
II.1. Introduction 28
II.2. L'activité antimicrobienne 28
II.2.1. Activité liée à la composition chimique…….29
II.2.2. Mécanisme d'action antimicrobien……29

II.2.2.1. Action membranaire 30
II.2.2.2. Modification du contenu cellulaire.....31
II.2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles 31
II.2.3.1. Technique par contact directe.....32
II.2.3.2. Technique par micro-atmosphère 33
II.3. Activité anti-oxydante 34
II.3.1. Oxydation ou Stress oxydatif…….34
II.3.2. Les radicaux libres……..35
II.3.3. Les antioxydants…….36
II.3.3.1. Antioxydants primaires.....36
II.3.3.2. Antioxydants secondaires 37
II.3.4. Activité anti-oxydante des huiles essentielles liée à leur composition chimique……39
II.3.5. Détermination de l'activité anti-oxydante des huiles essentielles 38
II.3.5.1. Méthode de DPPH 39
II.3.5.2. Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) 40
II.3.5.3. Méthode de blanchissement de la β-carotène 40
II.4. Conclusion.....41
ChapitreIII :Présentation des plantes étudiées
III.1. Introduction 43
III.2. L'espèce *Ruta chalepensis* 44
III.2.1. Généralité……...44
III.2.1.1. Historique 44
III.2.1.2. Appellation 44
III.2.1.3. Etymologie.....45
III.2.2. Etude botanique…….45
III.2.2.1. Classification 45

III.2.2.2. DescriptionBotanique.....46
III.2.3. Utilisation de plante…….....47
III.2.4. Etude chimique……...48
III.2.4.1. Les alcaloïdes 48
III.2.4.2. Les coumarines 49
III.2.4.3. Les flavonoïdes.....51
III.2.4.4. Les lignanes 52
III.2.4.5. Huile essentielle.....53
III.2.5. Propriétés biologiques et pharmacologiques du *Ruta chalepensis* 55
III.2.5.1. Propriétés biologiques 55
III.2.5.2. Propriétés pharmacologie 55
III.3. L'espèce *Cuminum cyminum*.....56
III.3.1. Généralités……..56
III.3.2. Historique……56
III.3.2.1. Appellation 57
III.3.2.2. Etymologie.....57
III.3.3. Etude botanique……..57
III.3.3.1. Classification 57
III.3.3.3. Description Botanique.....57
III.3.4. Utilisation de plante……...58
III.3.5. Etude chimique……...59
III.3.6. Huile essentielle du cumin……60
III.3.7. Propriétés biologiques et pharmacologiques……..60
III.3.7.1. Activité antibactérienne.....60
III.3.7.2. Activité antifongique 61
III.3.7.3. Activité ovicide.....61
III.3.7.4. Activité anti-oxydante 61

III.3.7.5. Effet hypoglycémiant 61
III.3.7.6. Effet anti-carcinogène 61
III.3.7.7. Effet anti -hyperglycémiant 62
III.3.7.8. Autres effets 62
III.4. Conclusion 63

ChapitreIV :Matériel et méthodes

IV.1. Introduction 64
IV.2. Matériel 64
IV.2.1. Matériel non biologique 65
IV.2.2. Matériel biologique 65
IV.2.2.1. Matériel végétal 65
IV.2.2.2. Bactéries d'étude 66
IV.3. Méthodes d'extraction 68
IV.3.1. Extraction des huiles essentielles 68
IV.3.1.1. Hydro-distillation classique 68
IV.3.1.2. Extraction par Induction Electromagnétique 70
 Rendement 72
IV.3.2. Indices physico-chimiques 73
IV.3.2.1. Densité 73
IV.3.2.2. Indice de réfraction 73
IV.3.3. Détermination des activités biologiques 75
IV.3.3.1. Activité antibactérienne 75
IV.3.3.2. Activité anti-oxydante 80

ChapitreV : Résultats et Discussions

V.1. Extraction des huiles essentielles 83
V.1.1. Evaluation de rendement d'extraction 83
V.1.1.1. Résultats 83

V.1.1.2. Discussion.....84
V.1.2. Etude physico-chimique des huiles essentielles.....86
V.1.2.1. Aspect organoleptique.....86
V.1.2.2. Indices physico-chimiques.....86
V.2. Activité antibactérienne.....87
V.2.1. Antibiose.....87
V.2.1.1. Résultats.....87
V.2.1.2. Discussion.....89
V.2.2. Concentration minimale inhibitrice (CMI, CMB).....94
V.2.3. Cuminum cyminum.....94
V.2.3.1. Résultats.....94
V.2.3.2. *Ruta chalepensis*.....96
V.2.4. Conclusion.....97
V.3. Activité anti-oxydante.....97
V.3.1. Evaluation de taux d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de l'HE.....97
V.3.1.1. Résultats.....97
V.3.2. Calcul des IC50.....101
V.3.2.1. Résultats.....101
V.3.2.2. Discussion.....102
V.4. Conclusion.....103

Liste des figures

FIGURE I-1 : QUELQUES EXEMPLES D'APPAREILS SECRETEURS. 5
FIGURE I-2: EXEMPLES DE STRUCTURES DE MONOTERPENES ACYCLIQUES ET CYCLIQUES RENCONTREES DANS LES HUILES ESSENTIELLES.....8
FIGURE I-3:EXEMPLES DE STRUCTURES DE SESQUITERPENES RENCONTREES DANS LES HUILES ESSENTIELLES. 9
FIGURE I-4:EXEMPLES DE STRUCTURES DE COMPOSES AROMATIQUES RENCONTRES DANS LES HUILES ESSENTIELLES.....10
FIGURE I-5:APPAREILLAGE UTILISE POUR L'HYDRO-DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES. 15
FIGURE I-6 : SCHEMA D'EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROSE EN HERZEGOVINE PAR DISTILLATION SECHE.....17
FIGURE I-7:PRINCIPE SCHEMATISE DE L'APPAREILLAGE D'EXTRACTION PAR MICRO-ONDES.....22
FIGURE I-8:PRINCIPE DE CHAUFFAGE PAR INDUCTION.....24
FIGURE I-9 : BOUCLE D'UN MATERIAU CONDUCTEUR. 25
FIGURE I-10 : LOI DE JOULE. 25
FIGURE II-1: MODE D'ACTION DES HE CONTRE LES BACTERIES.....31
FIGURE II-2 : ORIGINE DES DIFFERENTES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE IMPLIQUEES EN BIOLOGIE [95].....36
FIGURE II-3 : SYSTEMES DE DEFENSE CONTRE LES RADICAUX LIBRES 38
FIGURE III-1 : lA PLANTE *RUTA CHALEPENSIS* l. 47
FIGURE III-2 : SQUELETTE DE COUMARINE 49
FIGURE III-3 : STRUCTURE MOLECULAIRE DE LA COUMARINE, L'UMBELLIFERONE ET L'HERNIARIN.....50
FIGURE III-4 : STRUCTURE DE LA RUTINE. 52
FIGURE III-5 : lA PLANTE *CUMINUM CYMINUM*. 58
FIGURE IV-1 : MONTAGE DE L'HYDRO-DISTILLATION CLASSIQUE. 69
FIGURE IV-2 : MONTAGE DE L'HYDRO-DISTILLATION ASSISTEE PAR INDUCTION MAGNETIQUE. 71
FIGURE IV-3:REACTION D'UN ANTIOXYDANT AVEC LE RADICAL DPPH.....81

FIGURE V-1 : VARIATIONS DU RENDEMENT EN FONCTION DE LA METHODE D'EXTRACTION. 84
FIGURE V-2 : QUELQUES EXEMPLES DE L'ANTIBIOGRAMME DES HE. 89
FIGURE V-3 : POURCENTAGES D'INHIBITION DU RADICAL LIBRE DPPH PAR L'HE DU *RUTA CHALEPENSIS* OBTENUE PAR HYDRO-DISTILLATION CLASSIQUE. 98
FIGURE V-4: POURCENTAGES D'INHIBITION DU RADICAL LIBRE DPPH PAR L'HE DU *RUTA CHALEPENSIS* OBTENUE PAR HD PAR INDUCTION 98
FIGURE V-5 : POURCENTAGES D'INHIBITION DU RADICAL LIBRE DPPH PAR L'HE DU *RUTA CHALEPENSIS* OBTENUE PAR HD PAR INDUCTION. 99
FIGURE V-6 : POURCENTAGES D'INHIBITION DU RADICAL LIBRE DPPH PAR L'HE DU *CUMINUM CYMINUM* OBTENUE PAR HD CLASSIQUE. 100
FIGURE V-7 : POURCENTAGES D'INHIBITION DU RADICAL LIBRE DPPH PAR L'HE DU *CUMINUM CYMINUM* OBTENUE PAR HD ASSISTEE PAR INDUCTION. 100
FIGURE V-8 : POURCENTAGES D'INHIBITION DU RADICAL LIBRE DPPH PAR L'HE DU *CUMINUM CYMINUM* OBTENUE PAR HD ASSISTEE PAR INDUCTION AVEC NACL..... 101

Liste des tableaux

TABLEAU III-1:APPELLATION DE PLANTE SELON LA LANGUE 45
TABLEAU III-2 : CLASSIFICATION BOTANIQUE DE LA PLANTE *RUTA CHALEPENSIS*.....46
TABLEAU III-3 : RELATION ENTRE STRUCTURE CHIMIQUE ET ACTIVITES PHARMACOLOGIQUES DE QUELQUES ALCALOÏDES ISOLEES DE L'ESPECE *RUTA CHALEPENSIS L* 48
TABLEAU III-4 : RELATION ENTRE LA STRUCTURE CHIMIQUE ET ACTIVITE PHARMACOLOGIQUE DE QUELQUES COUMARINES ISOLEES DE *RUTA CHALEPENSIS L*. 50
TABLEAU III-5 : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE *RUTA CHALEPENSIS L*. 54
TABLEAU III-6 : APPELLATIONS DE LA PLANTE *CUMINUM CYMINUM*.....57
TABLEAU IV-1 : MATERIEL NON BIOLOGIQUE UTILISE.....65
TABLEAU IV-2 : COORDONNES GEOGRAPHIQUES ET CLIMATIQUE DE MEDEA 66
TABLEAU IV-3 : PRESENTATION DES DIFFERENTES SOUCHES BACTERIENNES TESTEES. 66
TABLEAU IV-4 : PRESENTATION DES DIFFERENTS ESSAIS D'EXTRACTION PAR HYDRO-DISTILLATION CLASSIQUE. 70
TABLEAU IV-5: PRESENTATION DES ESSAIS D'EXTRACTION PAR HYDRO-DISTILLATION ASSISTEE PAR INDUCTION MAGNETIQUE.....71
TABLEAU IV-6 : PRESENTATION DES ESSAIS D'EXTRACTION PAR HYDRO-DISTILLATION ASSISTEE PAR INDUCTION MAGNETIQUE AVEC NACL.....72
TABLEAU IV-7 : CONCENTRATIONS DES HE DU *RUTA CHALEPENSIS* ET *CUMINUM CYMINUM* EN G/ML.....79
TABLEAU V-1: RENDEMENT EN HE DU *CUMINUM CYMINUM* ET DU *RUTA CHALEPENSIS* (%). 83
TABLEAU V-2 : VALEURS DE DENSITES RELATIVES DU *RUTA CHALEPENSIS* ET *CUMINUM CYMINUM*.....87
TABLEAU V-3 : VALEURS CARACTERISTIQUES DE L'INDICE DE REFRACTION DU *RUTA CHALEPENSIS* ET *CUMINUM CYMINUM*. 87
TABLEAU V-4 : ANTIBIOGRAMME DE SOUCHES BACTERIENNES VIS-A-VIS DIFFERENTES ANTIBIOTIQUES. 88
TABLEAU V-5: DIAMETRES D'INHIBITION DES SOUCHES BACTERIENNES PAR LES HE DU *CUMINUM CYMINUM* ET *RUTA CHALEPENSIS* (MM). 88

TABLEAU V-6 : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HE DE *CUMINUM CYMINUM* SELON LES TRAVAUX DE NAEINI. A. R. 90
TABLEAU V-7 : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HE DU *CUMINUM CYMINUM* SELON LES TRAVAUX DE HAJLAOUI EN *AL*. 91
TABLEAU V-8 : COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HE DU *RUTA CHALEPENSIS* SELON LES TRAVAUX DE HADDOUCHI ET *AL*. 93
TABLEAU V-9 : CONCENTRATIONS MINIMALES INHIBITRICES DE L'HE DU *CUMINUM CYMINUM* VIS-A-VIS LES SOUCHES TESTEES. 94
TABLEAU V-10 : PRESENTATION DE LA CMB DE L'HE DU *CUMINUM CYMINUM*. 95
TABLEAU V-11 : CONCENTRATIONS MINIMALES INHIBITRICES DE L'HE DU *RUTA CHALEPENSIS* VIS-A-VIS LA SOUCHE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. 96
TABLEAU V-12 : PRESENTATION DE LA CMB DE L'HE DU *RUTA CHALEPENSIS*.**ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**
TABLEAU V-13 : VALEURS DES IC50 RELATIVES AUX HE DU *RUTA CHALEPENSIS*. 101
TABLEAU V-14 : VALEURS DES IC50 RELATIVES AUX HE DU *CUMINUM CYMINUM*..... 101

Introduction générale

Actuellement, plusieurs questions se sont soulevées concernant l'efficacité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans différentes industries. En effet, le développement de la résistance des micro-organismes aux divers antibiotiques préoccupe les spécialistes en médecine. D'un autre côté, l'utilisation des additifs tels que les antioxydants est suspectée d'avoir des effets négatifs sur la santé du consommateur.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne et de l'oxydation des aliments. Dans ce but, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et antioxydant. Ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactive, [1-2]. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses [3-4] et pour la protection des aliments contre l'oxydation [5-6].

Les plantes aromatiques sont les sources de ces substances et sont largement répandues dans la nature. Dans ce domaine, l`Algérie recèle d`importantes potentialités en matière de plantes aromatiques et médicinales, en raison de la diversité de son climat et de la nature de ses sols.

Ce travail constitue une suite logique des travaux menés dans le laboratoire Matériaux et Environnement sur la valorisation des biomasses. Il consiste à compléter des travaux antérieurs menés sur l'extraction des métabolites secondaires par différents procédés d'extraction par l'étude de leur impact sur l'activité biologique des différents extraits obtenus. Ainsi, nous nous sommes intéressé à mener nos études les deux plantes, étudiées précédemment, poussant à l'état spontané dans l'Algérie *Ruta chalepensis* de la région de Médéa et les graines du Cumin *Cuminum cyminum* (commercialisées).

Les activités biologiques, l'activité antibactérienne et anti-oxydantedes huiles essentielles obtenues par deux méthodes d'extraction l'une classique (Hydro-distillation classique) et l'autre moderne (Hydro-distillation assistée par Induction électromagnétique) ont été étudiées dans le but de servir comme nouvelles substances à pouvoir antibactérien et antioxydant efficaces et alternatives des produits chimiques utilisés en médecine et dans différentes industries

Notre travail a été divisé en deux parties ; nous aborderons dans la première partie une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne les huiles essentielles et leurs méthodes d'extraction, le deuxième chapitre est consacré à l'étude des activités biologiques des huiles essentielles, et une description détaillée des plantes étudiées sera donnée dans le troisième chapitre.

La deuxième partie concerne l'étude expérimentale (réalisée au sein de la filiale« Antibiotical », unité Saidal de Médéa et le laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital Mustapha Boudiaf et Laboratoire d'hygiène de Médéa) est divisée en deux chapitres :

Le premier chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

- L'extraction des huiles essentielles des deux plantes *Ruta chalepensis* et *Cuminum cyminum*par deux méthodes d'extraction : hydro-distillation classique et induction électromagnétique.
- Détermination du rendement d'extraction.
- Détermination des indices physicochimiques des huiles essentielles obtenues.
- Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles obtenues par la méthode de (contact direct) diffusion sur gélose, et l'activité anti-oxydante par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

En fin dans le deuxième chapitre nous représentant l'ensemble des résultats obtenus et leurs discussions.

I. Les huiles essentielles et leurs méthodes d'extraction

I.1. Introduction

La cellule végétale est le siège de la biosynthèse des composés fondamentaux de la matière vivante. Elle est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques conduisant à la production des huiles essentielles. Certaines cellules prennent en charge ces biosynthèses et également le stockage des métabolites formés. Il s'agit là de tout un ensemble de réactions biochimiques participant à la vie des plantes : respiration, photosynthèse, etc. **[**7**]**.

Les plantes aromatiques contiennent deux types de métabolismes : le métabolisme primaire fournit les constituants de base en quantité élevée ; les plus importants sont les sucres et leurs dérivés, les lipides, et les protéines. Le métabolisme secondaire produit en faibles quantités et dont les applications, dans différents domaines, sont de la plus grande importance. Les huiles essentielles font partie de ce groupe de métabolites avec les alcaloïdes et les phénols [8].

De tous temps, on connait les vertus de ces huiles essentielles «essences de plante» et on s'efforça de les extraire depuis la plus haute antiquité[9].

Connaissant mieux les constituants des huiles, des techniques se sont développées visant à optimiser la qualité de l'huile tout en maintenant un rendement intéressant.

I.2. Définition

Pour la 8^{e} édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (= essences = huiles volatiles) sont : «des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales : celui par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leurs organes, et celui par expression».

La norme AFNOR NF T 75-006 a donné la définition suivante d'une *huile essentielle* : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entrainement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques, n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [par exemple, redistillation, aération, …].»[10].

I.3. Etat naturel et rôle dans la plante

I.3.1. Répartition botanique

Les huiles essentielles sont largement réparties dans le règne végétal ; certaines familles en sont particulièrement riches (Conifères, Rutacées, Myrtacées, Ombellifères, Labiées).

Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries (Lavande, Menthe), écorces (Cannellier), racines (Vétiver), rhizomes (Gingembre), fruits (Anis, fenouil, badianier), bois(Camphrier), etc. Dans une même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes ; la composition des essences peut alors varier d'un organe à l'autre (ex : huiles essentielles de fleurs, de feuilles et de fruits de divers *Citrus*) [11].

I.3.2. Localisation

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques glandulaires spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante [12].

Selon Belaïche. P [13], la morphologie de ces structures glandulaires permet de distinguer différents types d'éléments sécréteurs :

- Cellules sécrétrices (Schéma 2, Figure I-1) des Lauraceae ou des Zingiberaceae, incluses dans l'épiderme ou à l'extrémité des poils.
- Poches sécrétrices (Schéma 1, Figure I-1) des Myrtaceae ou des Rutaceae, formées par des cellules qui se sont modifiées.
- Canaux sécréteurs des Apiaceaeouet des Asteraceae, obtenus par l'allongement des poches sécrétrices.
- Poils sécréteurs des Laminaceae (Schéma 3 et 4, Figure I-1).

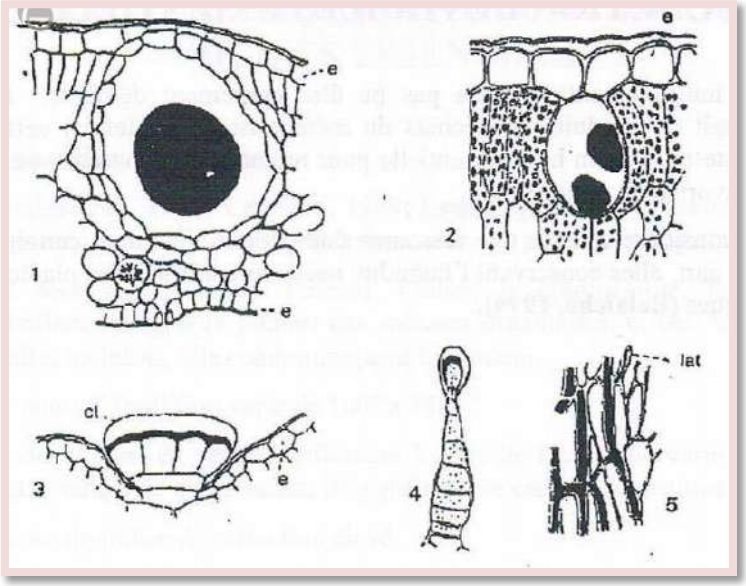


Figure I-1 : Quelques exemples d'appareils sécréteurs [14].

I.3.3. Rôle dans la plante

Le rôle des huiles essentielles n'a pas pu être clairement démontré. En effet, on considère qu'il s'agit de produits de déchets du métabolisme. Toutefois, certains auteurs pensent que la plante utilise son huile essentielle pour repousser les insectes, ou au contraire pour les attirer et favoriser la pollinisation.

D'autres la considèrent comme une ressource énergétique facilitant certaines réactions chimiques. D'autre part, elles conservent l'humidité nécessaire à la vie des plantes exposées à des climats désertiques [13].

Selon Fouché et *al*[15], les huiles essentielles permettent aussi aux plantes de s'adapter à leur environnement et assurer leur ultime défense, elles jouent plusieurs rôles écologiques :

- Interaction plante-plante (inhibition de la germination et de la croissance).
- Interaction plante-animal, pour leur protection contre les prédateurs.

I.4. Caractéristiques physicochimiques des HE

Les essences produites par les différentes espèces de plantes varient dans leurs caractéristiques physicochimiques selon certains facteurs, tels que : les régions et les climats, l'époque de la végétation et le moyen de récolte [16].

I.4.1. Caractéristiques physiques

Selon Lemberg **[**17**]** et Bruneton [18], les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- ✓ Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur.
- ✓ Leur densité est en général inférieur à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- ✓ Elles ont un indice de réfraction élevé.
- ✓ Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée.
- ✓ Elles dissolvent les graisses, l'iode, le souffre, le phosphore et réduisent certains sels.
- ✓ Ce sont des parfums, et sont de conservation limitée.
- ✓ Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- ✓ Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voir rétinoïdes, très odorantes et volatiles.
- ✓ A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, exemples : huile essentielle à azulène de coloration bleue.
- ✓ Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, quelquefois purs, généralement en dissociation dans l'alcool ou un solvant adapté.

I.4.2. Composition chimique

La détermination de la composition chimique a intéressé de nombreux chercheurs et les méthodes d'analyses chimiques de plus en plus sophistiquées ont permis d'identifier un très grand nombre de constituants des huiles essentielles [19].

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des ***terpénoïdes*** d'une part et le groupe des ***composés aromatiques dérivés du phénylpropane***, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des ***constituants non volatils***[10].

I.4.2.1. Terpénoïdes

Dans le cas des huiles essentielles, seules seront rencontrés les terpènes les plus volatils : mono- et sesquiterpènes.

I.4.2.2. Les monoterpènes

Constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités «isopréniques». Ils peuvent être acycliques (myrcène, acimène), monocycliques (α et γ- terpinène, ρ-cymène) ou bicycliques (pinènes, camphène, sabinène). Ils constituent par fois plus de 90% de l'huile essentielle (Citrus…) (Figure I-2).

Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools (géraniol, α-terpinéol, bornéol, trans-trans-farnésol), phénols (thymol), aldéhydes (cittonellal), cétones (carvone, β-vetivone), esters (acétate de cédryle), éthers (1, 8-cinéole).

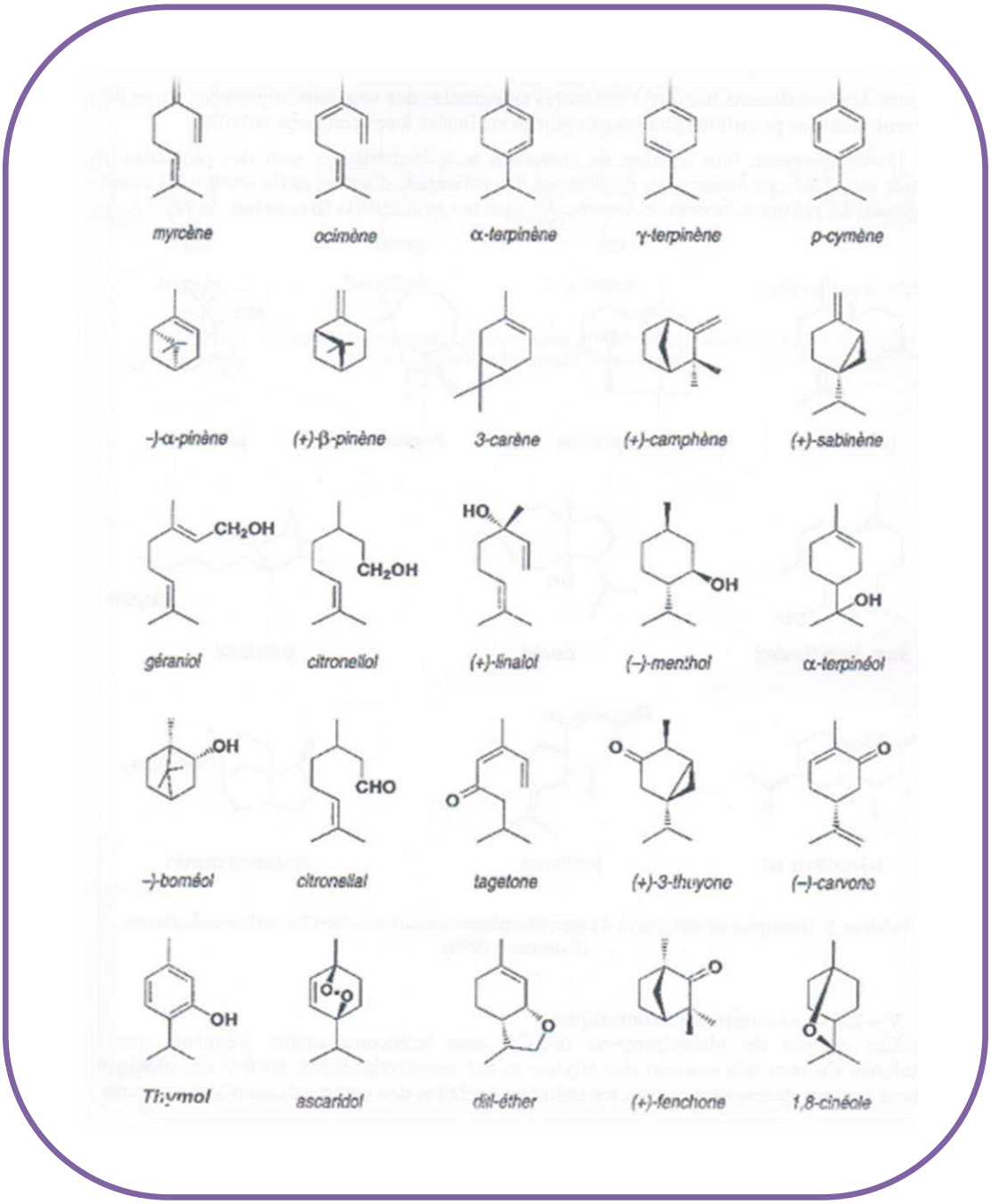


Figure I-2:Exemples de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrées dans les huiles essentielles [10].

I.4.2.3. Les sesquiterpènes

Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas des monoterpènes, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents.

Figure I-3 représente quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles : carbures mono-ou polycycliques (β-bisabolène, β-caryophyllène, longifolène), alcools(farnésols, carotol, β-santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, cis-longipinane-2,7-dione, β-vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) [10].

Biologiquement, bon nombre de structures sesquiterpéniques sont des phytoalexines, d'autres semblent agir comme des régulateurs de croissance, d'autres enfin attirent les insectes ou agissent à l'encontre de ceux-ci comme des facteurs anti-nutritifs [5].

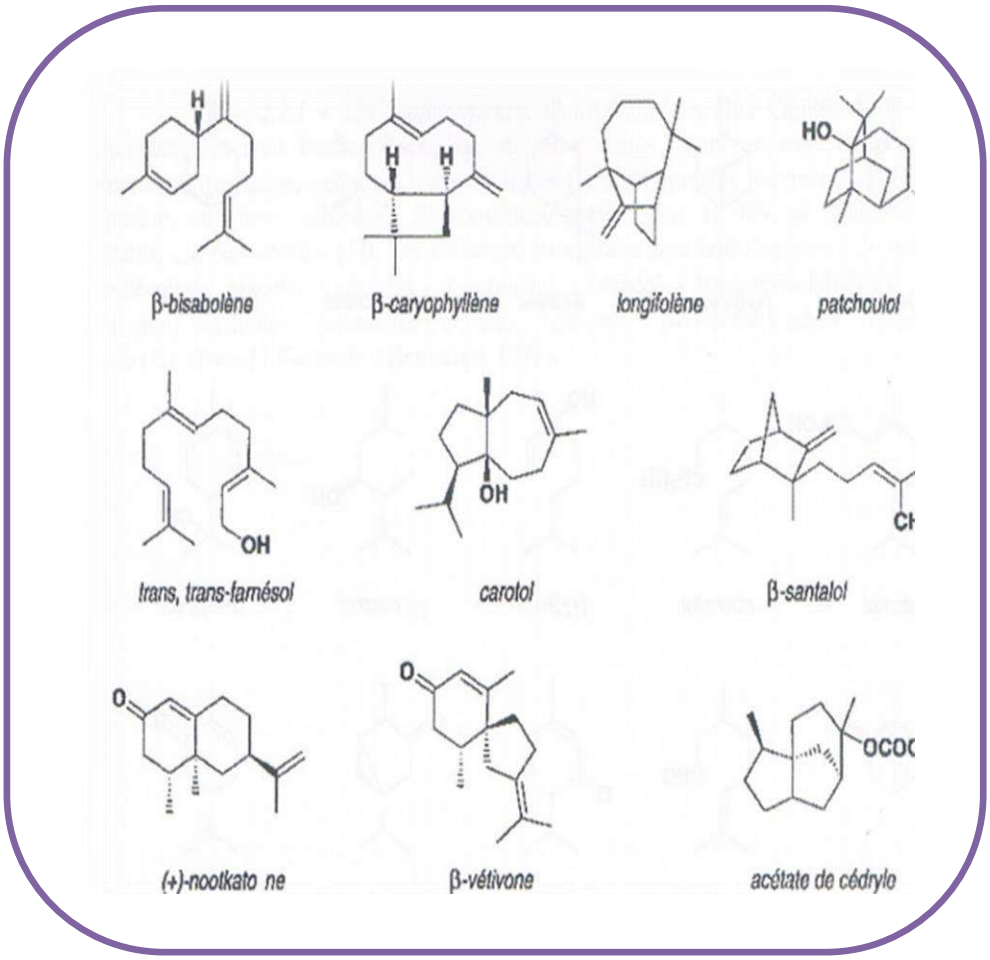


Figure I-3:Exemples de structures de sesquiterpènes rencontrées dans les huiles essentielles [10].

I.4.2.4. Les composés aromatiques

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques plus particulièrement des composés «phénylpropanoïdes» (C_6-C_3) [11].

Ils sont beaucoup moins fréquents que les sesquiterpènes. Ce sont très souvent des allyles et des propénylphénols, parfois des aldéhydes.

On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C_6-C_1) comme la vanilline ou comme l'anthranilate de méthyle (Figure I-4).

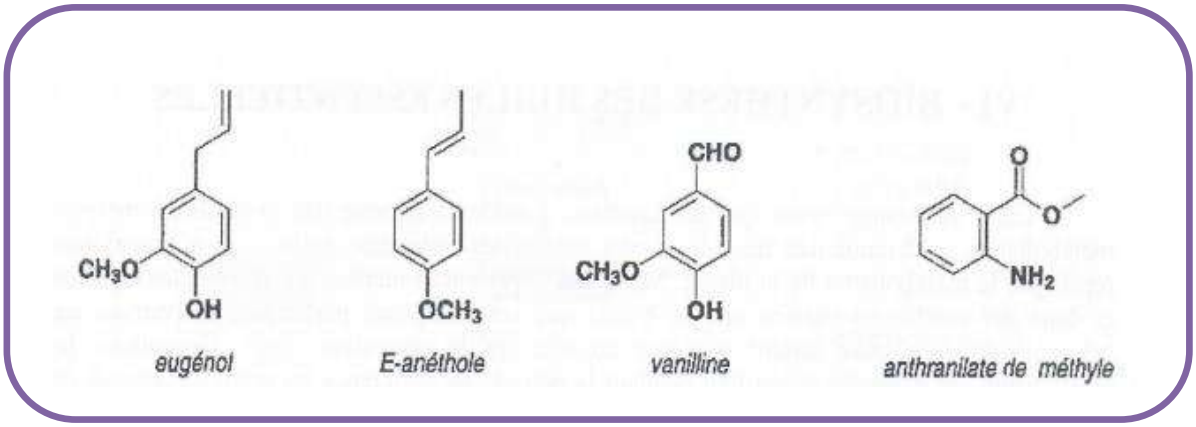


Figure I-4:Exemples de structures de composés aromatiques rencontrés dans les huiles essentielles [10].

I.4.2.5. Divers

Entrent également en faible proportion dans la constitution des huiles essentielles :

- Des acides organiques de faible poids moléculaire : acide acétique, valérique et isovalérique… ;
- Des cétones de faible poids moléculaire ;
- Des coumarines volatiles (ex : bergaptène) [11].

I.5. Facteurs influençant la composition chimique des huiles essentielles

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique des huiles essentielles : la température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol, la partie de la plante utilisée, le cycle végétatif de la plante, la méthode utilisée pour l'extraction ; sont d'autant de facteurs susceptibles d'exercer les modifications chimiques, outre la composition, ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en huile essentielle, par exemple : les *Citrus* ont une teneur importante en huiles essentielles lorsque la température est élevée. Les fleurs de *Chrysanthemum caronarum* sont riches en huiles essentielles sous l'effet de fertilisants [10].

I.6. Le chémotype

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce; ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes. Le mot chémotype est dérivé de chimiotype ou chimio-variété. Cette variation peut se présenter d'un peuplement à l'autre ou même d'un individu à l'autre et peut être due à des facteurs exogènes comme l'ensoleillement, la nature et les composants du sol, la température, l'altitude, etc. et au facteur endogène, la composition génétique des individus [20].

Une huile essentielle contient souvent 50 à 100 molécules biochimiques différentes.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse permet d'identifier et de quantifier chacune de ces molécules et ainsi d'obtenir la composition précise des huiles essentielles [21].

I.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs,

I.7.1. Dans le domaine thérapeutique

Les huiles essentielles demeurent un réservoir potentiel de matières actives de soins naturels et une chance pour la médecine [22].

Elles sont utilisées pour leurs différentes propriétés et effets thérapeutiques divers [23], tel que les effets anti-infectieux, des effets calmants et antispasmodiques, et des effets anti-inflammatoires.

Elles possèdent aussi des propriétés antioxydants expectorantes, diurétiques, et antifongiques. Ces dernières propriétés sont illustrées par KoshKomba. E [24],dans son travail sur les huiles essentielles des espèces d'eucalyptus du campus universitaire de Lomé.

Les huiles essentielles sont de même utilisées pour traiter des aphtes, gingivites et maux de gorge en faisant les gargarismes et les bains de bouche. Le massage aux huiles essentielles constitue un traitement curatif puissant, stimulant et relaxant. Les huiles essentielles sont incorporées dans les crèmes, les lotions, gels et shampooings. Et possèdent également des propriétés insecticides et insectifuges : c'est le cas de l'huile essentielle de *Cymbopogons choenanthus*, un bio-pesticide efficace contre *collasobru chusmaculatus F*., prédateur de niébé [25].

I.7.2. En parfumerie et cosmétologie

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles essentielles constituent des «bases» de parfums irremplaçables [11].

L'utilisation des huiles essentielles dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et anti-oxydante [26], tout en leur assurant leur odeur agréable [27-28].

I.7.3. En pharmacie

Dans leur grande majorité, les huiles essentielles sont utilisées en nature, en particulier pour la préparation des infusions, et sous forme de préparations galéniques simples.

Elles sont également utilisées pour l'obtention d'huiles essentielles dont certaines peuvent avoir un intérêt médicamenteux (particulièrement dans le domaine des antiseptiques externes), mais qui, majoritairement, sont surtout destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale [10].

I.7.4. Dans les industries agro-alimentaires

En industrie alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure [29]. Une nouvelle technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des huiles essentielles [30 - 31]. Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles sont utilisées dans la conservation des denrées alimentaires. Parmi le groupe diversifié des constituants chimiques des huiles essentielles [32], le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire [33]. Ils y sont rajoutés pour rehausser le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires [34-35-36].

Plusieurs travaux [37 - 38 - 39], ont montré que les huiles essentielles de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxinogenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires [34-40].

I.8. Toxicité des huiles essentielles

Les HE contiennent des milliers de composants qui les rendent très efficaces, mais aussi dangereuses. Certains composants aromatiques peuvent être nocifs, allergisants, tératogènes ou cancérigènes.

La toxicité des HE et les propriétés mutagènes ou cancérigènes de leurs composés restent encore mal connues. Pourtant, la neuro-toxicité des plantes aromatiques et médicinales à thujone (*Artemesia absinthum* L) et pinochaphène (*Hyssopusofficinalis* L,) est assez bien connue.

En effet, ces substances cétoniques induisent des troubles psychiques et sensoriels. D'autres mono-terpènes sont toxiques à fortes doses : camphre, menthol, cinéol, anéthol, etc. En effet, la toxicité des plantes aromatiques et médicinales dépend de la nature des composés qu'elles renferment et aussi de la dose administrée. On cite, par exemple, HE à partir de là de différentes variétés d'origan qui ont montré une forte cyto-toxicité sur des cellules humaines cancéreuses [41].

I.9. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des huiles essentielles, ce qui introduit cette diversité, c'est d'abord la variété des matières premières et ensuite la sensibilité considérable de certaines huiles essentielles qui n'obligent à employer que des moyens peu violents sans interventions d'agents chimiques trop énergiques [42].

Le choix du type d'extraction doit permettre de :

- Retirer des végétaux des essences aromatiques avec le rendement le plus élevé.
- Conserver aussi intact que possible les parfums les plus délicats [42].

Ainsi, la méthode d'obtention des huiles essentielles intervient de façon déterminante dans le rendement en huile et dans sa composition [43].

Selon la définition, les huiles essentielles sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau. Mais autour de cette technique de base, il existe actuellement plusieurs procédés technologiques ou plusieurs façons de faire différentes.

Parmi ces différentes méthodes d'extraction, nous citons principalement :

I.9.1. Méthodes d'extraction conventionnelles

I.9.1.1. Distillation

D'une façon générale, la distillation est un procédé de séparation basé sur la différence de composition entre un liquide et la vapeur engendrée. La technique implique la condensation de la vapeur et la récupération des fractions liquides résultantes [44-45].

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation, à l'exception des huiles d'hespéridés (citron, orange, etc.) et l'huile de cade [13].

La vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles, une quantité suffisante de vapeur permet largement l'isolement des essences de plante. Il existe trois grands modes de distillation :

I.9.1.1.1. L'hydro-distillation

Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé [turbo-distillation] dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont entrainées par la vapeur d'eau créée. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolat [10].

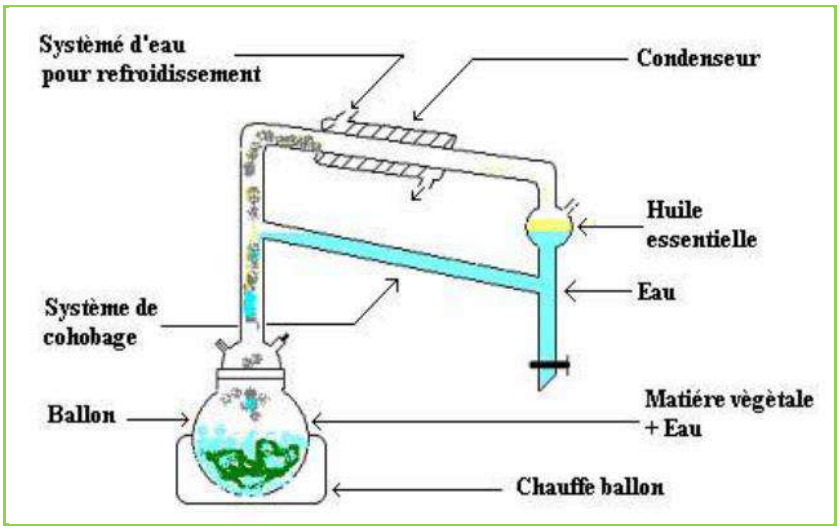


Figure I-5:Appareillage utilisé pour l'hydro-distillation des huiles essentielles [46].

I.9.1.1.2. Entrainement à la vapeur d'eau (ou Vapo-hydro-distillation)

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydro-distillation, 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'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules organiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [47].

I.9.1.1.3. Distillation à la vapeur directe : «générateur séparé» ou «vapo-distillation»

Cette méthode ressemble à celle décrite précédemment, sauf que cette fois il n'y a pas d'eau au fond de l'alambic. La vapeur saturée ou surchauffée à pression généralement supérieure à la pression atmosphérique est introduite au fond de l'alambic par un système de conduite et traverse la masse végétale de bas en haut. La vapeur provient d'une chaudière indépendante [43].

I.9.1.1.4. Distillation sèche

La pharmacopée européenne site cette méthode comme utilisable pour l'extraction des huiles essentielles pourtant, rares sont les documents se rapportant à la distillation sèche pour leur extraction. Il s'agit d'une méthode d'extraction des huiles essentielles caractéristiques des végétaux fragiles tels que les pétales de rose. Dans le domaine de l'extraction végétale, la distillation sèche consiste à chauffer de façon très modérée les plantes ou parties de plantes sans ajout d'eau ni de solvants organiques, puis à condenser les substances volatiles. L'avantage de cette méthode est la température à laquelle se déroule l'extraction : inférieur à 100°C, ce qui évite la dénaturation de certaines molécules thermosensibles.

La (Figure I-6) représente les montages de distillation sèche. Mais si cette technique représente un avantage certain au niveau de la qualité, elle aboutit cependant à des rendements extrêmement faibles en huile essentielle [48].

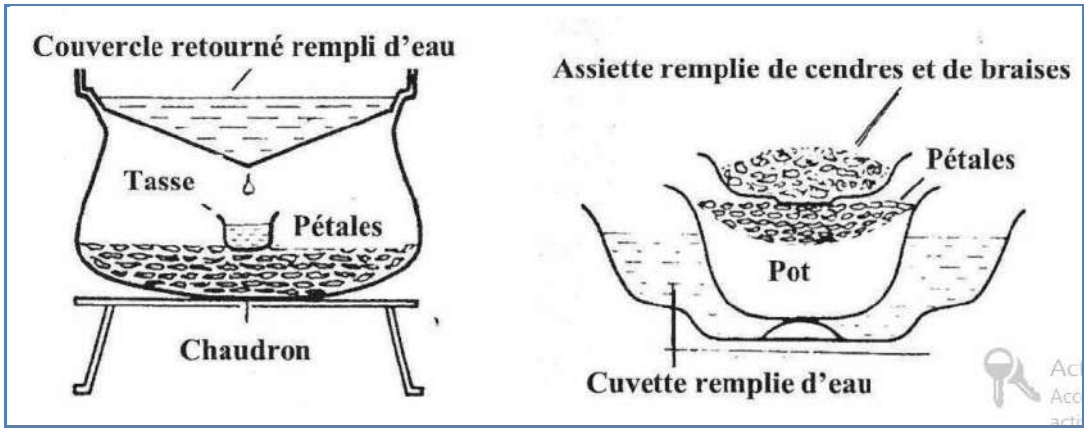


Figure I-6: Schéma d'extraction de l'huile essentielle de rose en Herzégovine par distillation sèche [43].

I.9.1.1.5. L'hydro-diffusion

Ce procédé est dit : "distillation par hydro-diffusion" (HDF) En général, la production des huiles essentielles est basée sur un principe de distillation où la matière végétale est soumise à un courant de vapeur la traversant de bas en haut. Dans l'extracteur HDF, la vapeur traverse le végétal de haut en bas, en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur [49].

Le concept de cet appareil de distillation exploite logiquement l'action osmotique de la vapeur d'eau qui libère, sous forme azéotropique, l'huile essentielle contenue dans les cellules végétales : c'est l'hydro-diffusion. On obtient ainsi un produit de caractéristiques particulières pour lequel le constructeur de cet appareil préconise des utilisations particulières. Il s'agit en fait d'un élargissement de gamme de produits aromatiques extraits des plantes à huiles essentielles.

D'après le constructeur, ce procédé apporte des avantages majeurs qui se traduisent en économie de temps (la durée de distillation peut être réduite à 20 minutes, voire moins), de vapeur, d'eau et d'énergie, ainsi qu'en amélioration qualitative de l'huile extraite [46].

I.9.1.2. L'expression à froid

Cette méthode n'est utilisée que pour les épicarpes des Citrus (Citrus limonum, Citrus sinensis…) [50]. Toutefois, ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. C'est pourquoi, spécifiquement pour cette catégorie de matière première, est utilisé un procédé totalement différent d'une distillation classique, qui est l'expression à froid. Le principe de la méthode est très simple : les « zestes » sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices qui ont été rompues est récupéré par un procédé physique [17].

I.9.1.3. Huiles essentielles produites par pyrogénation du bois

Le procédé de pyrogénation des végétaux est rarement utilisé en vue de l'obtention des essences : on l'applique seulement au bouleau (*Betulalenta* et *Betula alba*. L) et au cade (*Juniperus oxycedrus*. L). Ce procédé consiste à soumettre l'écorce de bouleau ou le bois (Tronc, branches, racines) du cade à l'action destructrice de la chaleur. L'appareillage accompagnant la pyrogénation du végétal fournit un goudron qui est ensuite soumis à l'entrainement à la vapeur d'eau donnant ainsi une huile d'entrainement ou une huile empyreumatique de décomposition [51].

I.9.1.4. Extraction à l'eau surchauffée

Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée à une température entre 125 et 175°C sous pression. Il utilise de l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Cette cellule est maintenue à une pression d'environ 20bars et à température constante dans une étuve. Ce procédé utilisé avec du romarin donne un rendement plus élevé en composés oxygénés que l'entrainement à la vapeur [52].

I.9.1.5. Distillation par extraction simultanée (SDE)

L'extraction par distillation simultanée ou (SDE) (Simultaneous Distillation Extraction) est une extraction liquide-liquide qui est menée dans un appareil de Likens et Nikerson modifié. Son principe est le suivant : les composés volatils entrainés à la

vapeur d'eau sont extraits par des vapeurs de solvant que l'on condense ensuite dans un réfrigérant puis on recycle en continu le solvant. Cet appareillage, initialement conçu pour l'étude de la bière a, par la suite été étendu à un grand nombre d'arômes [53].

I.9.1.6. Extraction par solvants

Il s'agit d'extrait de plantes obtenu au moyen de solvants non aqueux (hexane, éther de pétrole, etc.). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau [54]. Le matériel végétal, les fleurs par exemple, est chargé dans un extracteur spécialement construit contenant un solvant hautement purifié. Le solvant circulant à travers le matériel végétal en extrait les constituants d'arôme ainsi que d'autres substances liposolubles. Le solvant est éliminé par évaporation et on obtient une concrète ou résinoïde. Les caractéristiques physico-chimiques de la concrète obtenue dépendent surtout du solvant utilisé. Ce dernier doit être inerte et aussi sélectif que possible, ainsi que de faible température d'ébullition.

L'extraction conduit certainement à des produits représentant mieux le parfum naturel existant dans le matériel végétal, mais cette technique ne peut remplacer entièrement la distillation, surtout par entraînement à la vapeur directe, car celle-ci a l'avantage d'être moins coûteuse, plus simple et ne demande pas de main d'œuvre très spécialisée [46].

I.9.1.7. L'enfleurage ou extraction par la graisse froide

Elle consiste à rendre solubles les principes odorants dans des matières grasses. Cette méthode est adoptée pour certaines fleurs telles que le jasmin et la tubéreuse, dont l'activité physiologique se poursuit après la récolteet qui continuent donc à émettre une certaine quantité de parfum [55].

La méthode consiste à éparpiller les fleurs sur une surface plane (tamis, plateaux). Ces plateaux sont intercalés entre d'autres plateaux spécialement préparés avec une graisse, appelée corps. Cette graisse, grâce à son pouvoir d'adsorption, va fixer les constituants parfumes que le végétal libère dans le milieu ambiant : c'est *l'enfleurage*.

La durée de l'opération est variable, car elle dépend de la nature de matériel végétal. L'isolation des constituants volatils floraux du solvant se fait par concentration sous vide. Le filtrat est concentré dans un alambic, sous vide et à faible température. On obtient ainsi un "absolu de l'enfleurage" de couleur sombre et de consistance semi-solide du fait de l'existence de faibles quantités de graisses qui ne sont pas éliminées par le froid. L'élimination de ces graisses par d'autres techniques de purification permet d'améliorer la couleur de l'absolue [46].

I.9.1.8. Extraction par macération dans la graisse chaude

Dans ce type de technique, les constituants de l'arôme sont extraits par immersion des fleurs, pendant une demi-heure, dans une graisse chauffée à 80 °C. L'ensemble, graisse-fleurs, est ensuite abandonné à lui-même pendant une heure environ. L'ensemble est ensuite réchauffé puis filtré à chaud à travers un tamis métallique pour séparer la graisse du matériel végétal épuisé. Puis une nouvelle charge florale peut remplacer l'ancienne jusqu'à "saturation" de la graisse, dénommée alors pommade. Le lavage de la pommade par un alcool fort aboutit à un extrait alcoolique. L'élimination de l'alcool se fait, comme dans le cas de l'enfleurage, par concentration sous vide à basse température. On obtient ainsi un "absolu de macération". Cette méthode est actuellement peu utilisée [46].

I.9.2. Techniques d'extraction innovantes

I.9.2.1. Extraction par ultra-sons ou sonication

Les ultrasons sont des ondes sonores inaudibles par l'humain de fréquences comprises entre 20 KHz et 100 KHz. Au-delà de 20 KHz, les ondes génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. La technique d'extraction par ultrasons est basée sur le principe de cavitation [56].

Les micro-cavitations, générées par ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines cellulosiques. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation des constituants des huiles essentielles. L'extraction par les ultrasons est une technique de choix, pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction, d'augmenter le rendement en extrait et de faciliter l'extraction de molécules thermosensibles [57].

I.9.2.2. Extraction assistée par micro-ondes

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances [58]. Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes[9]**.**Ce procédé est très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui est le plus souvent, de qualité supérieure à celle du produit d'hydro-distillation traditionnelle[17]. Par ailleurs, l'analyse des huiles essentielles obtenues par cette méthode a montré selon Scheffer [59],que la composition qualitative des huiles essentielles était la même que celle des huiles obtenues par distillation, mais le pourcentage des constituants variait de manière significative.

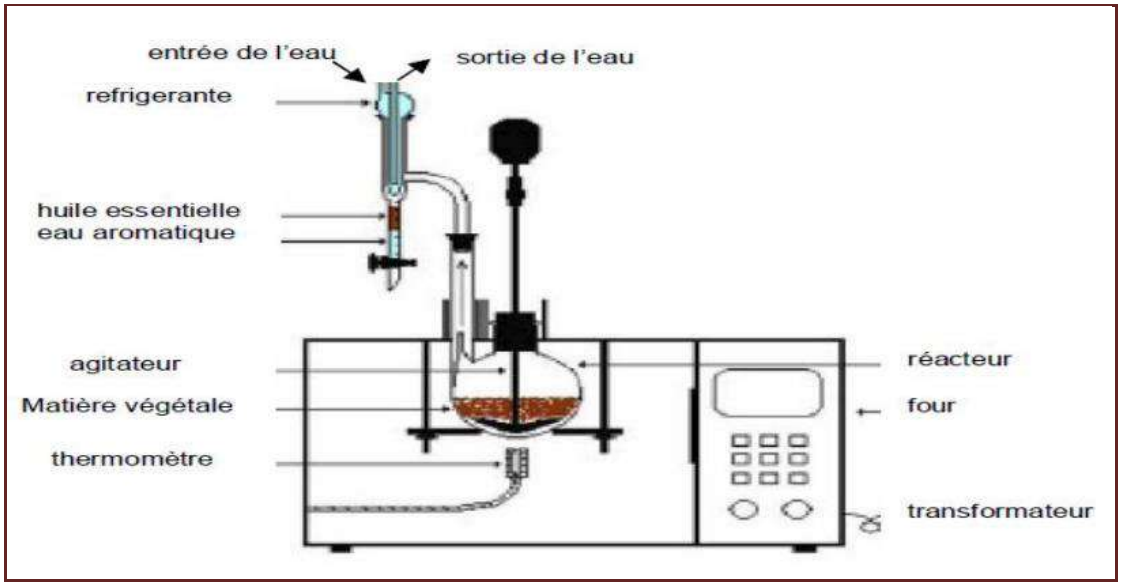


Figure I-7:Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par micro-ondes. [61]

I.9.2.3. Extraction au fluide supercritique

Procédé relativement nouveau semblait à priori intéressant pour augmenter le rendement dans le cas de plantes peu riches en huiles essentielles. Il utilise les fluides à l'état supercritique pour extraire les composants contenus dans les végétaux. En effet, dans des conditions particulières de température et de pression situées au -delà du point critique, les fluides à l'état supercritique acquièrent des propriétés importantes qui se caractérisent par une bonne di-fusibilité dans les matières solides et un bon pouvoir solvant. C'est ainsi que plusieurs gaz sont actuellement utilisés industriellement, mais l'intérêt s'est porté tout particulièrement sur le dioxyde de carbone CO2car, celui-ci présente d'incontestables atouts : produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, facile à éliminer totalement, sélectif, aisément disponible et peu couteux. [17-60].

L'extraction au fluide supercritique consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique (P=72.8 bars et T= 31.1°C). Le fluide ainsi obtenu traverse le produit à traiter et se charge en composé à extraire ensuite, il est détendu et passe en phase gazeuse et finalement se sépare du

composé extrait. L'extraction des huiles essentielles par le CO2supercritique fournit selon Scheffer [59], des huiles de très bonne qualité et en temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques. Bruneton [10]précise aussi que cette méthode est utilisée maintenant pour préparer des extraits d'épices (gingembre, paprika, céleri), des arômes (thé noir, bois de chêne fumé) et des essences végétales pures (débarrassées des terpènes, dépourvus d'intérêts olfactifs et oxydables, ou privés de certains constituants) et que les produits obtenus par cette technique ont une composition proche de celle des produits naturels et ne comportent aucune trace résidentielle de solvant, contrairement à ce que l'on peut obtenir avec des solvants ordinaires.

I.9.3. Extraction par Induction magnétique

Jusqu'à présent, l'industrie chimique utilisait majoritairement la vapeur comme vecteur de l'énergie thermique, le chauffage électrique des procédés tend, lui aussi, à se généraliser, apportant des progrès significatifs en termes de qualité, de sécurité et de protection de l'environnement. L'évolution des technologies durant ces dernières années a notamment permis de faire du réacteur chauffé par induction un outil particulièrement performant de la chimie [61].

I.9.3.1. Principe physique de l'induction magnétique

Le chauffage par induction est une application très directe à la fois de la loi de l'induction ***(loi de Lenz)*** et de ***l'effet Joule*** [62].Le chauffage par induction des réacteurs chimiques consiste à disposer autour d'un réacteur à paroi métallique un enroulement métallique parcouru par un courant alternatif. Cet enroulement sert d'inducteur et provoque dans la paroi métallique du réacteur des courants dits de Foucault (courants induits) qui vont produire de la chaleur par effet Joule.

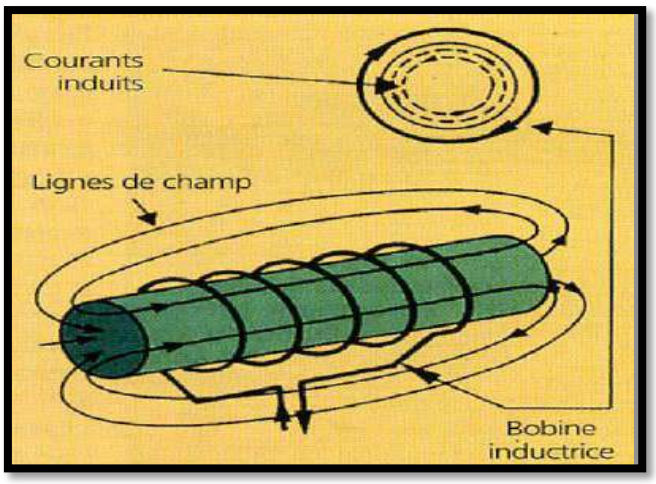


Figure I-8:Principe de chauffage par Induction [63].

I.9.3.2. La loi de l'induction

L'induction électromagnétique est le vecteur de transfert de chaleur depuis la source vers l'objet à chauffer. Le transfert de l'énergie vers l'objet à chauffer est créé par induction électromagnétique.

Quand une boucle d'un matériau conducteur (Figure I-9-a) est placée dans un champ magnétique, on voit apparaître aux bords de la boucle une tension induite.

Quand la boucle est mise en court-circuit, la tension induite va entraîner l'apparition d'un courant de court-circuit circulant dans le sens opposé au phénomène qui le génère.

C'est la loi de ***Faraday-Lenz*** (Figure I-9-b).

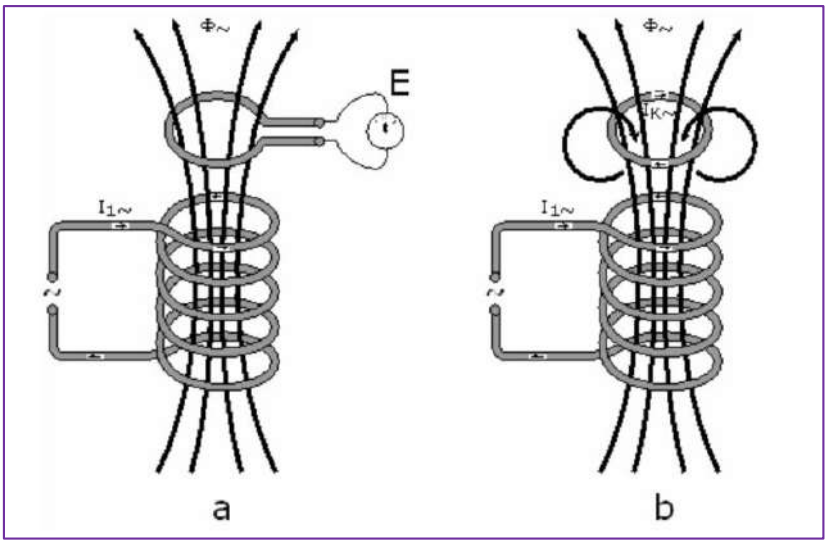


Figure I-9 : Boucle d'un matériau conducteur.

I.9.3.3. Effet de joule

- **L'énoncé de la loi de Joule**

"Un conducteur ohmique est un dipôle passif. Toute l'énergie électrique qu'il reçoit (We) est transformée en énergie thermique (Qj) par effet Joule" (Figure I-10).

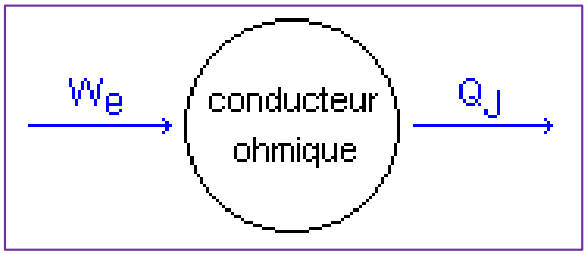


Figure I-10 :Loi de Joule.

I.9.3.4. Caractérisation du chauffage par induction

- Réalisation d'un chauffage rapide
- Température de chauffage très élevée
- Obtention d'un bon rendement
- Une part importante des pertes calorifiques peut être récupérée.
- Le chauffage peut être régulé précisément.
- Une pureté extrême peut être obtenue en travaillant sous vide ou dans des atmosphères inertes
- Pas de production de fumée [64].

I.9.3.5. Applications

Les applications de l'induction concernent plus particulièrement le domaine de la chimie fine. Il s'agit de produits de base de la chimie organique, de la pharmacie, du cosmétique et de la parachimie. On peut citer :

- L'industrie chimique de base avec, par exemple, la fabrication de colorants ou de pigments. La fabrication de produits agrochimiques.
- La fabrication de peintures et de vernis.
- La fabrication de produits pharmaceutiques de base et de médicaments.
- La fabrication de savons, de parfums, de produits d'entretien
- La fabrication de produits chimiques divers comme les colles et les gélatines, les huiles essentielles, les produits photographiques, les supports de données, etc.

I.9.3.6. Avantages et Inconvénients

❖ **Avantages**

La chaleur inductive permet :

- De régler la chaleur à diffuser de manière précise. La chaleur se transmet beaucoup plus rapidement le long de l´objet qu'une chaleur par convection traditionnelle
- De chauffer des parties inaccessibles, par exemple des morceaux de métal en cas très dans du bois ou dans d'autres vacuums.
- Une économie d'espace que les installations pour chaleur par convection dans la mesure où la chaleur est présente elle-même dans la matière, la radiation thermique est alors très petite ;
- D´avoir une rentabilité beaucoup plus importante, conditionnée par une moindre perte de chaleur et d'émission.
- De meilleures conditions de travail sans saleté ni fumée par rapport aux installations traditionnelles de chauffage

❖ **Inconvénients**

- Lors de mauvaises manipulations, d´autres objets peuvent être involontairement chauffés.
- Des coûts d'acquisition élevés pour les fortes puissances ;
- Des champs électromagnétiques peuvent apparaître ce qui peut alors perturber l'environnement [65].

I.10. Conclusion

D'une manière globale, nous avons constaté que les huiles essentielles sont des composés d'un grand nombre de constituants chimiques connus et possèdent une concentration rarement rencontrée dans les produits courants. Chaque huile apparaît comme un mélange indissociable doté de vertus thérapeutiques très intéressantes.

Nous avons pu aussi voir qu'il existe de nombreuses techniques d'extraction anciennes et d'autres récentes développées dans le but d'augmenter leur valorisation dans le domaine thérapeutique.

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés dans cette étude à la comparaison entre deux méthodes d'extraction classique et récente à travers le rendement et leurs activités biologiques.

II. Activités biologiques des huiles essentielles

II.1. Introduction

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En *phytothérapie*, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endo-canalaires [66].Ou au niveau de la microflore vaginale [67], et d'origine fongique contre les dermatophytes [68]**.** Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques [69] qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Ces huiles essentielles sont employées également pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums, elles sont par conséquent utilisées dans différents secteurs à savoir : l'industrie des cosmétiques, de la parfumerie, l'industrie alimentaire (les arômes) et aussi de *l'aromathérapie*. Cette dernière se veut une technique thérapeutique par le massage, les inhalations ou les bains tout en utilisant les HE[70-71].

Selon les travaux de Vagi. E.et *al*[72], Ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques [73].

Dans la présente étude, on s'est intéressé à l'étude de deux activités biologiques des huiles essentielles à savoir l'activité antimicrobienne et l'activité anti-oxydante.

II.2. L'activité antimicrobienne

En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origines bactérienne et fongique [74]. Cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques [75], qui les rapprochent des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

In vitro, l'effet microbicide de certaines huiles essentielles dans certains cas est supérieur à celui des antibiotiques.

Plusieurs travaux montrent que les huiles essentielles et leurs composés majoritaires ont un effet antimicrobien vis-à-vis des bactéries à Gram négatif et à Gram positif [76].

On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles : une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique.

Le plus souvent l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides.

II.2.1. Activité liée à la composition chimique

Un grand nombre de composés volatils sont également de très bons agents antifongiques. Le thymol, le carvacrol et l'eugénol sont les composés les plus actifs et ont été testés contre une large gamme de champignons : Candida, Aspergillus, Penicillium et bien d'autres [77].

En effet, il est admis que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est liée à sa composition chimique, et aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, les composés terpéniques et cétoniques) qui se classent dans l'ordre décroissant suivant leur nature : **Phénol > alcool > aldéhyde > cétone > oxyde > hydrocarbures > esters**[21].

II.2.2. Mécanisme d'action antimicrobien

Le mode d'action des huiles essentielles dépend du type de micro-organismes. En générale, les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram positives grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides (LPS) le rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer [78].

Il est aussi très probable que chacun des constituants des huiles essentielles ait son propre mécanisme d'action. Mais d'une manière générale, leur action se déroule comme suite :

II.2.2.1. Action membranaire

- ✓ La nature lipophile des huiles essentielles ainsi que leur composition en molécules hydrocarbonées laissent présager une action au niveau de la membrane cellulaire des microorganismes. En effet, les molécules lipophiles sont susceptibles de traverser les parois et membranes cellulaires ; les hydrocarbures se logent préférentiellement dans les membranes biologiques et en perturbent leurs fonctions vitales [79].
- ✓ L'altération de la membrane cellulaire et notamment de sa perméabilité peut entrainer des pertes anormales d'ions, voire de macromolécules. Il y à des études qui supposent que les huiles essentielles ont une action au niveau de la membrane mitochondriale, elles provoquent une diminution du potentiel membranaire affectant ensuite échanges de Ca2+ et H+ (d'où une modification de gradient de pH) [80]. (Figure II-1).
- ✓ Selon Zhiri. A [21]:

Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols : thymol, carvacrol et eugénol. Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires, quelle que soit leur localisation. Le thymol et l'eugénol sont responsables des activités fongicides et bactéricides des huiles essentielles qui en contiennent. La molécule de thymol exerce un effet inhibiteuret létal sur différentes souches et, parmi elles, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, sur lesquelles elle provoque des fuites d'ions potassium. Par contre, elle n'est pas active sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Les alcools avec 10 atomes de carbone (oumono-terpénols) viennent immédiatement après les phénols, en termes d'activité, avecles géraniols, linalool, thujanol, myrcénol, terpinéol, menthol et pipéritol pour les plus connus. Molécules à large spectre, elles sont utiles dans de nombreuses infections bactériennes.

Les aldéhydes sont également quelque peu bactéricides. Les plus couramment utilisés sont le néral et le géranial (des citrals), le citronnellal et le cuminal.

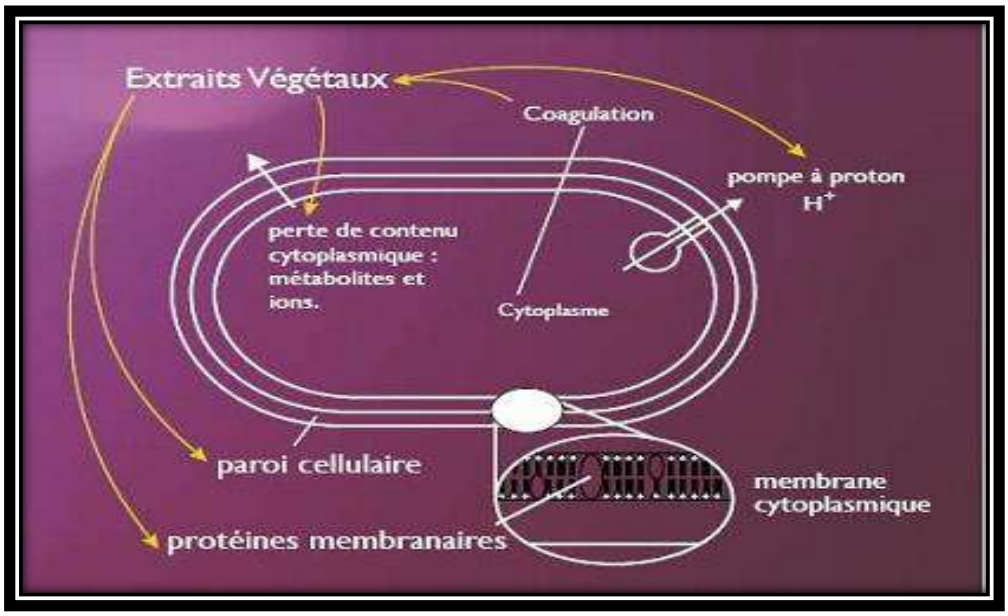


Figure II-1: Mode d'action des HE contre les bactéries [80**]**.

II.2.2.2. Modification du contenu cellulaire

- ✓ L'acidification de l'intérieure de la cellule bloque la production de l'énergie et la synthèse des composants de « structure».
- ✓ La destruction du matériel génétique qui conduise à la mort de la bactérie [81].

II.2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles peut être estimé par deux méthodes principales: technique de contact direct (en milieu solide ou en milieu liquide) et technique de micro-atmosphère.

II.2.3.1. Technique par contact direct

II.2.3.1.1. Méthode de diffusion sur gélose

C'est une méthode ancienne, mais toujours d'actualité. Elle permet l'estimation qualitative de l'effet de l'huile. Ce test est réalisé par dépôt de l'huile essentielle, à l'aide de disques de cellulose imprégnés d'une quantité connue de l'huile essentielle (***Aromatogramme***) ou de puits creusés dans la gélose et remplis par l'huile essentielle. Après incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues sur gélose ensemencée. Cette méthode sert en général à la présélection de l'activité antimicrobienne des HE, car:

- ✓ Le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure directe de l'activité antimicrobienne des HE, les différents constituants ne diffusent pas tous de la même manière dans le milieu gélosé.
- ✓ Le diamètre d'inhibition varie en fonction de la densité de l'inoculum et de l'épaisseur du milieu de culture. Il est donc nécessaire de standardiser ces conditions pour pouvoir comparer les résultats [82].

II.2.3.1.2. Méthode de dilution

Les huiles essentielles à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit liquide ou solide [83].

Son principe consiste à faire agir en phase liquide des dilutions croissantes de l'huile, après adjonction d'un tensioactif sélectionné [13]. A cause de la faible hydro-solubilité des huiles essentielles, les émulsifiants tels que, le Tween 80 (polysorbate 80), le Tween 20 (poly-oxyethylène 2-sorbitan monolaurate) et l'éthanol sont souvent utilisés pour augmenter la solubilité des composés hydrophobes dans les milieux solides ou liquides [84].

Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de micro-organismes, après incubation, on note la présence ou l'absence de culture. La lecture peut êtrevisuelle ou

à l'aide d'un spectrophotomètre, le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu [83].

- ❖ Cette technique permet de donner au clinicien un chiffre correspondant à la dose minimale inhibitrice **(CMI)** de l'huile essentielle, qu'elle soitbactéricide ou bactériostatique.

- ✓ ***La CMI*** est définie comme étant la plus basse concentration capable d'empêcher une croissance bactérienne visible. La CMI n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur [85].
- ✓ ***La CMB*** est la petite concentration de l'agent inhibiteur ne laissant subsister que 0.01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heurs de culture à 37°C. Ellecaractérise l'effet bactéricide de l'huile essentielle.
- ✓ La détermination de l'effet ***bactéricide*** ou ***bactériostatique*** d'une huile essentielle est réalisée en procédant à un repiquage des zones d'inhibition formées et ne présentant aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu sur milieu de culture.
  - ➢ S'il y a croissance bactérienne, l'huile essentielle a un effet bactériostatique sur la souche testée.
  - ➢ Si au contraire il y a absence de croissance bactérienne, l'huile essentielle présente un effet bactéricide vis-à-vis de cette souche [86].

II.2.3.2. Technique par micro-atmosphère

Cette méthode consiste à déposer un disque de papier filtre imprégné de l'huile essentielle au centre du couvercle d'une boite de pétri, sans que l'huile essentielle entre en contact avec la gélose ensemencée par les micro-organismes. La boite est hermétiquement fermée et placée couvercle en bas à l'étuve à 37°C pendant 24 h.

Il se produit une évaporation des substances volatiles dans l'enceinte de la boite et les cellules sensibles de l'inoculum sont inhibées, donc l'essence n'agit qu'à l'état des vapeurs qu'elle développe à 37°C. La lecture du test porte donc sur la croissance ou non de l'inoculum [87].

Cette méthode ne quantifie pas l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, elle montre seulement l'activité des constituants volatils à température d'incubation [88].

II.3. Activité anti-oxydante

Ces dernières années, les chercheurs se sont intéressés aux propriétés anti-oxydantes que possèdent les huiles essentielles de différentes plantes aromatiques et médicinales [89].

L'activité anti-oxydante de ces composés est exploitée dans la prévention et la lutte contre les maladies comme l'Alzheimer [90], l'artériosclérose et le cancer [91], par des apports supplémentaires dans l'alimentation de ces composés antioxydants, car ces maladies surviennent lors du déséquilibre entre la production de radicaux libres et les enzymes antioxydants. Ces composés semblent agir en jouant un rôle important dans la neutralisation des radicaux libres et dans la décomposition des peroxydes grâce à leurs propriétés oxydo-réductrices [92].

II.3.1. Oxydation ou Stress oxydatif

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération d'oxydants accable le système de défenses anti-oxydantes, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses anti-oxydantes. L'accumulation des espèces oxydantes réactives a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles, dont les cibles biologiques les plus vulnérables qui sont les protéines, les lipides et l'acide désoxyribonucléique [93]. Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols.) [94].

II.3.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réapparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique [95-96].

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons *radicaux libres primaires*, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits *radicaux secondaires* (Radical peroxyle (ROO•), Radical alkoxyle (RO•)], se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [97].

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "*espèces réactives de l'oxygène*" **(ROS).** Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit [radical super-oxyde ($O2^{\bullet -}$), radical hydroxyle (OH•), monoxyde d'azote (NO•)], mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante [l'oxygène singulet (1O2), peroxyde d'hydrogène (H2O2), peroxy-nitrite ($ONOO^{-}$)] [95- 98].La **(**Figure II-2) résume l'origine des différentes espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.

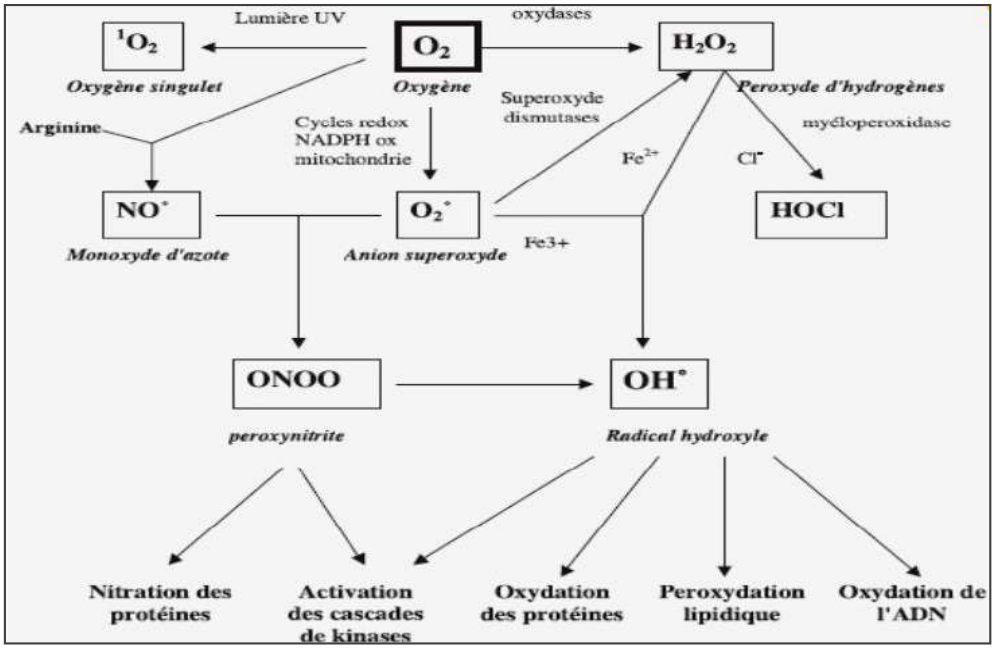


Figure II-2 : Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées en biologie [95].

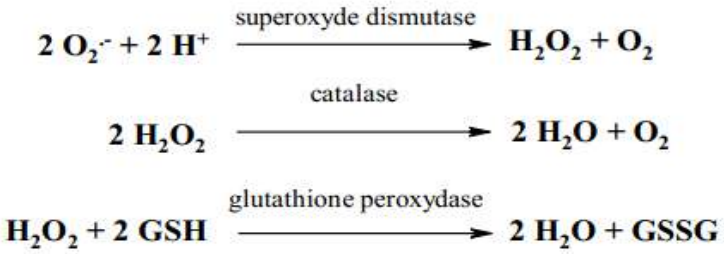
II.3.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS [95].

Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [96]. Ces antioxydants ont deux origines, l'une apportée par l'alimentation sous forme de fruits et de légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque , tandis que l'autre est endogène représentée par des enzymes, tels que les super oxydases dismutases (SOD) et la catalase (rôle de protection), les glutathion peroxydases (GSH-Px) (rôle de détoxication) ou des protéines (ferritine, transferrine, albumine) [99]. Pince mail et De fraigne [100], ajoutent aussi quelques oligo-éléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité de certains enzymes antioxydants.

II.3.3.1. Antioxydants primaires

La cellule est pourvue d'enzymes anti-oxydantes qui sont des systèmes de défense très efficaces puisque les enzymes ont la propriété de pouvoir réaliser un travail de façon permanente. Cette ligne de défense est constituée de super-oxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) [101].Ces enzymes anti-oxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes :



Les antioxydants primaires agissent en diminuant le nombre de radicaux libres, ils sont capables d'interrompre la chaîne radicalaire en cédant un radical hydrogène (H) à un radical libre lipidique. C'est le cas par exemple du BHA (butylhydroxyanisol), BHT (butylhydroxytoluène), PG (gallate de propyle). De ce fait elles contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique [95].

II.3.3.2. Antioxydants secondaires

Ce sont des molécules exogènes, contrairement aux enzymes anti-oxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes [95].

Ces antioxydants agissent en empêchant ou en diminuant la formation des radicaux libres. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [102].

Ce sont des agents complexant les métaux promoteurs d'oxydation comme l'EDTA (l'éthylène diamine tetra acetate), l'acide citrique, des substances décomposant les hydro-peroxydes en composés non radicalaires comme les amines tertiaires et les acides forts ; des protecteurs vis-à-vis des UV comme les carotènes ou enfin des séquestrant d'oxygène comme l'acide ascorbique.

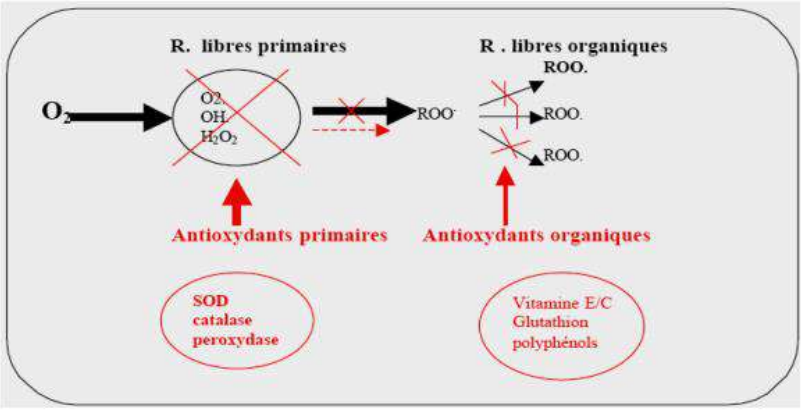


Figure II-3 : Systèmes de défense contre les radicaux libres [95**]**.

II.3.4. Activité anti-oxydante des huiles essentielles liée à leur composition chimique

Les propriétés anti-oxydantes des huiles essentielles sont notamment attribuées, à la présence dans la composition de ces huiles essentielles de composés phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, mais aussi à la présence des mono-terpènes oxygénés tels que le linalool, le 1, 8-cinéole, le géranial, le néral, le citronellal, l'isomenthone. Et en fin à la présence de quelques mono-terpènes hydrocarbonés tels que l'α-terpinène, γ-tepinène, et l'α-terpinolène [90].

II.3.5. Détermination de l'activité anti-oxydante des huiles essentielles

Il existe de nombreuses méthodes de mesure de l'activité anti-oxydante [103]. La plupart de ces méthodes sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux très variés. Ce sont principalement des méthodes dites "d'inhibition " dans lesquelles une espèce chimique capable de générer des radicaux libres est utilisée

avec une substance capable de détecter ces espèces. L'échantillon dont on souhaite mesurer le pouvoir anti oxydant est capable d'inhiber la génération des radicaux. Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. C'est pourquoi on effectue différents tests de mesure de pouvoir antioxydant [104].

Selon Huang et *al* [105], les méthodes d'évaluation de l'activité anti oxydante in vitro peuvent être divisées en deux grandes catégories suivant les réactions mises en jeu :

- Les tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (HAT, HydrogenAtom Transfer), dans lequel l'anti oxydant et le substrat sont en compétition pour les radicaux peroxyles ROO● :

$$ROO^{\cdot} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\cdot}$$

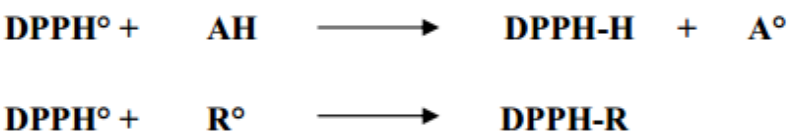
- Les tests basés sur le transfert d'un électron (SET, Single Electron Transfer), dans le cadre desquels on mesure la capacité d'un antioxydant à réduire un oxydant, qui change de couleur quand il est réduit.

II.3.5.1. Méthode de DPPH

La capacité anti-oxydante des huiles essentielles peut être évaluée par la méthode de DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl).Cette méthode est la plus utilisée par de nombreux auteurs, du fait de sa rapidité, son efficacité, et sa reproductibilité.

Le radical DPPH est un radical libre très stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette. Par cette méthode, on considère que l'activité anti-oxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piégeurs des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et un changement de coloration dans la solution initiale.

L'avancement de la réaction est suivi par spectrophotométrie à 516 nm.



Plus un composé possède la facilité de céder son atome d'hydrogène, plus celui-ci est jugé efficace comme antioxydant. Le pourcentage du DPPH restant est proportionnel à la concentration de l'antioxydant. La concentration du composé phénolique nécessaire pour atteindre une disparition de 50% du DPPH à l'équilibre est connue comme la : *IC50* [106].

II.3.5.2. Méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

La deuxième méthode couramment utilisée par de nombreux auteurs est la méthode de ***FRAP***, elle est basée sur la réduction de l'ion ferrique **(Fe^{3+})** en ion ferreux **(Fe^{2+})** par un composé antioxydant [107]**.** Pour cette méthode, l'ion ferrique est complexé avec2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,2,5-triazine (TPTZ) et à la suite de la réduction du fer, le complexe devient coloré. Le pouvoir antioxydant est déterminé par une simple mesure de l'absorbance à 595 nm.

Une variante de la méthode FRAP, utilisant le cuivre à la place du fer, a été récemment développée et est appelée CUPRAC [108].

II.3.5.3. Méthode de blanchissement de la β-carotène

La β-carotène est apporté par l'alimentation. Elle est douée de plusieurs capacités : elle est précurseur de la vitamine A, elle capte l'oxygène singulet sous faible pression d'oxygène et, avec les autres caroténoïdes, elle a le pouvoir de terminer les réactions en chaine de lipo-peroxydation. Elle protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante : elle s'oppose à la géno-toxicité de nombreux agents [109]. La présence de nombreuses doubles liaisons au sein de leurs structures en fait des antioxydants reconnus, notamment par leur effet protecteur vis- à- vis des radiations solaires (UVA) [110].

La technique de blanchissement de la β-carotène est une technique de spectrophotométrie dans l'ultraviolet, initialement développée par Marco [111], puis légèrement modifiée par Miller [112]. Elle mesure l'activité anti-oxydante envers l'acide linoléique relativement à la β-carotène.

Elle consiste à mesurer, à 470 nm, la décoloration du β-carotène résultant de son oxydation par les produits de décomposition de l'acide linoléique. La dispersion de l'acide linoléique et du β-carotène dans la phase aqueuse est assurée par du Tween. L'oxydation de l'acide linoléique est catalysée par la chaleur (50 °C) de manière non spécifique [113].

L'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, et des hydro-peroxydes conjugués, ces radicaux vont par la suite oxyder le β-carotène hautement insaturé, ce qui entraine la perte de ses doubles liaisons, et par conséquent la disparition de sa couleur rouge. Cependant la présence d'un antioxydant (extraits, témoins positif) permet de neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique, et donc la prévention de l'oxydation et le blanchissement du β-carotène [114].

L'avantage de cette méthode est d'être sensible, rapide et simple. Elle présente également l'avantage de pouvoir être couplée à la chromatographie sur couche mince [115].

II.4. Conclusion

- Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et leurs huiles essentielles en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse. D'autres ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes …etc.
- C'est pourquoi nous nous sommes intéressés dans la présente recherche à l'étude de ces deux activités biologiques en vue de leur importance dans le temps actuel.

III. Présentation des plantes étudiées

III.1. Introduction

Au travers des âges l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tels que nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très anciennes et a toujours était faites de façon empirique

[116].

De nos jours, nous comprenons de plus en plus que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnues et répertoriées, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne [117].

Aujourd'hui, on estime que les principes actifs provenant des végétaux représentent environ 25% des médicaments prescrits. Soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes. En Afrique, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui contribuent pour 90% du traitement médical. Jusqu'en 2004, on a estimé que près de 75% de la population africaine ont toujours recours aux plantes pour se soigner. De plus ce type de soin est considéré souvent comme faisant partie de la médecine douce[118].

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. Actuellement, on compte environ 800 000 espèces végétales et parmi elles, seulement 10% sont capables de synthétiser une essence ou bien l'huile essentielle, c'est-à-dire les plantes aromatiques ; parmi ces plantes *Ruta Chalepensis* et *Cuminum Cyminum* [119].

III.2. L'espèce *Rutachalepensis*

III.2.1. Généralité

Généralement arbres ou arbustes, parfois à épines ou aiguillons ; à lacunes sécrétrices disséminées (points translucides) contenant des huiles essentielles aromatiques [120]**.**

Les espèces de *Ruta* les plus connues sont très proches en forme, composition et en propriétés pharmacologiques: ***Ruta chalepensis :*** fidjel ***Ruta montana :*** c'est la rue des montagnes (synonymes : *Ruta legitima Jacq*, *Ruta tenuifolia Gouan*) ou bonne rue [121], appelée vulgairement en Algérie : ***fidjl et el-djbel*** Ou ***Fidje la***, a une odeur fétide très intense, se trouve sur les coteaux arides et dans les endroits secs et pierreux de la région méditerranéenne [122].

Ruta graveolens :graveolens vient du latin « gravis » qui signifie fort et du verbe « olere » qui veut dire sentir.

III.2.1.1. Historique

Ruta chalepensis L. est une plante aromatique, appartenant à la famille des rutacées, appelée communément par la population locale « Fidjel» [123].

Ruta chalepensis L. est une plante médicinale encore utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays comme laxatif, anti-inflammatoire, analgésique, antispasmodique, abortif, antiépileptique, emménagogue et pour le traitement de pathologies cutanées [124].

III.2.1.2. Appellation

Les différentes appellations du *Ruta* sont regroupées dans le Tableau III-1 suivant :

Tableau III-1:Appellation de plante selon la langue [125].

Langue	Nom
Anglaise	Alleppo rue, égyptien rue, fringedrue,syrianrue,ruda
Arabe	Bou ghans ,fidjel jibel , fijan , fidjel , fidjla , routsa , rusta , ruta , sadab , sadhab , chadhab
Berbère	Aourmi ,dje , issin , zent , issel
Espagnol	Abrua , , arruda , hierbapiojera , rudabracteosa , , rudafina , rudapestosa , rurda
Française	Rue, rue d'Alep, rue de chalep
Italienne	Ruta d'aleppo
Néerlandaise	Franje-wijnrui

III.2.1.3. Etymologie

Le nom générique des rutacées est ancien. Dérivé d'un mot grec signifiant « qui libère », il fait allusion aux propriétés médicinales de ces plantes qu'avait la réputation de « soulager » tant de maux de l'empoisonnement aux troubles psychiques. *Chalepensis* signifiant « d'Alep » (ville de Syrie), indique le lieu d'origine des spécimens ayant servi à identifier et classer cette espèce en premier lieu ou simplement l'abondance de celle-ci, dans la région [126].

III.2.2. Etude botanique

III.2.2.1. Classification

La place de l'espèce dans la systématique peut être expliquée par le Tableau III-2 Suivant [127] :

Tableau III-2 : Classification botanique de la plante *Rutachalepensis.*

Règne	*Plantae*
Sous-règne	*Tracheobionta*
Division	*Magnoliophyta*
Classe	*Magnoliopsida*
Sous-classe	*Rosidae*
Ordre	*Sapindales*
Famille	*Rutaceae*
Genre	*Ruta*

III.2.2.2. Description Botanique

Ruta chalepensis, appelée aussi Rue de Chalep, est une espèce de plante à fleurs de la famille des Rutaceae. Originaire d'Eurasie et d'Afrique du Nord, cette plante médicinale vivace est une espèce largement introduite ailleurs [123]. Espèce glabre, non glanduleuse dans le haut, de 30-80 cm, ses feuilles plus larges (d'où le synonyme *Ruta macrophylla*, « Rue à grandes feuilles ») sont composées (les inférieures en forme de stipules et pétiolulées), chacune divisées en plusieurs segments qui sont subdivisés en plus petites folioles ovales-oblongues L'inflorescence est un racème de racèmes de fleurs composées de quatre ou cinq pétales jaune vif avec des bords frangés laminés. La grappe fructifère plus corymbi forme et moins lâche donne comme fruit des capsules parcheminées qui sont divisées en lobes pointus. La dissémination des graines est barochore [128].



Figure III-1 : La plante *Ruta chalepensis* L.

III.2.3. Utilisation de plante :

Plante ornementale des jardins, la rue est considérée comme mellifère et sa présence éloigne les vipères. Elle repousse les insectes [129] et est utilisée contre la gale et les parasites de la tête [121].

Les parfumeurs utilisent son huile essentielle comme arôme. Dans le langage des fleurs, la rue est le ***symbole de la grâce***.

On récolte les feuilles toute l'année et les fleurs à la fin de l'été. Les feuilles fraîches, quoique très amères, sont comestibles, on les utilise dans des sauces et pour aromatiser le gibier ou le fromage blanc, mais en petite quantité ; c'est un condiment prisé des Anglo-Saxons. Elle entre dans la préparation d'un beurre aux herbes. Elle aromatise aussi certaines boissons alcoolisées. Consommées souvent fraîches, de préférence les tiges feuillues se conservent par séchage. On fabrique avec cette plante le « vinaigre de rue » et l' « huile de rue » en la faisant infuser dans du vinaigre ou dans l'huile [130].

La plante est cultivée en Europe centrale depuis le Xème siècle, elle servit de contre poison. Les Grecs considèrent qu'elle améliorait la vue .Le moine [131] en utilisant l'essence extraite de la plante à manier avec précaution, car son huile essentielle est toxique.

C'était autrefois une plante emménagogue et abortive en effet, la rue exerce une action excito-motrice nette sur l'utérus. Sa sève irrite les peaux sensibles. On l'emploie pour les problèmes oculaires et en gargarisme pour les maux de gorge. Les feuilles soignent les phlébites et les varices. Son utilisation est déconseillée pour les femmes enceintes [132].

III.2.4. Etude chimique

La diversité des voies de métabolisme secondaire des Rutacées se reflète donc dans la chimie des espèces du genre *Ruta* L. à partir desquelles ont été isolés notamment des alcaloïdes, des amides, des coumarines, des lignanes, des flavonoïdes, des tri-terpénoïdes, et une huile essentielle [133].

III.2.4.1. Les alcaloïdes

C'est le nom générique de substances azotées d'origine végétale, de structure souvent complexe et de poids moléculaire élevé. Ce sont des bases primaires, secondaires et tertiaires ou des hydrates d'ammonium quaternaires renfermant des noyaux hétérocycliques

L'espèce *Ruta chalepensis* L est riche en alcaloïdes qui présentent des intérêts pharmacologiques que le tableau résume clairement [134].

Tableau III-3 : Relation entre structure chimique et activités pharmacologiques de quelques alcaloïdes isolées de l'espèce *Ruta Chalepensis L.*

Alcaloïdes	Activités
Dictamine	Spasmolytique Antibactérienne Mutagénique Photomutagenecité Phototoxicité
Skimmianine	Spasmolytique Mutagénique Photomutagenecité Phototoxicité
Arborinine	Spasmolytique Inhibition de l'acétyl-beta- méthyle choline : Responsable de la contraction des grandes artères
Ruta cridone	Mutagénique

III.2.4.2. Les coumarines

L'expression coumarine a été introduite en 1820 par VOGEL pour désigner tout hétérocycle ayant un oxygène (

Figure III-2).

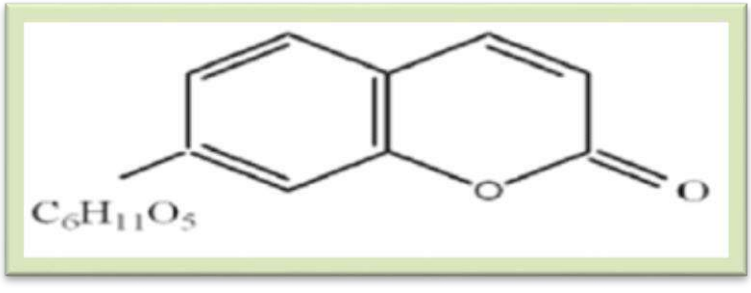


Figure III-2 : Squelette de coumarine.

Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés de types (C6C3) avec neuf atomes de carbones. Ils sont considérés comme étant des 2H-1-benzopyran-2-ones, donc, les lactones des acides O-hydroxy-2-cinnamiques [135].

Les coumarines sont largement répandues chez les plantes supérieures, particulièrement dans certaines familles : Fabacées, Astracées, Ombelliferées et Rutacées. C'est dans ces dernières que sont rencontrées les molécules les plus complexes [136].

Les coumarines appartiennent à la classe des composés phénoliques, elles constituent, avec les flavonoïdes, les chromones et les isocoumarines, un très vaste ensemble de substances. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'unnoyaubenzopyrane [137].

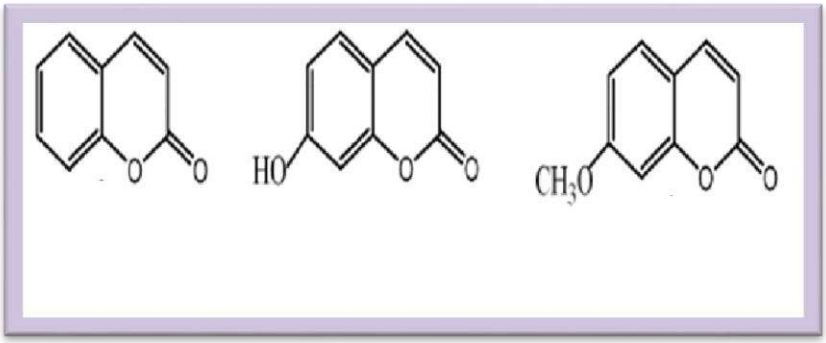


Figure III-3 : Structure moléculaire de la coumarine, l'umbelliferone et l'herniarin.

Les coumarines sont connues pour leurs effets toxiques sur les animaux. En effet, Gray et son équipe [138] ont montré que l'ingestion ou le contact avec les plantes contenant certaines quantités de coumarines peuvent avoir des effets nocifs sur l'organisme non adapté à leur détoxification [139].

Le Tableau III-4 résume les intérêts pharmaceutiques de quelques coumarines isolés de *Ruta chalepensis* L.

Tableau III-4 : Relation entre la structure chimique et activité pharmacologique de quelques coumarines isolées de *Ruta chalepensis L.*

Coumarines	Effets pharmacologiques
Chalepensine	Antifertilisant
Xanthylétine	Antifongique
Coumarine	Mutagène
Xanthotoxine	Antifertilisant, spasmolytique, contre la propagation des virus en utilisant l'ADN, antibiotique, ralentit la division cellulaire, photo toxique, antibactérien, PUVA thérapie, inhibe la prolifération des lymphocytes
Bérgaptène	Spasmolytique, antibiotique, photomutagénique, photo toxique, antifértilisant.

III.2.4.3. Les flavonoïdes

On trouve chez les *Ruta* L., des flavonoïdes glycosylés appartenant en particulier aux groupes des flavones comme la Rutine qui est largement répandue chez *Ruta chalepensis* L. Leur mode de substitution oxygénée rappelle leur biogènese, issue d'une unité cinnamique à l'origine de carbone des cycles B et C et de trois unités acétiques à l'origine de cycle A, pratiquement toujours porteur d'atomes d'oxygène [140].

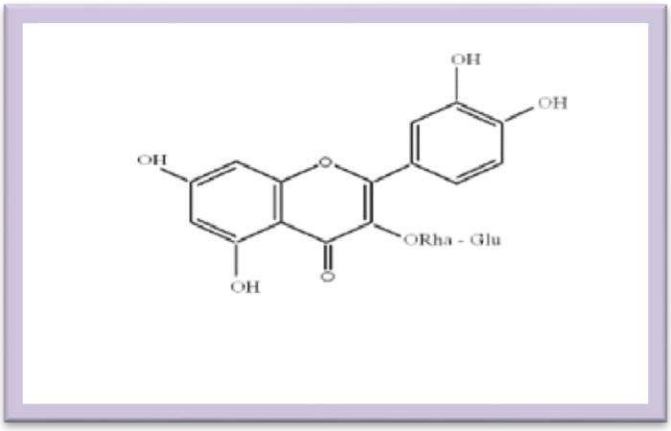


Figure III-4 : Structure de la rutine.

Les flavonoïdes sont essentiellement des médicaments de l'insuffisance veineuse, leur action se situe au niveau des petites veines ou des capillaires actionne de la vitaminique P. Ce sont des toniques veineux et des protecteurs capillaires.

Ainsi, il a été prouvé que les anthocyanines ont une activité anticancéreuse, réduisant la fatigue oculaire, contrôlent le diabète, améliorent la circulation sanguine, etc.… [135].

III.2.4.4. Les lignanes

Les lignanes sont issus du couplage oxydatif intramoléculaire des deux unités phényl propanoiques issues du métabolisme cinnamique

Les lignanes possèdent des propriétés biologiques intéressantes telles que :

- Inhibition d'enzymes, en particulier de la phospho diesterase de l'AMPC (Adénosinemonophosphate cyclique) et des enzymes de la chaîne respiratoire.
- Activité antihypertensive du bis-D-glucoside de (+)-pinorésonol.
- Activité antimitotique, hépatoprotectrice et antivirale [140140].
- Le lignane joue un rôle d'un récepteur hormonal qui se lié à une hormone qui peut déclencher l'activation ou l'inhibition [141].

III.2.4.5. Huile essentielle

III.2.4.5.1. Caractéristiques organoleptiques

Cette huile essentielle est extraite des sommités fleuries de la plante et surtout des feuilles séchées à l'ombre. L'aspect de l'essence aromatique de *Ruta chalepensis* L. dépend des procédés d'extraction de ces essences ou elles peuvent être liquide ou une pâte visqueuse, avec une odeur très forte, nauséabonde ou fétide et une saveur aromatique, amère, âcre et chaude [121]**.**

III.2.4.5.2. Composition chimique

Une huile essentielle de *Ruta chalepensis* L contient une dizaine de substances (cétones, alcools, esters, terpènes) et un hétéroside et la rutine (ou rutoside).

Les composants majeurs sont 2-undecanone, 2-nonanone, 2-nonyl acétate,

2-decanone, 2-nonanol, 2-undecanol et 2-tridecanone [142].

La composition chimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L est représentée dans le Tableau III-5 suivant :

Tableau III-5 : Composition chimique de l'huile essentielle *Ruta Chalepensis L* [143].

Composition	Pourcentage
a-pinène	0,1
Limonène / 1-8-	0,1
cineole	0,1
g-terpinène	0,1
p-cymene	0,1
6-methyl-5-heptan-	-
2-	13,8
one	15,3
Gurjunène	2,8
2-nonanone	0,7
2-nonyl acétate	2,1
2-decanone	0,2
Camphre	47,7
2-nonanol	2,5
Linalol	2,2
2-undecanone	1,0
2-undecanol	0,6
2-dodecanone	0,9
2-tridecanone	
Elemol	
Thymol	

III.2.4.5.3. Utilisation de l'HE de *Ruta chalepensis*

L'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L était considérée comme un moyen important de la protection contre le mal surnaturel dans beaucoup de parties du monde. Toutes les sources de l'ethnobotanique fondamentale ont été examinées pour l'information au sujet des usages et l'importance de cette plante. Les applications les plus fréquentes sont en rapport avec les vertus médicinales, vétérinaires ou protectrices**.**

Les résultats montrent une haute correspondance des usages médicinaux principaux aux propriétés pharmaceutiques de la plante : emménagogue et abortifacient ; digestif ; améliorer la circulation du sang ; traiter le rhumatisme ; traiter des infections et des inflammations et pour soulager la douleur [144].

III.2.4.5.4. Danger de toxicité de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L exerce localement une action irritante, en usage interne elle peut provoquer des accidents de gastro-entérite intense avec vertiges, tremblements et convulsassions [121].

III.2.5. Propriétés biologiques et pharmacologiques du *Ruta chalepensis*

III.2.5.1. Propriétés biologiques

Plusieurs espèces de *Ruta* sont sources de diverses classes de produits naturels avec des activités : antifongiques, phytotoxique et antivénéneux.

Autres activités citées comme suit : Abortif ; Analgésique; Anti fertilité; Anti-inflammatoire; Antiseptique (contre : *Bacillus, Candida, Escherichia, Microsporium, Pseudomonas, Staphylococcus*) ; Antispasmodique ; Aphrodisiaque; Arachnifuge; Bactéricide; Candidicide; Cardiotonique; Decongestant; Digestive; Émétique; Embryotoxique; Emménagogue; Fébrifuge; Immunomodulateur; Insectifuge; Molluscicide; Sédative; Stomachique; Sudorifique; Vermifuge; Vulnéraire ; antipyrétique, antiparasitaire, antihelminthique ; l'extraits aqueux de la rue a une activité hypotensive par un effet direct sur le système cardiovasculaire[145].

III.2.5.2. Propriétés pharmacologie

Ruta chalepensis est connue depuis l'antiquité comme une plante abortive, mais c'est une plante abortive qui tue aussi la mère ou au minimum induit de graves troubles hépato-rénaux. La plante entière serait spasmolytique, mais par contre favoriserait les contractions utérines. La rue est traditionnellement utilisée pour favoriser l'apparition des règles (emménagogue) et comme anaphrodisiaque chez les hommes. *Ruta chalepensis* est antihelminthique (poison neurologique pour les parasites). L'huile

essentielle est rubéfiante et utilisée en friction sur les zones douloureuses des articulations ou des muscles.

La rue n'est quasiment plus utilisée en Europe ; par contre elle reste une plante appréciée par les tradipraticiens (notamment les Amérindiens) en Amérique du Sud (Equateur, Pérou,Bolivie, Chili, Argentine). En général ils l'utilisent en mélange avec d'autres plantes (sauge, eucalyptus, poivrier molle, romarin, camomille) comme antispasmodique digestif, régulateur des règles et même chez le jeune enfant agité et qui pleure [146].

III.3. L'espèce *Cuminum cyminum*

III.3.1. Généralités

Le **cumin** (*Cuminum cyminum*) est une plante herbacée annuelle de la famille des Apiaceaes (ombellifères). Les synonymes de cette épice sont nombreux et incluent le « cumin blanc », « cumin de Maroc » ou « faux anis ». Il pourrait être confondu avec le cumin des prés ou le cumin noir, qui provient des plantes *Nigellasativa* ou *Buniumpersicum* ou peut-être *Cuminum nigrum*, qui a une graine plus longue que celle du cumin blanc [147].

III.3.2. Historique

Le cumin (ou *Cuminum* en latin) est originaire du Proche-Orient. Il y est apparu comme épice, à fumer ou pour apprêter des mets, puisque son goût est terreux lorsque non apprêté. Il est de la même famille que le persil.

Epice et plante médicinale très populaire dans l'Egypte ancienne, le cumin était prescrit contre les affections digestives et respiratoires, ainsi que pour soigner les caries dentaires. Sa consommation est recommandée en cas de digestion difficile, flatulences, douleurs abdominales et stomacales, ainsi que pour le traitement des inflammations rhumatismales. En outre, il favorise les menstruations[148].

Le fruit du cumin est un ingrédient essentiel dans de nombreux mélanges d'épices : baharat arabe, poudre de curry Indienne, pâte de curry Thaïlandaise et condiment cajun [149].

III.3.2.1. Appellation

Les appellations de l'espèce *Cuminum cyminum* sont représentées dans le Tableau III-6 suivant [147] :

Tableau III-6 : Appellations de la plante *Cuminum cyminum.*

Langue	Appellation
Ougaritique	Kmn
Phénicien	Kmn
Arabe	Kamun
Akkadien	Kamunu
Mycénien	Kumino
Grec	To kuminon
Latin	Cuminum
Français	Cumin / coumin

III.3.2.2. Etymologie

Le cumin est cultivé en ile de malte comme il est cultivé ici le blé, on l'appelle dans le pays anis acre, ou cumin acre, pour la différentier d'avec celle de l'anis qu'on cultive de même, et que les Maltais appellent anis doux, ou cumin doux [150].

III.3.3. Etude botanique

III.3.3.1. Classification

III.3.3.2. Description botanique

Le cumin est une plante bisannuelle. La première année, des réserves sont engrangées dans une racine pivotante ressemblant à une carotte. Au-dessus du sol, on ne voit qu'un feuillage vert lumineux, également semblable à celui des carottes. Ce n'est que la seconde année, de mai à juillet, que pousse l'ombelle atteignant fréquemment plus de 1 m de hauteur, formée de fleurs blanches, souvent rougeâtres.

Le cumin a une racine pivotante et sa tige est striée et glabre, les feuilles sont divisées en segments filiformes.

Les fleurs sont blanches ou roses groupées en ombelles, elles apparaissent en juillet et sont suivies de fruits cannelés renfermant des graines brun pâle. Son fruit est un akène verdâtre ou grisâtre, de 5 à 6 mm de diamètre, ovoïde, hérissé de poils et sillonné, à forte odeur aromatique [151].



Figure III-5 : La plante *Cuminum cyminum.*

III.3.4. Utilisation de plante

Plante ombellifère d'Europe de l'Est. Maintenant, elle est plus régulièrement importée d'Afrique du nord, de l'Iran, de la Chine et des Amériques et le marché important se situe en Europe centrale. La portion consommable de la plante est la graine qui est préalablement séchée, et éventuellement pulvérisée, pour en faire une épice. Il est également possible d'en obtenir des huiles essentielles par distillation, contenant majoritairement du cuminaldéhyde et de l'alcool cuminique.

Le cumin entre dans la composition d'aromates très différents comme le cari, le chili et le garammasala (mélange d'épices traditionnelles du Nord de l'Inde), mais il est à ajouter modérément aux plats préparés, car en grande dose son goût est fort, sa saveur chaude, piquante et âcre. On peut l'utiliser en remplacement du carvi dans certains mets, et il reste l'élément essentiel dans la confection de la poudre de massalé. Un autre usage intéressant est l'incorporation du cumin dans le gouda et l'édam.

Il est très utilisé dans la majorité du Nord de la Chine, dans les régions musulmanes ou autrefois musulmanes (du Xinjiang à la Mandchourie), et aujourd'hui beaucoup à Pékin, pour assaisonner l'agneau. Il permet de réduire les odeurs fortes de la viande rouge ou des poissons, de la désinfecter grâce à ses vertus antiseptiques résistantes à la cuisson, et les parfumer ainsi que d'augmenter l'appétit.

À travers les âges, les potages, le pain, la volaille et le poisson ont été *cominés*, principe qui consistait à incorporer ou badigeonner ces plats de cumin. D'autres idées de plats dans lesquels le cumin peut être ajouté sont les tajines du Maroc, le couscous au poisson tunisien, le lablabi, les merguez et le *ras-el-hanout*, et le gaspacho et empanadas d'Amérique centrale.

Les habitants de l'île de la Réunion sont réputés pour l'ajouter à leurs mets, sans toutefois le faire pousser directement sur l'île.

Les parfums, puisqu'il entre dans leur composition sous forme d'huile, font eux aussi partie du marché du cumin [152].

III.3.5. Etude chimique

Les graines de cumin contiennent environ 15% d'huile fixe [153], constituées essentiellement de triglycérides (55%), d'esters de stérol (25%) et d'acides gras libres (10%) [154]. Elles contiennent aussi 2,5 à 10 % d'huile essentielle, constituée de 26% à 35% d'aldéhydes terpéniques; et 11.10% terpinèn-7-al gamma ; et encore constituée de 25.54% aldéhydes aromatique ou bien cuminaldéhyde, et à la fin 40.4% monoterpène.

En outre, elles renferment 13% de résine, 7% de pentosanes, des tanins, de l'aleurone 59% de fibres diététiques (dont 48.5% sont des fibres diététiques insolubles et 10.5% sont des fibres diététiques solubles), 8,3% d'amidon des protéines, de la cellulose, des sucres [155], des flavonoïdes des coumarines, des acides phénoliques, des caroténoïdes.

L'étude de la fraction protéique a révélé que le cumin contient 18.25% de protéines, qui incluent 18 acides aminés avec les pourcentages suivants : 2.99% d'acide glutamique, 1.41% d'acide aspartique, 0.74% d'arginine, 0.58% de lysine, 0.67% de leucine, 0.46% d'isoleucine, 0.38% de thréonine, 0.52% de valine, 0.05% de cystéine, 0.04% de méthionine, 0.50% de sérine, 0.91% de glycine, 0.53% d'alanine, 0.26% de

tyrosine, 0.54% de phénylalanine, 0.28% d'histidine, 0.01% de tryptophane, et 0.65% de proline**[**156**]**.

L'analyse par la Chromatographie en phase gazeuse (CPG) a montré que les graines de cumin contiennent 56.54% de monoterpènes, 0.10% de sesquiterpènes, 43.2% d'aldéhydes, et 0.3% d'alcools [157].

Selon Harrorne et Williams [158]le cumin contient : de l'apigénine et de lalutéoline 7- glucoside, de l'apigénine et de la lutéoline-glucuronosyl glucoside, ainsi que les glycosides de la quercétine et du kaempferol[159].

III.3.6. Huile essentielle du cumin

L'analyse de l'huile essentielle (HE) comprend quatre principaux composés, à savoir. safranal (16,8 ± 6,79 à 29,0 ± 3,7%), γ-terpinène-7-al (13,52 ± 2,75 à 25,47 ± 6,89%), Cuminaldéhyde (17,5 ± 3,0 à 22,29 ± 1,3%) et γ-terpinène (14,1 ± 1,4 de 19,6 ± 6,2%). Leur somme constitue la majeure partie de l'HE et allait de 95,2% à 99,9% d'HE totale. Les aldéhydes identifiés variaient de 34,4% dans l'adhésion Bajestan à 49,8% du total dans l'HE adhésion Ferdos. En général, les hydrocarbures et les hydrocarbures monoterpéniques de sesquiterpènes dans adhésions Khorasan étaient inférieurs à ceux des autres écotypes signalés ailleurs [155].

III.3.7. Propriétés biologiques et pharmacologiques

Les épices sont intensivement employées en médecine, pharmacie, parfumerie, et les chercheurs à mettre en évidence certaines de ses propriétés.

III.3.7.1. Activité antibactérienne

En 1994 Shetty, Singhal et Kulkarni ont rapporté que l'huile des graines de cumin a des propriétés antimicrobiennes [160]. Des tests se fait *in vitro*, sur quinze bactéries l'activité antibactérienne des hydrosols de seize épices. Les hydrosols du cumin ont été actifs, seulement sur *Bacillus brevis, Entérobacter aerogenes* et *Escherichia coli.*

L'huile essentielle du cumin a montré un effet antibactérien, contre *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* [161].

III.3.7.2. Activité antifongique

L'étude *in vitro*, a montré une activité antifongique des hydrosols du cumin contre quelques mycètes de microbes pathogènes de plantes [162].

O'Riordan et Wilkinson [163] ont constaté l'absence de la contamination par l'aflatoxine, dans les échantillons commerciaux du cumin.

III.3.7.3. Activité ovicide

Les vapeurs d'huiles essentielles ont été examinées contre les œufs de deux insectes de produits stockés (*Tribolium confusum, Ephestia kuehniella*). Les vapeurs ont montré une toxicité variable vis-à-vis des œufs. Celles du cumin étaient plus actives contre les œufs d'*Ephestiakuehniella* dont le taux de mortalité a atteint 100% [163].

III.3.7.4. Activité anti-oxydante

L'huile essentielle du cumin a montrée des activités anti-radicalaires et anti-oxydantes. Les résultats de l'essai de blanchissement du β-carotène ont été meilleurs que ceux de l'essai du balayage du radical libre 2-2diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) [164].

En présence des extraits du cumin obtenus par de l'eau chaude et par le chlorure de sodium (NaCl), Muthamma Milan [165] ont constaté des augmentations maximales dans les activités enzymatiques de l'amylase, la lipase et la phytase. D'autre part ces deux extraits ont montré une activité anti-radicalaire très élevée par rapport à l'huile essentielle.

III.3.7.5. Effet hypoglycémiant

L'administration orale de l'extrait aqueux du cumin pendant 6 semaines aux rats diabétiques d'alloxane, a eu comme conséquence une réduction considérable du glucose, de l'hémoglobine glycosylée et l'empêchement de la diminution du poids corporel. Le traitement a provoqué aussi une réduction du cholestérol, des phospholipides, des acides gras libres et des triglycérides dans le plasma et les tissus [166].

III.3.7.6. Effet anti-carcinogène

En présence d'un carcinogène du colon la 1,2-dimethyl hydrazine (DMH), l'activité des mucinases et des β-glucuronidases est sensiblement augmentée. Cette augmentation a comme conséquence une hydrolyse des mucines protectrices du colon et des

glucuronides conjugués. L'hydrolyse des glucoronides libère des toxines, ce qui peut engendrer le risqued'un cancer du côlon. Des travaux sur des rats ont montré que le cumin peut protéger le colon en diminuant l'activité des mucinases et des β-glucuronidases en présence ou en absence du DMH [167].

III.3.7.7. Effet anti -hyperglycémiant

L'effet anti-hyperglycémiant a été étudié sur 27 lapins sains après administration gastrique de l'eau, de tolbutamide et des préparations traditionnelle de 12 plantes comestibles.

Pour ce but une solution de dextrose a été infusée en sous-cutanée. Le cumin a montré des diminutions significatives pour chaque point de tolérance du glucose [168].

Une autre étude élaborée parwillatgamuwa et ses collaborateurs [169], sur des rats diabétiques induits par la streptozotocine a montré une diminution de l'hyperglycémie et de la glucosurie, après un régime diététique contenant 1.25% de la poudre de cumin.

Cette influence était évidente autour de la troisième semaine de l'alimentation et l'effet était de plus en plus prononcé vers la fin de la 8ème semaine. Ceci a été également accompagné par une amélioration des poids corporels, des changements métaboliques comme la diminution de l'urée sanguine ainsi que les excrétions de l'urée et de la créatinine chez les animaux diabétiques.

III.3.7.8. Autres effets

Les extraits méthanoliques du cumin a exercé un certain degré de protection, contre les formes de dommage biomoléculaire qui touchent les protéines, les lipides et l'ADN causés la peroxynitrite [170].

Platel et Srinivasan [171] ont étudié l'influence du cumin et d'autres épices sur le taux de la sécrétion de la bile, ainsi que sa teneur en acides biliaires. Les épices sont administrées soit par le biais d'une ingestion diététique soit sous forme d'une dose orale simple.

L'ingestion diététique a influencé significativement la sécrétion de la bile et sa teneur en acides biliaires, tandis que l'ingestion par dose simple a influencé seulement la teneur en acides biliaires. Les résultats de Janahmadi et ses collaborateurs [172], ont démontré que l'application extracellulaire d'huile essentielle du cumin (1% et 3%) chez les mollusques a nettement diminué la fréquence de l'activité spontanée induite par le

Pentylenetetrazol, d'une façon dépendante de la concentration et du temps. Selon ces auteurs ceci est probablement due à un effet sur les canaux calciques (Ca+2) et potassiques (K+).

Selon Frage et Abozeid cité par Al-Bataina et *al,* le cumin contient les afroles, un composé mutagénique qui s'est avéré dégradé par cuisson et/ou irradiation.

Les études mutagéniques sur différentes souches de *Salmonella typhimurum* (TA97a, TA98, TA100, et TA102) ont montré une action mutagénique oxydante très faible provoquée par le cumin [173].

III.4. Conclusion

Ruta chalepensis L et *Cuminum cyminum* sont des plantes médicinales qui ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines ; parce qu'elle contient des composants thérapeutiques comme : les flavonoïdes, les coumarines et les huiles essentielles et ces derniers ont des activités anti-oxydantes et antimicrobien citant les chercheurs à étudier ses deux activités des plantes en raison d'une conscience croissante des effets négatifs provoqués par les drogues de médecine conventionnelle .

IV. Matériel et méthodes

IV.1. Introduction

Dans le cadre de la valorisation et de la mise en évidence des activités biologiques (activité antibactérienne et anti-oxydante) des huiles essentielles de deux plantes médicinales : *Ruta chalepensis* et le *Cumin* (*Cuminum cyminum*), obtenues par deux méthodes d'extraction (*Hydro-distillation classique* et *Induction électromagnétique*) nous avons effectué des études expérimentales *in vitro* au niveau de quatre structures différentes :

- Laboratoire universitaire de biologie, Hall technologique, Université YAHIA Fers de Médéa.
- Laboratoire d'analyses médicales, unité de bactériologie, de l'hôpital Mohamed Boudiaf, Médéa.
- Laboratoire d'hygiène, Direction de Santé Publique (DSP), Médéa.
- Laboratoire d'analyses physico-chimiques de l'unité « ANTIBIOTICAL » du groupe SAIDAL, Médéa.

Cette partie expérimentale a été réalisée dans la période allant du mois de Février jusqu'au mois de Mai, 2015.

Afin d`atteindre nos objectifs, nous avons utilisé différents protocoles et méthodes expérimentales comprenant des techniques scientifiques classiques et modernes.

IV.2. Matériel

Le matériel utilisé dans cette étude pour effectuer les différents essais expérimentaux est de deux types : matériel biologique et non biologique.

IV.2.1. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé est présenté dans letableau IV-1 suivant :

Tableau IV-1 : Matériel non biologique utilisé.

Type	Equipement	Verrerie
Matériel non biologique	– Chauffe ballon – Plaque chauffante – Etuve – Réfractomètre – Densitomètre – Spectrophotomètre UV-VISIBLE.	– Ballon 1000 ml – Réfrigèrent – Ampoule à décompter – Tubes en verre – Pipettes graduées

IV.2.2. Matériel biologique

IV.2.2.1. Matériel végétal

Notre étude a porté sur deux plantes médicinales très répondues en Algérie : *Ruta chalepensis* L et le *Cumin* (*Cuminum cyminum* L) de la région de Médéa.

- **Identification**

L'identification botanique de l'espèce *Ruta chalepensis* L a été faite par Dr KARAHACANE T, spécialiste en agronomie au centre universitaire de Khemis Miliana.

- ✓ Les graines de *cumin* utilisées sont obtenues des centres commerciaux spécialisés des plantes aromatiques et médicinales. Après nettoyage et tamisage, les graines sont conservées dans des bacs à l'abri de la lumière à température +40C.
- ✓ *Ruta chalepensis* L poussant à l'état spontané, a été récoltée durant le mois de mars à la station de Batti de la wilaya de Médéa. Algérie.

Les caractéristiques géographiques et bioclimatiques de Médéa sont résumées dans le Tableau IV-2 suivant :

Tableau IV-2 : Coordonnés géographiques et climatique de Médéa [174].

Station	Médéa
Etagebioclimatique	Semi-aride
Altitude (en m)	920
Latitude nord	36° 16' 3"
Longitude est	2° 45' 0"
Pluviométrie (mm/an)	entre 800 mm (au nord) et 200 (au sud)

- ✓ Seule la partie aérienne de la plante est concernée, les bouquets ou touffes sont coupés à leur partie inferieure à l`aide d`un sécateur.
- ✓ Après la récolte, le matériel végétal a été débarrassé des débris, puis séché à l'air libre et à l'obscurité pendant une dizaine de jours. Il est, ensuite, conservé dans des sacs propres à labri de la lumière jusqu'au moment de l'utilisation.

IV.2.2.2. Bactéries d'étude

Le choix des bactéries a été porté sur des souches fréquentes en pathologies humaines et en vue de leur pathogénicité. Ces espèces sont souvent responsables de problèmes majeurs de santé publique, et par leur résistance naturelle vis-à-vis divers antibiotiques.

Les bactéries-cible utilisées sont présentées dans le Tableau IV-3 elles appartiennent à deux groupes taxonomiques bactériens. Au total sept souches bactériennes d'origine clinique, dont 6 bactéries Gram –et une bactérie Gram+.

Tableau IV-3 : Présentation des différentes souches bactériennes testées [175].

Bactérie	Famille	Etat frais	Gram
Klebsiellapneumoniae	*Entérobactériaceae*	Bacille	Négatif
Pseudomonas aeruginosa	*Pseudomonaceae*	Bacille	Négatif
Eshérichia coli	*Entérobactériaceae*	Bacille	Négatif
*Acinétobacter*spp	*Moraxellaceae*	Cocci	Négatif
Enterobactersp	*Entérobactériaceae*	Bacille	Négatif
Proteus mirabilis.	*Entérobactériaceae*	Bacille	Négatif
Staphylococcus aureus.	*Staphylococcaceae*	Cocci	Positif

Toutes ces souches ont été isolées de différents prélèvements de patients internes hospitalisés au niveau de l'hôpital Mustapha Boudiaf de Médéa. Certains de ces germes ont été isolés des urines (examen cytobactériologique des urines) (E.C.B.U) ou de coprocultures (C.P.C). D'autres proviennent de pus d'abcès (P.A), des crachats (C.R) et des sécrétions bronchiques (S.B).

Les germes cibles ont été identifiés et testés pour leurs sensibilités aux antibiotiques par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Nous avons confirmé l'identification de ces germes en utilisant la clé d'identification [176], pour la caractérisation des Bactéries. Les résultats sont rapportés dans le Tableau 1 et Tableau 2 (Annexes).

IV.3. Méthodes

Au cours de notre stage, nous avons utilisé plusieurs méthodes pour déterminer les activités biologiques des huiles essentielles de nos plantes extraites par deux méthodes d'extraction différentes (hydrodistillation classique et hydrodistillation assistée par induction électromagnétique)

IV.3.1. Extraction des huiles essentielles

Pour les deux plantes, nous avons effectué deux méthodes d'extraction. Hydro-distillation classique et Hydro-distillation assistée par Induction électromagnétique, puis une comparaison des huiles obtenues a été effectuée à travers l'étude de leur pouvoir antioxydant et antibactérien.

La quantité de la matière végétale et la durée d'extraction ont été fixées de manière à obtenir une quantité d'HE suffisante pour une séparation par simple décantation afin d'éviter au maximum l'usage de solvant organique pour avoir un produit le plus « propre » possible.

IV.3.1.1. Hydro-distillation classique

La première méthode d'extraction des huiles essentielles, a été effectuée par ***hydro-distillation classique*** [177] (Figure IV-1 : Montage de **l'hydro-distillation classique.** Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.



Figure IV-1 : Montage de l'hydro-distillation classique.

- ✓ L'opération consiste à introduire une masse en (gr) de matière végétale séchée dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. (tableau IV-4)
- ✓ Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon.
- ✓ Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation.
- ✓ Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent à la surface de l'hydrolat récupérée dans une ampoule à décamper.
- ✓ L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'hydrolat, surnage à la surface de cette dernière.
- ✓ L'huile ainsi obtenue est récupérée, puis conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5°C).
- ✓ L'opération d'extraction est selon les travaux de Megateli. S [178], pour chaque plante, concernant la masse et la durée des essais sont présentés dans le Tableau IV-4 suivant :

Tableau IV-4 : Présentation des différents essais d'extraction par hydro-distillation classique.

Plantes	*Ruta chalepensis*	*Cuminum cyminum*
Masses utilisées	12.5 gr / 500 ml (ED)	35 gr / 700 ml (ED)
Duréed'extraction	195 min	200 min

ED : Eau distillée.

IV.3.1.2. Extraction par Induction Electromagnétique

Selon les travaux Megateli. S [178], Les éléments de base nécessaires à la constitution d'un montage d'extraction par induction magnétique Figure IV-2 : Montage de l'hydro-distillation assistée par induction magnétique [**178**].Sont les suivants :

- Un réacteur en inox dans lequel sont placées la matière végétale à traiter et l'eau. C'est le matériau qui a donné la plus courte durée d'ébullition dans les tests préliminaires à l'eau distillée ;
- La colonne, un cylindre en verre placé au-dessus du réacteur qui recueille la phase vapeur. Bien que sa présence ne soit pas nécessaire, elle nous permet d'assurer une différence de niveau entre le bouilleur et l'ampoule de récupération/décantation nécessaire pour réaliser la cohobation des eaux aromatiques ;
- Une plaque chauffante à induction magnétique (SAMSUNG, Réf : 157737DDQ100108). Pour créer l'induction servant à chauffer les solutions à l'intérieur de l'hydro-distillateur ;
- Un système de condensation des vapeurs aromatiques : réfrigérant ;

- Une ampoule à décanter permettant de recueillir l'HE et de la séparer de la phase aqueuse par différence de densité;
- Un dispositif d'ajustement de volume constitué d'une ampoule remplie d'eau distillée afin de maintenir le rapport plante/eau à son niveau initial.



Figure IV-2 : Montage de l'hydro-distillation assistée par induction magnétique [178].

L'opération d'extraction pour chaque plante, concernant la masse et la durée des essais sont présentées dans le Tableau IV-5 suivant :

Tableau IV-5: Présentation des essais d'extraction par hydro-distillation assistée par induction magnétique.

Plantes	*Rutachalepensis*	*Cuminumcyminum*
Masses utilisées	25 gr/ 1000 ml (ED)	50 gr / 1000 ml (ED)
Duréed'extraction	150 min	160 min

La puissance de l'induction était fixée à un niveau de 7 au cours de ces expériences [178].

- ❖ L'extraction par hydro-distillation assistée par induction magnétique a été effectuée aussi en ajoutant du sel (Nacl), dans le réacteur en mélange avec le matériel végétal durant l'extraction. Cette méthode vise à l'amélioration du rendement de l'extraction des HE.

Les masses végétales ainsi que la concentration en la solution saline sont présentées selon les travaux de Megateli [178] dans le Tableau IV-6.

Tableau IV-6 : Présentation des essais d'extraction par hydro-distillation assistée par induction magnétique avec NaCl [178].

Plantes	*Rutachalepensis*	*Cuminumcyminum*
Masses utilisées	25 gr/ 1000 ml (ED)	50 gr / 1000 ml (ED)
Quantité NaCl	25 gr	35 gr
Durée d'extraction	150 min	160 min

- ➢ **Rendement**

Le rendement de l`huile extraite est le rapport entre le poids l`HE extraite et le poids de la biomasse végétale, il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule ci-dessous [179**].**

$$R = (Ph / P v). 100$$

R : Rendement en huile essentielle en %.

P_h : Poids de l'huile essentielle en gramme.

P v : Poids de la biomasse végétale en gramme.

IV.3.2. Indices physico-chimiques

IV.3.2.1. Densité

- **Principe** : Elle constitue un point de repère important. Sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE [180].

La densité relative à 20°C d'une HE est définie comme étant le rapport de la masse d'un volume d'HE à 20 °c, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°c [181].

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

- Dans le cas où elle est supérieure à 1, les essences des plantes végétales contiennent des produits de la série aromatique, des sulfures et des nitrites.

- Enfin si la densité est comprise entre 0.9 et 1, les essences ont une composition complexe.

- **Mode opératoire**

Pour déterminer la densité, nous avons évalué la masse mo du pycnomètre vide de 1 ml, la masse m1 du pycnomètre rempli d'eau distillée. Puis la masse m2 du pycnomètre contenant l'HE.

La densité relative est donnée par l'expression :

$$D^{20}{}_{20} = \frac{m2 - m0}{m1 - m0}$$

IV.3.2.2. Indice de réfraction

- **Principe** : L'indice de réfraction est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur

d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante. La température de référence est de 20°C[179].

- **Mode opératoire**

L'indice de réfraction a été déterminé par la lecture directe de l'angle de réfraction à l'aide du réfractomètre de marque OHAOUS, en employant la lumière diffuse (NF T 75- 112).

L'indice de réfraction n^t_d à la température de référence T=20°C (N_d^{20}), est déterminé par la formule suivante:

Avec :

$$N_{20} = N_t + 0{,}0004\ (t - 20\ °C)$$

N_{20}= Indice à 20°C

N_t= Indice à la température T ambiante ou de mesure.

t= Température ambiante.

Les produits étalons de qualité pour réfractométrie servant à ajuster le réfractomètre sont :

- Eau distillée : 1,333
- P-cymène : 1,4906
- Benzoate : 1,5685
- Bromo-1-naphtalène : 1,6585.

IV.3.3. Détermination des activités biologiques

IV.3.3.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de nos plantes vis-à-vis les sept souches bactériennes a été réalisée par la technique du contact direct sur milieu gélosé.

IV.3.3.1.1. Technique par contact direct

Notre étude a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose ainsi appelée, elle permet de prévoir avec certitude l'efficacité *in vitro* des huiles essentielles, il s'agit en fait d'une appréciation ***qualitative*** de l'activité. L'aspect ***quantitatif*** sera ensuite estimé par la détermination de la concentration minimale inhibitrice ***(CMI).***

Cette technique est initialement conçue pour les antibiotiques ***(antibiogramme)***, mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par de l'huile essentielle ***(aromatogramme).*** Inspiré d'une vieille méthode de Shroeder et Messing datant de 1949, l'aromatogramme consiste à déposer des disques de papiers filtres imprégnés d'huiles essentielles sur la surface des géloses ensemencées par le germe à tester et de mesurer les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation [182].

- **Préparation de l'inoculum**

En premier lieu, une suspension bactérienne d'une opacité de **0.5 Mc Farland** est préparée à partir d'une culture pure et jeune (âgée de 18 heures). Cette opacité, équivalente à une densité optique de 0.08 – 0.1 à 625 nm, peut être diminué (ou augmenté) en ajoutant plus de culture afin d'ajuster la densité optique (DO).

Il est à signaler d'une part que la suspension ajustée devra contenir 108 UFC/ml (units forming colony/ml) et d'autre part que l'inoculum ainsi préparé ne doit pas être utilisé au-delà de 15 minutes faute de quoi la concentration et donc l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne.

Cet inoculum sert à ensemencer des géloses de Mueller Hinton coulées dans des boites de Pétri sur une épaisseur de 4 mm (qui correspond à 20 ml pour les boites de 90 mm de diamètre) puis séchées à l'étuve à 37°C avant emploi.

- **Ensemencement des boites pétri**

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, à partir de l'inoculum fraîchement préparé. Il consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, à trois reprises sur la totalité de la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boite à environ 60°, après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. Pour chaque souche testée.

- **Dépôt des disques d'huiles essentielles**

On dépose les disques stériles de papier Wattman n°3, de 6 mm de diamètre, imprégnés avec les huiles essentielles extraites des deux plantes avec les deux méthodes (Hydro-distillation classique, Induction électromagnétique ainsi que l'Induction électromagnétique avec Nacl) à la surface du milieu Muëller-Hinton dans des boites séparées.

Après diffusion de l'HE dans le milieu pendant 15 mn à une température de 30°C, les boîtes sont incubées à 37°C. La lecture s'effectue après 24 H d'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition du germe-cible.

- **Lecture des résultats**

Les résultats sont exprimés en mesurant les diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques en (mm).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre<8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 et 14 mm.

- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm.

- Extrêmement sensible (+++) : diamètre>20 mm [183].

Le test est répété deux fois pour avoir des résultats fiables. Après 24 heures d'incubation à 37°C, le diamètre d'inhibition est mesuré.

❖ Des antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les aromatogrammes.

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos échantillons. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'HE.

On a utilisé quatre antibiotiques de référence pour toutes les souches testées : Ampicilline (AMP), Céfotaxime (CTX), Céfoxitine (FOX) et Gentamycine (GN).

Le choix de l'antibiotique pour les souches microbiennes est basé sur les directives du National Commitee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS) et les recommandations de l'OMS [184].

IV.3.3.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), et bactéricide (CMB)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en HE capable d'induire une réduction de la croissance microbienne de 90%, donc ne laisse survivre que 10% de la population [185].

- **Préparation de l'inoculum**

L'inoculum bactérien est préparé de la même manière que précédemment.

- **Préparation des dilutions d'HE dans le milieu de culture**

- 2,5 ml de tween 80 (c'est une polysorbate, hydrophile qui oriente les émulsions dans le sens "huile dans l'eau", autrement dit qui disperse la phase huileuse dans la phase aqueuse de manière obtenir une émulsion du type HE) sont ajoutés à 90 ml d'eau distillée.

- L'ensemble est stérilisé à 120 °C pendant 15 mn (solution A).

- On prépare ensuite une solution mère contenant 9 ml de la solution (A) et 1 ml d'HE que l'on agite fortement en utilisant le vortex pour une bonne dispersion de l'HE.

- A partir de cette dernière, on prépare des dilutions successives avec de l'eau distillée. On obtient ainsi différentes concentrations en HE (10^{-1} à 10^{-5}).

- Dans des tubes à essai, on ajoute 13,5 ml du milieu Muëller-Hinton pour les bactéries (Gélose en surfusion) à 1,5 ml de la solution mère et à 1,5 ml des diverses dilutions. On obtient ainsi des concentrations en HE dans le milieu de culture de 10^{-1} à 10^{-5}, les différentes concentrations des HE sont présentées dans le Tableau IV-7.

- Le tube témoin contenant 13.5 ml du milieu Muëller-Hinton et 1,5 ml de la solution A.

- Les tubes à essai et le tube témoin sont bien agités au vortex puis leur contenu est versé dans des boîtes de Pétri.

Tableau IV-7 : Concentrations des HE du *Ruta chalepensis* et *Cuminum cyminum* en mg/ml.

Concentration des HE (mg/ml)	*Ruta chalepensis*	*Cuminum cyminum*
HD classique	0,806	0,956
HD assistée par induction magnétique	0,814	0,948
HD assistée par induction magnétique avec NaCl	0,831	0,974

HD : Hydro-distillation.

- **Etape d'ensemencement**

A la surface du milieu contenant les différentes dilutions d'HE, on ensemence les bactéries par écouvillonnage. Les souches sont ensemencées séparément et en parallèle à raison de 3 à 4 bactérie /boîte de Pétri. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pour les bactéries pendant 24h.

- La lecture de la **CMI** est la plus faible concentration d'huile essentielle inhibant toute croissance bactérienne.

- La lecture de la **CMB** est effectuée après ré-incubation des boites de la CMI ne marquant aucune croissance bactérienne après 7 jours, 14 jours et 21 jours [186].

IV.3.3.1.3. Test de l'effet Bactéricide/Bactériostatique des HE

Pour savoir si l'effet des huiles est bactéricide ou bactériostatique, un prélèvement à partir de la zone d'inhibition est ensemencé dans d'autre boite pétri contenant la gélose

nutritive. Cette dernière est incubée dans une étuve à 37°C pendant 24 h, puis examiné à l'œil nu. S'il y aura multiplication du germe, cela indique un effet bactériostatique, sinon l'effet bactéricide de l'huile testée est indiqué.

IV.3.3.2. Activité anti-oxydante

La capacité anti-oxydante de nos huiles essentielles a été déterminée en utilisant la méthode de DPPH (l, l-diphenyl-2-picrylhydrazyl).

IV.3.3.2.4. Méthode de DPPH

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur diaprait rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entrainant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [187].

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:

$$DPPH^{*} + (AH) \longrightarrow DPPH\text{-}H + (A^{*})$$

Où: (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) [188].

Donc par cette méthode, on considère que l'activité anti-oxydante n'est autre que la capacité des antioxydants d'agir comme piégeur des radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène ce qui conduit à la disparition du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration (jaune) dans la solution initiale.

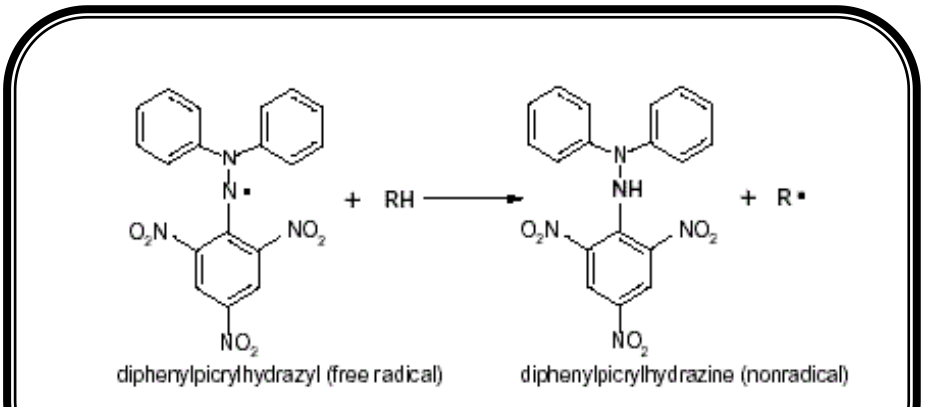


Figure IV-3:Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

IV.3.3.2.5. Mode opératoire

Selon le protocole décrit par Mansouri et *al*, [189] :

- La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.
- Les différentes concentrations d'HE (80%, 60%, 40%, 20%, 10%, 5%, 2.5%, 1%, 0.5% et 0.1%) ont été préparées dans le méthanol.
- 25 µl de chaque solution méthanolique des huiles essentielles à différentes concentrations est ajouté à 975 µl de la solution méthanolique de DPPH.
- le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif (solution de contrôle) contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée au spectrophotomètre UV-Visible contre un blanc préparé pour chaque concentration à 516 nm.
- Egalement le même test a été réalisé dans les mêmes conditions opératoires avec un antioxydant de référence : acide ascorbique.
- L'activité anti-radicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ d'activité anti-oxydante} = [Abs_{contrôle} - Abs_{échantillon} / Abs_{contrôle}] \times 100.$$

Abs : Absorbance.

IV.3.3.2.6. Calcul des IC50, TEC50

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, des paramètres cinétiques sont introduits, tels que la IC 50 (concentration inhibitrice de 50% du radical libre) et le temps TEC50.

- **IC50**

La concentration inhibitrice de 50 %, aussi appelée **EC50** (Efficient concentration50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire la concentration initiale de 50% de radical DPPH. Il est inversement lié à la capacité anti-oxydante : La capacité anti-oxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son EC50 est petite.

Les IC50sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des HE testées [190].

- **TEC50**

C'est le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre à CE50, la constante de vitesse de la réaction ou le coefficient directeur de la courbe cinétique.

L'estimation de TCE50 permet d'introduire la classification suivante :

- TCE50< 5 min : *réaction rapide*.
- TCE50 comprise entre 5 et 30 min : *réaction intermédiaire.*
- TCE50>30 min : *réaction lente* [191].

V. Résultats et Discussions

V.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des HE du *Ruta chalepensis* et *Cuminum cyminum* a été réalisée par deux méthodes : hydro-distillation classique et hydro-distillation assistée par induction électromagnétique.

V.1.1. Evaluation de rendement d'extraction

V.1.1.1. Résultats

La première quantification à faire est celle du rendement en huile essentielle obtenue par les deux techniques d'extraction (hydro-distillation classique et hydro -distillation assistée par induction magnétique). Ce rendement est calculé à partir du poids de l'huile essentielle par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée pour chaque plante. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le Figure V-1 :

Tableau V-1 et la Figure V-1 :

Tableau V-1: Rendement en HE du *Cuminum cyminum* et du *Ruta chalepensis* (%).

Rendement(%)	HD classique	HD induction	HD induction (NaCl)
Cuminum cyminum	1,66	1,97	2,06
Ruta chalepensis	2,50	2,64	3,09

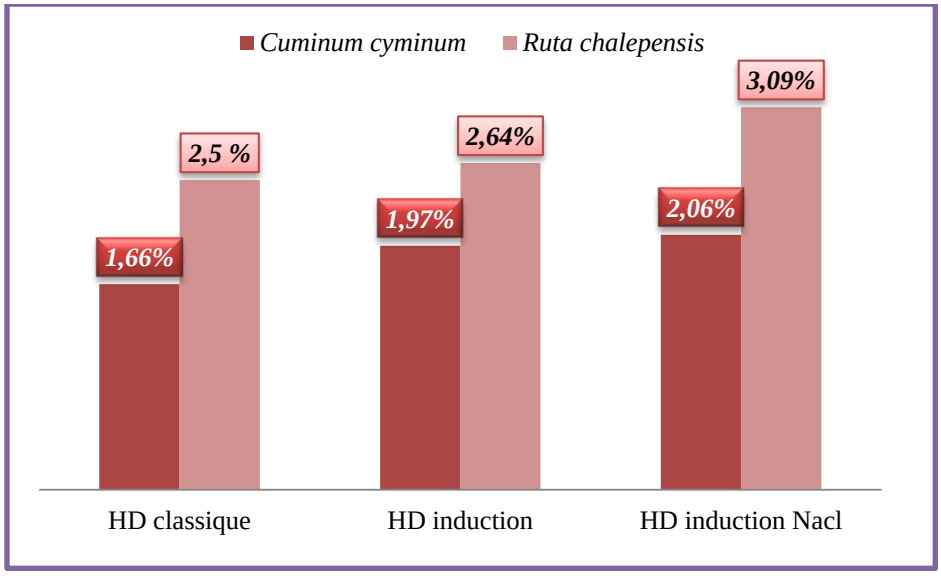


Figure V-1 : Variations du rendement en fonction de la méthode d'extraction.

HD : Hydro-distillation.

V.1.1.2. Discussion

D'après ses résultats on remarque que le rendement varie entre les deux méthodes d'extraction réalisées.

Le rendement obtenu par hydrodistillation classique est de l'ordre de 1,66% pour les graines du Cumin et de 2,5% pour *Ruta chalepensis*, ce rendement peut être considéré comme le plus faible comparativement a ceux obtenus par hydrodistillation assistée par induction magnétique (1,97% et 2,64% pour les graines de Cumin et *Ruta chalepensis* respectivement), et l'hydro-distillation assistée par induction magnétique en ajoutant le NaCl (2,06% et 3,09% pour les graines de Cumin et *Ruta chalepensis* respectivement), donc l'induction a augmenté le rendement de 80,90% et l'induction avec le NaCl de 85,43% par rapport au chauffage classique.

Au cours de la distillation, l'eau bouillante pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'essence des glandes sécrétrices. La solution aqueuse chargée de composés organiques diffuserait ensuite à travers une épaisseur de tissu, plus ou moins dense, selon l'organe, vers la surface extérieure où l'huile essentielle serait vaporisée et entraînée. Ce phénomène se continue jusqu'à l'épuisement total de la matière végétale en huile essentielle [192]. Cette différence du rendement liée au mode de chauffage est due certainement pour le chauffage par induction magnétique à

l'homogénéité et la rapidité de chauffage, grâce à son principe de produire la chaleur au sein même du matériau à chauffer.

Ce chauffage entraîne une augmentation aussi rapide de la pression à l'intérieur des cellules de la matière. L'échauffement du matériau dépend ensuite de la propagation de la chaleur dans tout le matériau, des échanges avec l'extérieur et du temps durant lequel est exposée la puissance. La partie chauffée constitue la zone de pénétration thermique [193]. Dans bien des cas, la pression interne s'élève de façon suffisamment élevée pour faire exploser la paroi de la cellule, ce qui entraîne l'expulsion du contenu qui sera dissolu dans le milieu aqueux environnant.

Cela peur être aussi expliqué par les travaux de Zouambia et *al* [194], sur l'extraction de la pectine par deux méthodes d'extraction chauffage conventionnel dans l'eau et chauffage par induction électromagnétique montrent que cette dernière provoque des dommages dans les cellules végétales qui peuvent être expliqué par l'augmentation de l'espace intracellulaire par l'augmentation de la température, donc la cellule se divise et la pectine peut facilement se libérer, contrairement au chauffage conventionnel où les tissus observés sous microscope électronique à balayage restent compacts et complet savant et après extraction.

L'amélioration du rendement en HE est encore rehaussée, avec l'hydro-distillation assistée par induction électromagnétique, en ajoutant le NaCl au cours de l'extraction. Cette solution saline joue un rôle important dans la conductivité du champ électromagnétique dans toute la masse végétale au cours de l'extraction et par conséquent l'épuisement de la totalité des composés volatils.

En effets, la conductivité électrique de la solution utilisée pour extraire les huiles essentielles en hydro-distillation par induction, joue un rôle très important, car celle-ci est une fonction de la température. Par ailleurs l'échauffement du milieu s'améliore avec la solution en NaCl [195].Ce sont les ions qui assurent le transport du courant sous l'effet d'une différence de potentiel. Le mouvement ionique provoqué par l'action d'une différence de potentiel alternative entraîne un échauffement de la solution [178]

Il parait qu'il aura une influence sur le déroulement de l'hydro-distillation et par conséquent sur le rendement en huile essentielle, ce qui explique effectivement cette différence de rendement entre les deux méthodes d'extraction.

Ces résultats ne sont pas similaires avec ceux obtenus parles travaux réalisés par Mégateli. S [178] où le rendement obtenu pour le cumin est 1,17, 1,60 et 3,54 % (pour l'hydrodistillation classique, hydrodistillation assistée par induction et hydrodistillation assistée par induction avec NaCl respectivement) et pour *Ruta chalepensis* est 0,912, 1,608 et 1,608 % (pour l'hydrodistillation classique, hydrodistillation assistée par induction et hydrodistillation assistée par induction avec NaCl respectivement).

Cela peut être expliqué selon Kelen et Tepe [196] par le choix de la période de récolte, car elle est primordiale en termes de rendement et qualité de l'HE, le degré de fraicheur, la période de séchage, le stade de la croissance, et la conservation du matériel végétal. Ce sont des facteurs entre autres qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en HE [197].

Le rendement d'extraction du *Ruta chalepensis* est cependant supérieur par rapport au *Cuminum cyminum* pour les deux méthodes d'extraction. Il est admis que le rendement de ces métabolites secondaires est différent d'une famille botanique à une autre, d'une espèce à une autre et même entre les plantes de la même espèce, ces résultats reflètent l'influence de séchage des plantes sur leur teneur en HE, car l'extraction de l'HE de *Ruta chalepensis* a été faite sur la plante fraiche et les graines du Cumin commercialisées après longue durée de conservation durant laquelle une grande quantité de substances volatiles s'évaporent en vue de leur caractère volatile [198] et selon les travaux de Bouguerra. A [199] les graines peuvent perdre leurs composés volatils si elles sont stockées longtemps.

V.1.2. Etude physico-chimique des huiles essentielles

V.1.2.1. Aspect organoleptique

- L'HE du *Ruta chalepensis* présente un aspect liquide de couleur jaune clair.
- L'HE du *Cuminum cyminum*présente un aspect liquide jaune pâle caractérisée par une odeur forte.

V.1.2.2. Indices physico-chimiques

V.1.2.2.1. Densité

Les valeurs des densités de différentes huiles essentielles obtenues sont représentées dans le Tableau V-2 suivant :

Tableau V-2 : Valeurs de densités relatives du *Ruta chalepensis* et *Cuminum cyminum*.

Densité mg/ml	Hydro-distillation classique	HD assistée par Induction magnétique	HD assistée par Induction magnétique (NaCl)	Normes FCC
Ruta chalepensis	0, 806	0,814	0,831	0,826-0,838
Cuminum cyminum	0,956	0,948	0,974	0,905-0,925

HD : Hydro-distillation

V.1.2.2.2. Indice de réfraction

Le Tableau V-3représente les valeurs caractéristiques de l'indice de réfraction du *Ruta chalepensis* et *Cuminum cyminum*.

Tableau V-3 : Valeurs caractéristiques de l'indice de réfraction du *Ruta chalepensis* et *Cuminum cyminum***.**

Plante	***Rutachalepensis***	***Cuminum cyminum***
Indice de réfraction	*1,432*	1,1511
Normes FCC	1,430-1440	1,5-1,506

D'après les résultats obtenus on remarque que les caractéristiques physico-chimiques de l'HE du *Ruta chalepensis* et du cumin avoisinent dans l'ensemble les normes données par le FCC (Food Chemical Codex) [200].

Les valeurs de la densité relative et l'indice de réfraction de l'HE du *Cuminum cyminum* sont plus élevés que ceux de l'HE du *Ruta chalepensis*. Ces caractéristiques physicochimiques se diffèrent d'une famille botanique à une autre, d'une espèce à une autre et même entre les plantes de la même espèce [198].

V.2. Activité antibactérienne

V.2.1. Antibiose

V.2.1.1. Résultats

L'évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des l'HE de nos plantes a été réalisé par la technique de diffusion en milieu gélosé.

Les résultats relatifs de la sensibilité des souches bactériennes testées à l'encontre des antibiotiques de référence sont rapportés dans le Tableau V-4 :

Tableau V-4 : Antibiogramme de souches bactériennes vis-à-vis différentes Antibiotiques.

ATB / Souche	AM	CTX	FOX	GN
Klebsiellepneumonae	R	R	S	R
Pseudomonas aeruginos	S	S	R	S
Staphylococcus aureus	S	S	S	S
Acinétobacterspp	R	R	R	R
Esherichia coli	S	S	S	S
Entérobactersp	S	S	R	S
Proteus mirabilis	S	S	S	S

S : Sensible, **R** : Résistante
ATB : Antibiotique.

On observe que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés, parmi les souches étudiées *Acinétobacter spp* se révèle multi-résistante.

Et *Klebsiella pneumonae* est BLSE (Béta-Lactamase à spectre élargie).

Le Tableau V-5 rapporte les valeurs en (mm) des zones d'inhibitions atteintes avec les différentes souches à l'encontre des HE étudiées.

Tableau V-5: Diamètres d'inhibition des souches bactériennes par les HE du *Cuminum cyminum* et *Ruta chalepensis* (mm).

Diamètres d'inhibition (mm)	HD classique	HD assistée par induction	HD assistée par induction (NaCl)

	Cumin	*Ruta*	*Cumin*	*Ruta*	*Cumin*	*Ruta*
Klebsiellepneumonae	*17*	*6*	21	6	24	6
Pseudomonas aeruginos	11	6	20	6	27	6
Staphylococcus aureus	48	16	26	11	40	13
Acinétobacterspp	27	6	19	6	31	6
Esherichia coli	17	6	20	6	25	6
Entérobactersp	13	6	21	6	27	6
Proteus mirabilis	50	6	20	10	35	6

La Figure V-2 présente quelques exemples de l'antibiogramme des souches testées.

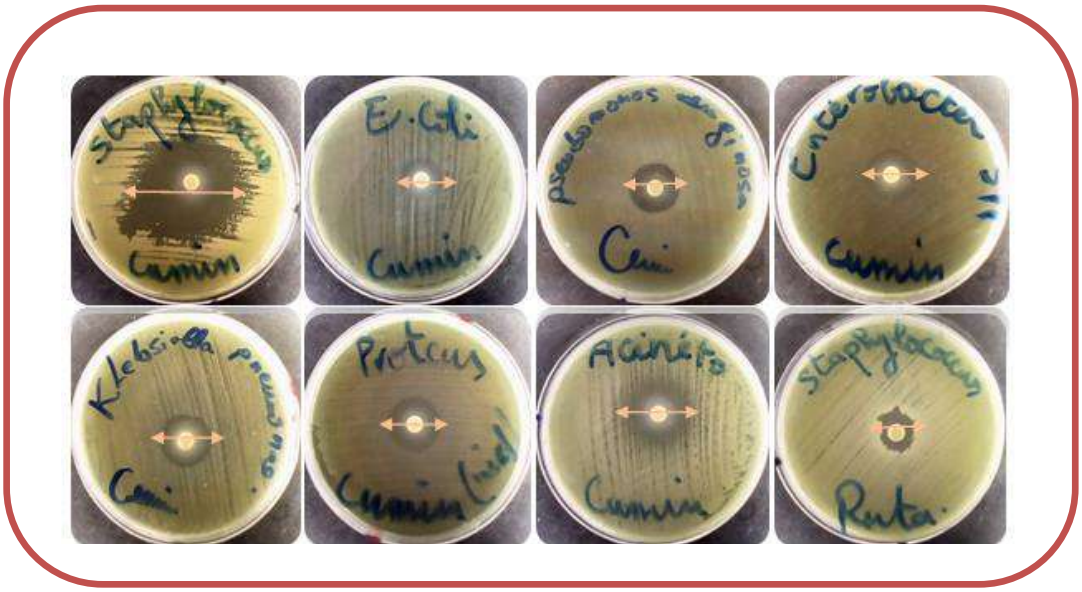


Figure V-2 : Quelques exemples de l'antibiogramme des HE.

V.2.1.2. Discussion

D'après les résultats obtenus et présentés dans le Tableau V-5, on observe que les souches bactériennes étudiées réagissent différemment aux HE.

Les résultats obtenus révèle que l'HE des graines du cumin se montre active sur la totalité des souches bactériennes testées :

– Elle est extrêmement active contre *Staphylococcus aureus* (Gram+) et contre *Acinétobacterspp*, et *Proteus mirabilis* (Gram-) avec des diamètres d'inhibition

supérieurs à 20mm, ces résultats sont similaires pour les HE obtenues avec les trois méthodes d'extraction.

- Très active contre *Klebsiella pneumonae* et *Esherichia coli* (Gram-) avec des diamètres d'inhibition compris entre 15 et 19 mm.
- Et active sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Entérobactersp*, avec des diamètres compris entre 10 et 14 mm.

Selon Zhiri. A [21] :

Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre contenant dans les HE sont les phénols. L'HE des graines du Cumin se présente riche en ces composés d'après les travaux de Naeini. A. R [201] (Tableau V-6) sur la composition chimique de cette HE par chromatographie couplée par spectrophotométrie en masse (GC/MS).

Tableau V-6 : Composition chimique de l'HE de *Cuminum cyminum* selon les travaux de Naeini. A. R [201].

Table 2 Essential oil components of *Cuminum cyminum*, *Pelargonium graveolens* and *Zataria multiflora* identified by gas chromatography and mass spectrometry method.
Composition des huiles essentielles de Cuminum cyminum, Pelargonium graveolens *et* Zataria multiflora *extraites par la méthode gas chromatography and mass spectrometry.*

Component (%)			
No	*Cuminum cyminum*	*Pelargonium graveolens*	*Zataria multiflora*
1	Limonene (21%)	Citronelol (28.2%)	Carvacrol (61.3%)
2	Linalool (10%)	Geraniol (22.1%)	Thymol (25.2%)
3	Geraniol (1.5%)	Geranial (0.8%)	Linalool (2%)
4	ρ-Cymene (0.3%)	Citronellyl format (6.3%)	ρ-Cymene (1.9%)
5	Linalil acetat (4%)	Geranyl format (4.1%)	Widdrol (0.6%)
6	α- Pinene (30%)	α- Salinene (2.2%)	α- Pinene (0.3%)
7	α- Thujene (0.2%)	Linalol (6.7%)	α- Thujene (0.1%)
8	Sabinene (0.5%)	Isomenthone (5.3%)	Myrcene (0.3%)
9	Terpinene-4 ol (0.5%)	Citronellyl propionate (1.2%)	α - Terpinene (0.3%)
10	γ- Terpinene (0.5%)	10- Epi- α eudesmol (5.3%)	γ- Terpinene (0.8%)
11	Myrcene (0.1%)	Geranyl tiglate (2%)	α- Terpineol (0.5%)
12	Methy eugenol (1.2%)		β- Phellandrene (1.8%)
13	Terpinolene (0.5%)		Alloaromadendrene (0.1%)
14	1,8 cineol (18.5%)		Valencene (0.1%)
15	γ- Terpineol (0.08%)		Spathulenol (0.4%)
16	α - Terpineol (3%)		
17	α- Terpineol acetat (1.5%)		
Total	93.27%	84.2%	95.7%

Activer Windows
Accédez aux paramètres de l'ordinateur pour activer Windows.

Ces composés entrainent des lésions irréversibles sur les membranes, et sont responsables des activités bactéricides des HE qui en contiennent, en provoquant un effet inhibiteur et létal sur différentes souches parmi elles *Esherichia coli* et

Staphylococcus aureus sur lesquelles elles provoquent des fuites d'ions de potassium. [21].

L'activité antibactérienne de constituants aromatiques des HE a été évaluée par plusieurs chercheurs. L'activité antibactérienne du cinéole, du citral, du géraniol, du linalool et du menthol a été évaluée sur 18 bactéries Gram + et Gram –. En termes de cette activité antibactérienne, c'est le linalool qui s'est montré le plus efficace eta inhibé 17 bactéries. Il était suivi par le cinéole et le géraniol (chacun d'eux inhibant 16 bactéries), puis par le menthol et le citral qui ont inhibé respectivement 15 et 14 bactéries [202]. Tous ces composés, sont très répondus dans la composition des HE du cumin, ce qui confirme son large spectre antibactérien et son efficacité.

Hajlaoui. H et *al* [203] (Tableau V-7) ont montré dans leurs travaux la richesse de l'HE du Cumin en composés terpéniques, en effet il a été montré que les mono-terpènes, les hydrocarbures et les mono-terpènes oxygénés dans les huiles essentielles sont capables de détruire l'intégralité cellulaire résultant en inhibition de la respiration et l'altération de la perméabilité [204].

Tableau V-7 : Composition chimique de l'HE du *Cuminum cyminum* selon les travaux de Hajlaoui et *al* [203].

No.	Compounds identified	Retention indices (RI) HP-5	Percentage	Identification
1	Alpha-thujene	928	0.20	MS, RI
2	Alpha-pinene	935	0.40	MS, RI
3	Sabinene	975	0.56	MS, RI
4	Beta-pinene	979	**11.13**	MS, RI
5	Beta-myrcene	990	0.76	MS, RI
6	Alpha-phellendrene	1006	0.18	MS, RI
7	Delta-3-carene	1011	0.42	MS, RI
8	O-cymene	1027	**11.82**	MS, RI
9	Limonene	1030	1.42	MS, RI
10	Gamma-terpinene	1061	**15.21**	MS, RI
11	Linalool	1089	0.08	MS, RI
12	*cis*-Sabinene hydrate	1099	0.34	MS, RI
13	Verbenol	1141	0.18	MS, RI
14	*trans*-Pinocarveol	1168	0.26	MS, RI
15	Terpinene-4-ol	1179	0.30	MS, RI
16	*trans*-Carveol	1196	4.49	MS, RI
17	Cuminlaldehyde	1248	**39.48**	MS, RI
18	Phellandral	1278	0.39	MS, RI
19	2-Caren-10-al	1289	7.93	MS, RI
20	Myrtenal	1294	**3.50**	MS, RI
21	Beta caryophyllene	1425	0.33	MS, RI
Total identified		99.37		
Yield (g/100 g dry weight)		1.22		
Monoterpene hydrocarbons		42.42		
Oxygenated monoterpenes		56.61		
Sesquiterpene hydrocarbons		0.33		
Oxygenated sesquiterpenes		–		

Les aldéhydes sont quelque peu bactéricides, les plus abondants dans la composition de notre HE du Cumin est le Cuminal qui est le composant caractéristique de cette HE présentant 45,75% de sa composition, et Myrtenal, le Cumin aldéhyde et le 2-caren-10-al [205].

Cependant, on remarque la résistance de toutes les souches bactériennes à l'encontre de l'HE du *Ruta chalepensis*, sauf *Staphylococcus aureus* qui se montre sensible pour l'HE obtenue par les deux méthodes d'extraction. Cette activité antibactérienne de L'HE du *Ruta chalepensis* a été aussi évaluée par d'autres études de Haddouchi et *al* ; 2013 [206], on remarque que nos résultats sont similaires à ceux obtenus par ces chercheurs où toutes les souches sont résistantes sauf *Staphylococcus aureus.*

De nombreuses études ont démontré que les huiles essentielles des espèces du *Ruta* sont parmi les huiles essentielles moins puissantes à l'égard des propriétés antibactériennes [207-208].

L'huile essentielle du *Ruta chalepensis*, contient une dizaine de substances selon les travaux de Haddouchi et *al* (Tableau V-8) [206], (cétones, alcools, esters, terpènes) et un hétéroside et la rutine (ou rutoside). Les composants majeurs sont les composés cétoniques 2-undecanone, 2-nonanone, 2-nonyl acétate, 2-decanone, 2-nonanol, 2-

undecanol et 2-tridecanone, ces derniers ne sont pas cités parmi les composés doués de propriétés antibactériennes [202].

Elle est douée d'une activité antibactérienne par sa richesse en hydrocarbures mono-terpéniques, mais pas par méthode de contact direct (Aromatogramme). Car ces derniers sont des excellents antiseptiques atmosphériques.

Les alcools mono-terpéniques sont anti-infectieux atmosphériques et les cétones sont faiblement antiseptiques, mais ils ont une action antifongique [209]. Ces données expliquent l'activité potentielle de l'HE du *Ruta chalepensis* qui a été confirmée et prolongée dans la présente étude. Ce résultat est probablement dû à la présence de 95,63% de cétones dans la composition de l'HE totale [204].

Tableau V-8 :Composition chimique de l'HE du *Ruta chalepensis* selon les travaux de Haddouchi et *al* [206].

Rt	Compounds	%		
		RCb	RA	RG
5.479	α-Pinene	0.31	-	-
6.406	Sabinene	0.49	-	-
6.778	2-Octanone	0.39	-	-
7.87	α-Limonene	5.27	-	4.26
9.799	2-Nonanone	32.79	0.96	21.62
9.976	NI	1.14	-	-
10.091	Nonanal	0.62	0.84	-
11.155	2-Octanol acetate	0.89	-	-
11.327	5,6-Diethenyl-1-methyl-cyclohexene	-	-	3.24
11.332	Geyrene	1.46	-	-
12.923	2-Decanone	2.42	10.03	1.46
14.388	1-Nonene	13.95	-	4.35
16.35	2-Undecanone	32.58	82.46	55.4
16.493	NI	1.21	1.56	-
18.513	NI	-	-	1.03
18.519	11-Dodecen-2-one	0.99	-	-
19.457	2-Dodecanone	0.6	1.51	1.02
20.636	1-Tetradecanol methacrylate	3.29	-	2.22
22.57	2-Tridecanone	0.63	0.67	1.58
27.669	NI	-	0.83	-
31.411	NI	-	-	1.67
31.662	NI	-	1.13	-
39.988	12-Methoxy-19-norpodocarpa-3,5,8,11,13-pentaen-7-one	0.97	-	2.14
Chemical classes				
Ketones		71.37	95.63	83.22
2-Ketones		69.41	95.63	81.08
Acyclic alkenes		13.95	-	04.35
Monoterpene hydrocarbons		06.07	-	07.50
Sesquiterpenes		01.46	-	-
Esters		04.18	-	02.22
Aldehydes		00.62	00.84	-
All identified components		97.65	96.47	97.30

RCb : Ruta chalepensis var.bracteosa.

La nature antibactérienne modeste de l'HE du *Ruta chalepensis* étudiée vis-à-vis *Staphylococcus aureus* (Gram+) était apparemment liée à la présence de ces composés cétoniques.

La résistance des autres souches bactériennes à Gram négatifs peut être due à la complexité de leur cellule à double couche membranaire en comparaison avec la membrane unique des bactéries Gram positive [210].

V.2.2. Concentration minimale inhibitrice (CMI, CMB)

Nous rapportons dans les tableaux suivants les concentrations minimales inhibitrices, et bactéricides (CMI, CMB) de nos HE actives lors de l'étude en milieu solide.

V.2.3. *Cuminum cyminum*

V.2.3.1. Résultats

Le Tableau V-9 représente les Concentrations minimales inhibitrices de l'HE du cumin vis-à-vis les souches testées.

Le Tableau V-10 : effet antibactérien des HE du *Cuminum cyminum et Ruta Chalpensis L.***Erreur ! Source du renvoi introuvable.** représente l'effet bactéricide de l'HE du *Cuminum cyminum*.

Tableau V-9 : Concentrations minimales inhibitrices de l'HE du *Cuminum cyminum* vis-à-vis des souches testées.

CMI (mg/ml) / Souches	hydro-distillation classique	HD assistée par induction	HD assistée par induction (Nacl)
Klebsiellapneumonae	0,956	0,948	0 ,974
Pseudomonas aeruginosa	0,956	0,948	0 ,974
Staphylococcus aureus	0,00956	0,00948	0 ,00974
Esherichia coli	0,0956	0,0948	0 ,0974
Acinétobacterspp	0,0956	0,948	0 ,0974

Entérobactersp	0,0956	0,948	0 ,0974
Proteus mirabilis	0,0956	0,948	0 ,0974

Tableau V-10 : effet antibactérien des HE du *Cuminum cyminum et Ruta Chalpensis L.*

Huile essentielle	**hydro-distillation classique**	**HD assistée par induction**	**HD assistée par induction (Nacl)**
HE *Cuminum cyminum*	Bactéricide	Bactéricide	Bactéricide
HE *Ruta chalepensis*	Bactériostatique	Bactériostatique	Bactériostatique

V.2.3.1.3. Discussion

D'après les résultats représentés dans le tableau, on remarque que l'HE obtenue par hydro-distillation assistée par induction, est plus efficace que l'hydro-distillation classique, et l'hydro-distillation assistée par induction avec NaCl, mais reste très proche de l'hydro-distillation classique, car cette méthode permet l'épuisement de tout le contenu cellulaire en composés volatils au cours de l'extraction d'où le meilleur rendement était obtenu avec cette technique.

Staphylococcus aureus est la plus sensible parmi les souches bactériennes testées, cela peut être expliqué selon Zhiri. A [21] par la présence de composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre, sont les phénols.

Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, quelle que soit leur localisation. Et sont responsables des activités bactéricides des huiles essentielles qui en contiennent.

La présence du cuminal avec forte proportion (composé caractéristique de l'HE du Cumin) aldéhyde qui possède également un effet bactéricide, ce qui explique l'effet bactéricide représenté dans le **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**Testé dans cette étude en parallèle avec l'antibiose et la recherche du CMI.

Donc, nous pouvons conclure d'après nos résultats que l'HE des Graines du cumin est doué de propriétés antibactériennes avérées, cette activité semble être bactéricide ce qui explique son utilisation dans le traitement des infections bactériennes courantes.

Elle est améliorée par le mode d'obtention de l'HE, car l'HE obtenue par induction électromagnétique est très active par rapport au chauffage classique.

V.2.3.2. *Ruta chalepensis*

V.2.3.2.1. Résultats

Le Tableau V-11représente les concentrations minimales inhibitrices de l'HE du *Ruta chalepensis* vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus*.

Tableau V-11 : Concentrations minimales inhibitrices de l'HE du *Ruta chalepensis* vis-à-vis la souche *Staphylococcus aureus*.

CMI *Ruta chalepensis* (mg/ml)	hydro-distillation classique	HD assistée par induction	HD assistée par induction (Nacl)
Staphylococcus aureus	0,806	0,814	0,831

V.2.3.2.2. Discussion

La CMI de l'HE du *Ruta chalepensis* a été réalisée seulement sur la souche sensible *Staphylococcus aureus*, l'inhibition de cette souche demande l'utilisation de l'HE pure concentrée.

La CMB de l'HE du *Ruta chalepensis* est bactériostatique, pour la souche sensible *Staphylococcus aureus*, cela est dû à la pauvreté de l'HE en composés phénoliques selon les travaux de Haddouchi. F et *al* [206] (Tableau V-8) se sont les composés doués de propriétés bactéricides dans les HE [21].

V.2.4. Conclusion

On conclue qu'il ya une relation entre les structures chimiques des composés les plus abondants dans l'huile testée, les proportions dans lesquelles ils sont présents et interactions entre eux et l'activité antimicrobienne [211-212]. Les composants purs oxy-hydrogénées ont montré une activité plus élevée. C'est le cas des alcools et des phénols qui sont largement signalés à posséder de hauts niveaux d'activité antibactérienne [211-213]. La plus haute activité antimicrobienne a également été observée pour les terpènes oxygénés, par rapport aux hydrocarbures terpéniques [207-214] grâce à leur structure cyclique.

Cependant, il est difficile d'attribuer l'activité d'un mélange complexe à un constituant unique ou particulier, composés majeurs ou trace pourraient donner lieu à l'activité antibactérienne exposée. Dans l'HE, l'éventuel effet synergique et antagoniste des composés saurait jouer un rôle important dans l'inhibition microbienne et devrait également être prises en considération.

V.3. Activité anti-oxydante

V.3.1. Evaluation de taux d'inhibition de DPPH en fonction de la concentration de l'HE

V.3.1.1. Résultats

Les résultats des mesures des pourcentages d'inhibition du radical DPPH (DO) obtenus lors du test antioxydant par la méthode de DPPH des HE du *Ruta chalepensis* sont représentés par les figures suivantes :

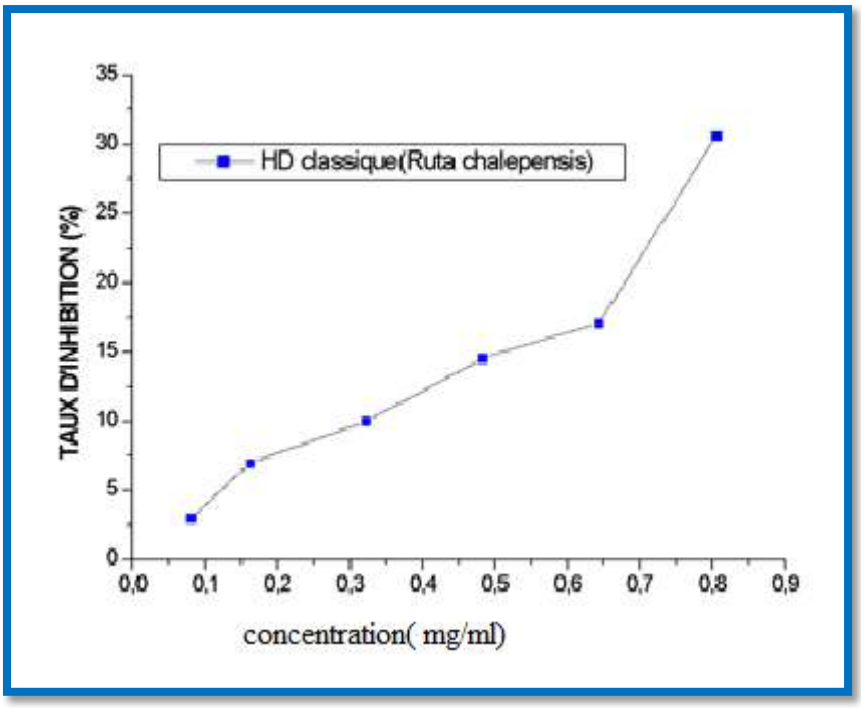


Figure V-3 :Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par l'HE du*Ruta chalepensis*obtenue par hydro-distillation classique.

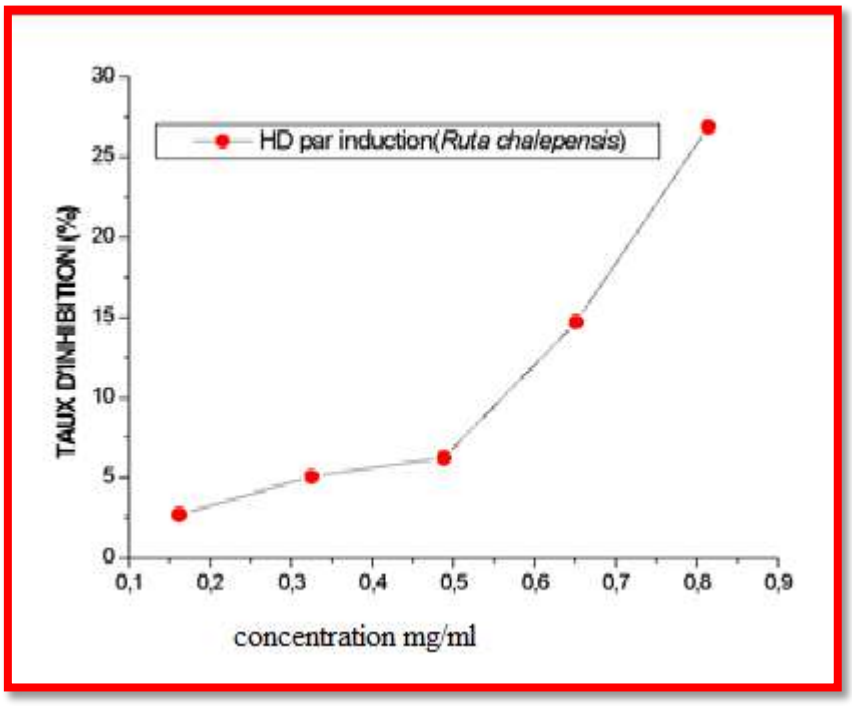


Figure V-4: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par l'HE du *Ruta chalepensis* obtenue par HD par induction

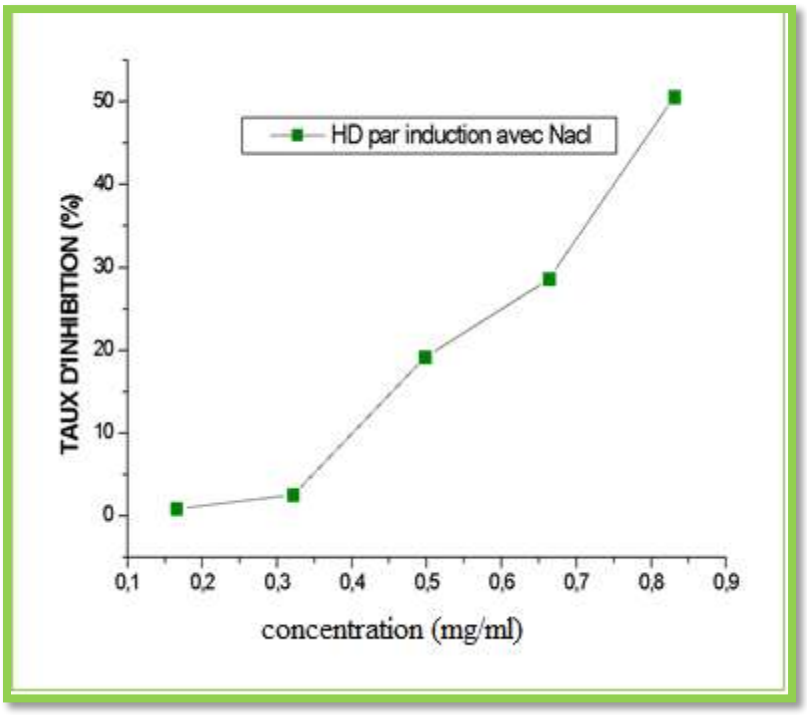


Figure V-5 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par l'HE du *Ruta chalepensis* obtenue par HD par induction.

Les résultats des mesures des pourcentages d'inhibition du radical DPPH (DO) obtenus lors du test antioxydant par la méthode de DPPH des HE du *Cuminum cyminum* sont représentés par les figures suivantes :

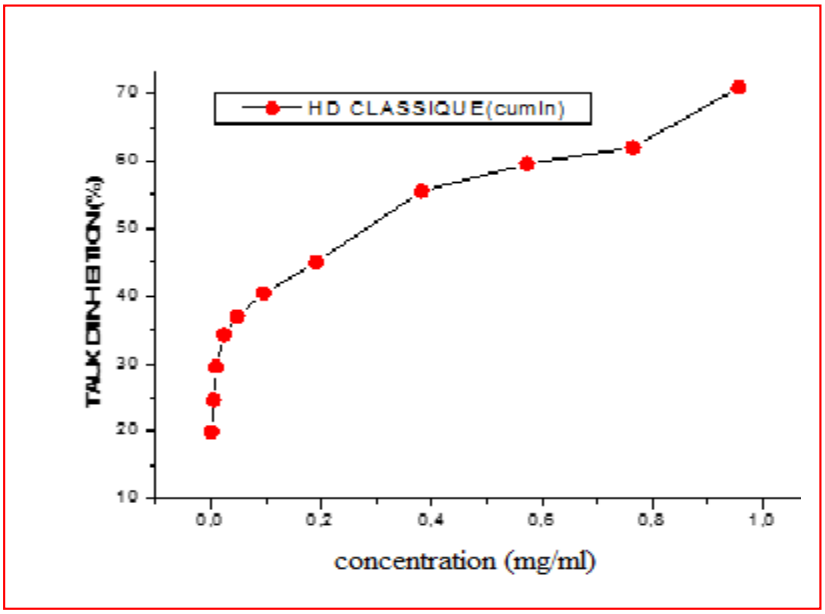


Figure V-6 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par l'HE du *Cuminum cyminum* obtenue par HD classique.

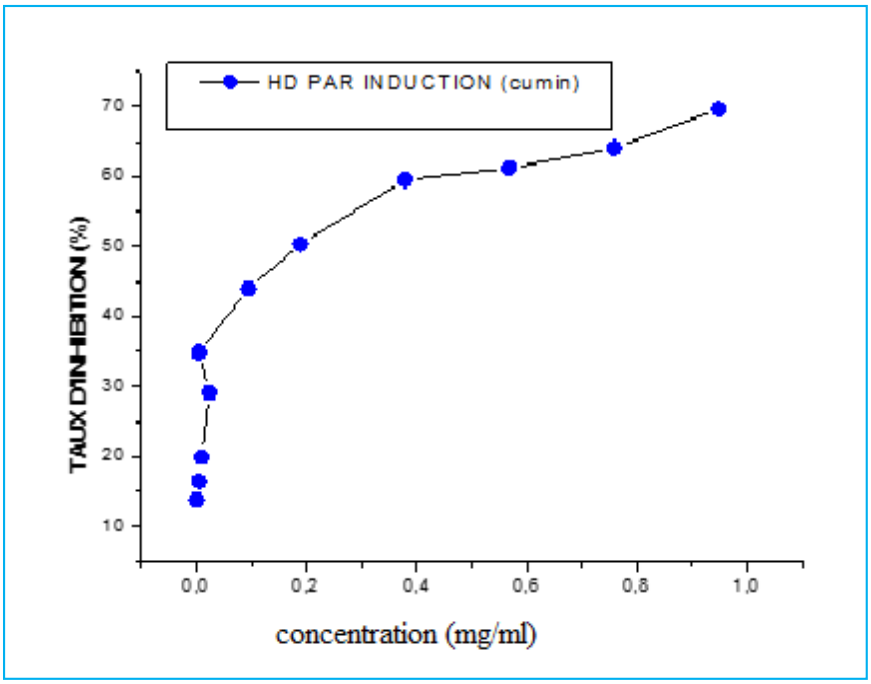


Figure V-7 :Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par l'HE du *Cuminum cyminum* obtenue par HD assistée par induction.

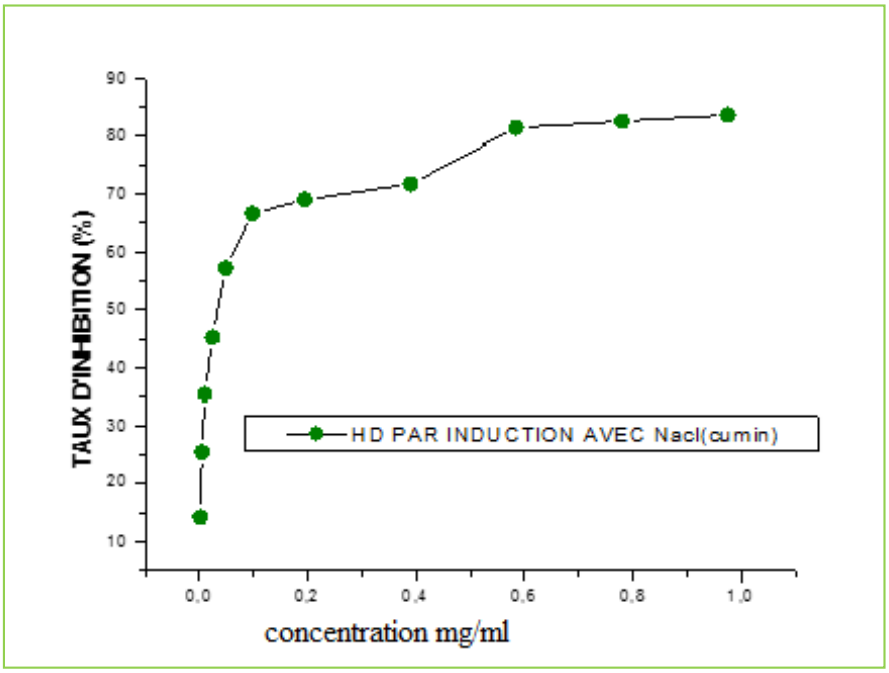


Figure V-8 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par l'HE du *Cuminum cyminum* obtenue par HD assistée par induction avec NaCl.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique (Annexe) ou pour les HE étudiées. On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour Les HE est inférieur à celui de la vitamine C pour toutes les concentrations utilisées.

V.3.2. Calcul des IC50

V.3.2.1. Résultats

L'activité anti-oxydante de nos HE est exprimée en IC50, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, ils définissent la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). CesIC50 sont déterminés graphiquement, dont l'abscisse représente les concentrations des HE et l'ordonné l'activité anti-oxydante en pourcentage. La valeur de chaque IC50exprime la concentration de l'HE exigée pour réduire 50% de DPPH en solution.

Le **Tableau V-12** et le

Tableau V-13 représentent les valeurs des IC50 obtenues graphiquement :

Tableau V-12 : Valeurs des IC50 relatives aux HE du *Ruta chalepensis*.

Ruta chalepensis	HD classique	HD assistée par induction	HD assistée par induction-NaCl	Acide ascorbique
IC50 (mg/ml)	0,96	1,14	0,55	0,26

Tableau V-13 : Valeurs des IC50 relatives aux HE du *Cuminum cyminum.*

Cuminum cyminum	HD classique	HD assistée par induction	HD assistée par induction-NaCl	Acide ascorbique
IC50 (mg/ml)	0,15	0,24	0,12	0,26

V.3.2.2. Discussion

Ces résultats montrent que l'HE du *Ruta chalepensis* possède une activité anti-oxydante faible en comparaison avec celle de l'HE du *Cuminium cyminum* qui possède une capacité de neutralisation du radical libre DPPH intéressante comparable à celle du témoin positif (la vitamine C), puisqu'elle agit à faibles doses.

Cette activité est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques de l'huile essentielle. En présence d'un radical libre DPPH, l'atome H est transféré sur ce dernier, alors sera transformé en une molécule stable DPPH.H, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène.

Cette Activité est due à la présence des composés phénoliques ou effet synergique de l'ensemble des composés majoritaires de l'HE étudiée[215], et qui possèdent une forte activité anti-oxydante [216],et la présence des mono-terpènes oxygénés et la teneur relativement élevée de Beta-pinene (terpène) mono-terpènes, O-cymene, et Gamma-terpinene, des hydrocarbures et le Cuminl-aldehyde selon les travaux de Hadjlaoui et *al* [203] et de Akash. K [217], qui sont des excellents agents anti-radicalaires [218]. Il semble y avoir une tendance générale que les HE qui contiennent mono-terpènes oxygénés et / ou sesquiterpènes ont une plus grande propriété anti-oxydante [219].

Ces composés sont présents dans la composition de l'HE du *Ruta chalepensis,* mais en faibles proportions ce qui explique la différence d'efficacité entre l'HE du *Ruta chalepensis* et celle du *Cuminum cyminum*.

Ce n'est pas uniquement les composés majoritaires des HE qui sont responsables de cette activité anti-oxydante, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres [220].

Expérimentalement, on peut estimer le TEC50, le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre à CE50, la constante de vitesse de la réaction.

Donc :

- Ce temps est compris entre 5 et 30 min ce qui veut dire que l'HE du *Cuminium cyminum* exerce une activité anti-oxydante en réaction intermédiaire.
- Et il est supérieur à 30 min pour l'HE du *Ruta chalepensis* ce qui veut dire que cette HE exerce une activité anti-oxydante en réaction lente.

V.4. Conclusion

L'HE du *Cuminum cyminum* est plus anti-oxydante par rapport à celle du *Ruta chalepensis*, cette activité est comparable à celle de l'acide ascorbique et elle est fonction de ses composés majoritaires, qui sont connus par leur effet anti-radicalaire qui augmente en augmentant la concentration qui augmente en augmentant la concentration de l'HE.

Conclusion

Au terme de ce travail, essentiellement consacré a l'étude des activités biologiques des huiles essentielles de deux plantes (*Ruta chalepensis* et *Cuminum cyminum*) obtenues par deux méthodes d'extraction l'une classique (Hydro-distillation classique) et l'autre moderne (Hydro-distillation assistée par Induction électromagnétique), il nous parait intéressant de dégager les principaux résultats auxquels nous avons abouti.

- L'extraction des HE par hydro-distillation assistée par induction magnétique avec NaCl a donné un rendement meilleur : 3,09% et 2,06 % pour *Ruta chalepensis* et le Cumin respectivement et l'hydro-distillation assistée par induction qui a donné un rendement encore meilleur en temps plus court de 2,64 % et 1,97% par rapport l'hydro-distillation classique avec un rendement de 2,50 % et 1,66 %.
- L'évaluation de la pureté des HE est mise en lumière par la détermination des indices physico-chimiques : densité et indices de réfraction.
- L'évaluation des effets biologiques de l'HE de *Ruta chalepensis* et *Cuminum cyminum* ont révélé que :

✓ L'HE du *Cuminum cyminum*a exercé une excellente activité antibactérienne sur l'ensemble des souches bactériennes testées même sur la souche multi-résistante, par rapport à l'HE du *Ruta chalepensis* qui s'est révélée active que sur *Staphylococcus aureus*.

✓ Cette activité est meilleure pour les HE obtenues par induction magnétique avec NaCl que celles obtenues par induction magnétique et Hydro-distillation classique.

✓ *Staphylococcus aureus* (Gram+), *Acinétobacterspp*, et *Proteus mirabilis* (Gram-) sont les souches qui se révèlent extrêmement sensibles vis-à-vis de l'HE du Cumin avec des diamètres d'inhibition supérieurs à 20 mm.

✓ *Klebsiella pneumonae* et *Esherichia coli* (Gram-) se montrent sensibles avec des diamètres d'inhibition compris entre 15 et 19 mm. Comparativement avec *Pseudomonas aeruginosa* et *Entérobactersp*, qui se montrent moyennement sensibles avec des diamètres compris entre 10 et 14 mm.

✓ L'activité anti-oxydante des HE déterminée par la méthode de DPPH montre que l'HE du Cumin a une activité anti-oxydante importante avec des IC50 faibles : 0,15, 0,24 et 0,12 mg/ml pour l'hydro-distillation classique, l'induction magnétique et l'induction

magnétique avec NaCl respectivement, cette activité est comparable à celle de l'acide ascorbique qui présente une IC50 égale à 0,26 mg/ml, ce qui signifie son efficacité par rapport à l'HE du *Ruta chalepensis*, qui montre des IC50 plus grandes (0,96, 1,14 et 0,55 mg/ml pour l'hydro-distillation classique, l'induction magnétique et l'induction magnétique avec NaCl respectivement).

- Par conséquent, les HE obtenues par induction électromagnétique avec NaCl durant l'extraction sont plus efficaces que les huiles obtenues par induction électromagnétique et ces dernières sont plus efficaces que celles obtenues par hydro-distillation classique.

A l'issu de ce travail, nous pouvons conclure que les HE du *Cuminum cyminum* sont plus efficaces que celles du *Ruta chalepensis* semblent être servir comme nouvelles substances à pouvoir antibactérien et antioxydant efficaces et peuvent constituer alternatives des produits chimiques utilisés en médecine et dans différentes industries.

- De nouvelles perspectives expérimentales peuvent être envisagées par une étude plus poussée de la composition chimique par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS) qui devrait nous permettre d'identifier clairement les molécules impliquées dans l'effet antibactérien, et antioxydant, et d'avancer vers une meilleure connaissance du (des) mécanisme(s) moléculaire(s) intervenant dans les effets biologiques observés.
- L'activité antibactérienne et anti-oxydante, doit être menée non seulement sur l'HE, mais également sur ses composés séparés.

- Il serait intéressant de continuer ces travaux notamment sur d'autres bactéries pathogènes, levures, champignons et virus afin de confirmer l'efficacité ou non de ces HE et analyser les composants bioactifs de ces plantes des autres régions du pays.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] Bruneton. J ; 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3èmeédition, Ed. TEC et DOC, Paris.

[2] Teuscher. E, Anton. R. et Lobstein. A ; 2005. Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments er huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris.

[3] Chalchat. J.K, Carry. L. P, Menut. C, Lamaty. G, Malhuret. R and Chopineau.J; 1997.Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. J. Essent. Oil Res., 9: 67-75.

[4] Baser. K. H, Tümen. G, Tabanca. N. and Demirci.F ; 2001. Composition and antibacterial activity of the essential oils from Saturejawiedemanniana (Lallem.). Velen. Z. Naturforsch, 56c : 731-738.

[5] Deans. G.C, Noble.C.R, Mac Pherson.A, Penzes. L, Imre. G.S. and Hofecker.G ; 1994. SkalickyAgeing Series, vol 4, Facultas Press, Vienna, , p. 173.

[6] Miguel. M.G, Figueiredo. C, Costa. M.M, Martins. D, Duarte. J, Barroso. J. G. and Pedro. L.G ; 2003. Effect of the volatile constituents isolated from Thymus albicans, T. mastichina, T. carnosus and T. capiata in sunflower oil. Nahrung Food, 47 (6): 397-402.

[7] Garnero.J., 2003.Les huilesessentielles.Techniques de l'Ingénieur, K345.

[8] Haddouchi. F et Benmansour. A., 2008. Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire, 8, 20-27.

[9] France-Ida. J., 1996. Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. Info-essence. 3 : 5-6.

[10] Bruneton. J., 1999. Pharmacognosie : Phytochimie : Plantes médicinales. 3ème édition : tec et Doc). PP : 1120.

[11] Bekhechi. CH, Abdelouahid. D., 2014. Les huiles essentielles. Edition OPU, 1.04.5145.

[12] Bekhechi. CH et Abdelouahid. D., 2014. Les huiles essentielles. Edition OPU, 1.04.5145.

[13] Belaïche. P., 1979. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Ed. Maloine S. A., Tome I.

[14] Guignard. J.L., 1996. Biochimie végétale, 10ème éd. Masson.

[15] Fouché. J.G, Marquet. A et Hambuckers. A., 2008. Les plantes médicinales et la plante au médicament conception et réalisation.

[16] Jean-Luc Sallé., 1991. Les huiles essentielles. Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed : FRISSON-ROCHE, Parie.

[17] Lemberg. S., 1982. Perfumer and flavorist; 7: 58-63.

[18] Bruneton. J., 2000. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème éditions, TEC et DOC. Lavoisier, Paris.

[19] Bekhechi. CH et Abdelouahid. D., 2014. Les huiles essentielles. Edition OPU, 1.04.5145.

[20] Franchomme. P, Jollois. R et Pénoël. D., 1990. In« L'aromathérapie exactement », pp 44 48. Roger Jollois, éditeur, Limoges, France.

[21] Zhiri. A., 2006. Nutra News, science, nutrition, prévention et santé.

[22] Azalenco. K., 2005. Contribution à la détermination des chemotypes d'une plante à huile essentielle du Togo *Lippiamuti flora*. Mémoire d'Ingénieur de travaux, ESTBA, Univ. Lomé.

[23] Anton. J. C., Weniger. B et Anton. R., 2006. Huiles essentielles in actifs et additifs en cosmétologie. 3ème édition, Lavoisier Tec et Doc, Paris. P 189-229.

[24] Koshkomba. E ; 2004. Propriétés antifongiques d'huiles essentielles de quatre espèces d'Eucalyptus du Campus universitaire de Lomé (Togo). Mémoire de DEA de biologie de développement. Faculté des sciences. Université de Lomé, 41p.

[25] Oussalah. M., 2007.Inhibitory effects of selected plant essential oils on *Pseudomonas putida* growth, a bacterial spoilage meat.Meat science.Vol 73, p 236-244.

[26] Vargas. I, Sanz. I. et Prima-Yufera. E., 1999. Antimicrobial and Antioxidant compounds in the non volatile fraction of expressed range essential oil. J. Food Prot, 62(8): 929-932.

[27] Maruzzella. J.C., 1962. The germicidal properties of perfume oils perfumery chemicals. Am. Perfum. Cosmet, 77(1): 67-72.

[28] Roulier. G., 1992. Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Edit. Dangles. France.

[29] Busta. F.F etFoegeding. P.M; 1980.Chemical food preservatives.In S. block.Disinfection, sterilization and preservatio.656-694. Lea and febiger.Eds, Philadelphia. USA.

[30] Lis-Balchin. M, Buchbauer. G, Hirtenlehner. T. etResch. M., 1998. Antimicrobial Activity of Pelargonium essential oils added to a quiche filling as a model food system. LettApplMicrobiol, 27(4): 207-210.

[31] Lachowicz. K.J, Jones.G.P, Briggs.D.R, Bienvenu.F.E, Wan. J, Wilcock. A, et Coventry. M.J; 1998. The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (OcimumbasilicumL) against acid-tolerant food microflora. LettApplMicrobiol, 26(3): 209-214.

[32] Hammer. K.A, Carson. C.F et Riley T.V; 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. J. ApplMicrobiol. 1999, 86(6): 985-990.

[33] Fenaroli. G, Fenaroli's ; 1995. Handbook of flavor ingredient, 3rd ed.CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.

[34] Bilgrami. K.S, Sinha. K.K et Sinha. A.K; 1992. Inhibition of aflatoxin production and growth of Aspergillus flavusbyeugenol, onion, and garlic extracts. Indian. J. Med. Res. 96, 171-175.

[35] Hitokoto. H, Morozomi. S, Wauke. T, Sakai. S and Kurata. H ; 1980. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production oftoxigenic fungi. Appl. Environ. Microbil. 39: 818-822.

[36] Tuberculosis prevention Trial. Trial of BCG vaccines in South India For Tuberculosis prevention. First report. Bull. Wld. Hlth. Org., 1979, 57: 819-827.

[37] Beraoud. L, Bessière. J.M. and TantaouiElaraki. A; 1991. Chemical composition of the essential oils of selected plant materials used in Moroccan cuisine. Al-BirunyaRev. Mar. Pharm, 7, 49-69.

[38] Beraoud. L ; 1990. Effet de certains épices et plantes aromatiques et leurs extraits sur la croissance et la toxinogénèse d'Aspergillus parasiticus NRRL 2999. Thèse 3ème cycle. Faculté des sciences de Rabat. Maroc.

[39] Beuchat. L.R; 1976.Sensitivity of Vibrio parahaemolyticusto spices and organic acids. J. Food. Sc, 41, 899-902.

[40] Madhyasta. M.S etBhat. R.V; 1984.Aspergillusparasiticusgrowth and aflatoxin production on black and white pepper and the inhibitory action oftheir chemical constituents.Appl. Environ. Microbiol, 48: 376-379.

[41] Bhar. Lt et Balouk. C.A ; 2011. Les plantes aromatiques et médicinales. L'espace marocain N°68, 2ème trimestre.

[42] Khelfane. F et Yousfi. A ; 1987. Extraction et analyse chromatographique de l'huile essentielle d'Eucalyptus globus. Thèse d'Ingéniorat ; E.N.P ; Alger.

[43] Benjilali. B ; 2004. Extraction des plantes aromatiques et médicinales : cas particulier de l'entrainement à la vapeur d'eau et ses équipements. Institut agronomique et vétérinaire, Maroc.

[44] Arthur. E. Rose ; 1965. Technique of organicchemistry, vol IV Distillation. Pp 130, 2nd Edition by John Wiley and sons, New York.

[45] Pavida. D. L, Lampman. G. M, et Kriz. G. S ; 1976. Introduction to organic laboratory techniques. W. B. Sauders Co. Philadelphia, USA. 567-573.

[46] Hernandez Ochoa. L. R; 2005. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.

[47] Meyer-Warnod. B; 1984.Natural essential oils. Extraction processes and application to some major oils. Perfumer et Flavorist, 9, 93-103.

[48] Kapetanovic. S, Djugumovic. S., et Ramic. R ; 1984. Isolement de l'huile essentielle de rose par distillation sèche. Parfums, Cosmétiques et Arômes(56).

[49] Manuel de présentation des équipements, Société AGRAROMES (Suisse).

[50] Raynaud. J ; 2006. Prescription et conseil en aromathérapie. Edition TEC et DOC. Lavoisier, Paris.

[51] Martini. M. C et Seiller. M ; 1999. Actifs et additifs en cosmétologie, 2ème éditions, TEC et DOC. Lavoisier, Paris.

[52] Basil. A, Jimenez-Carmona. M.M et Clifford. A.A; 1998.Extraction of Rosemary by super heated water.Journal of foodchemistry, Vol. 46, n°12, p : 5205-5209.

[53] Vernin. G ; 1982. Arômes alimentaires et développements récents. Ed. APRIA.

[54] Hernandez-Ochoa. L. R ; 2005. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné «Solvant/actif» d'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse. France.

[55] Hesse et Zeitscel. J. PraktChemie ; 1901 et 1902, cité par Guenther ; (1) vol 1, page 198, édition 1972.

[56] Chemat. F, Tomao. V et Virot. M; 2005.Ultrasound-assisted extraction in food analysis.In handbook of food analysis instruments by semihotles (pp. 85-103).Boca Raton, Florida, USA : CRC press.

[57] Lagunez-Rivera. L ; 2006. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.

[58] Paré. J ; 1997. Procédé assisté par micro-ondes. Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles, 4 :p.4.

[59] Scheffer. J.J.C ; 1996. Various methods for the isolation of essential oils.Phytother. Res., 10:S6-S7.

[60] Wichtel. M. et Anton. R ; 1999. Plantes thérapeutiques: tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques. Ed. Tec et Doc.

[61] Rivera. L.L ; 2006. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe, thèse dedoctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, spécialité : Sciences des Agro-ressources.

[62] Gauthier. A ; 2001. Industrie chimique, Un contexte favorable pour les applications de l'électricité. Info chimie magazine nº 426.

[63] Salfati. S ; 1996. Le vecteur énergétique de la chimie nouvelle. Informations chimie No.384.

[64] Callebaut. J, Laborelec ; 2007. Chauffage par induction. European Copper Institute et Centre d'Information du Cuivre et Copper Benelux.

[65] Page web "http://www.fr.wikipedia.org/wiki/Chauffage par induction.htm". Date de dernière consultation: le 15/05/2015.

[66] Pellecuer. J, Roussel. J.L et Andary. C ; 1980. Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles. RivistaItalianaEssenzo (EPPOS). 23,45-50.

[67] Viollon. C, Chaumont. J.P ; 1994. Antifungal properties of essential oils and their main components upon Cryptococcus neoformans.Mycopathologia. 128(3), 151-153.

[68] Chaumont. J.P et Leger. D ; 1989. Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisin. Relation structure –activité. Plant Med. Phyto. 23(2), 124-126.

[69] Sivropoulou. A, Papanikolaou. E, Nikolaou. C, Kokkini. S, Lanaras. T and Arsenakis. M ; 1996. Antimicrobial and cytotoxicactivities of origanum essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.44, 1202-1205.

[70] Maach. A.et Jemali. A ; 1986. Etude des caractéristiques physico-chimiques des HE de deux plantes aromatiques cultivées au Maroc: Menthe NaaNaa Abdi, Coriandre. IAV Hassan II, Rabat, Maroc.

[71] Blayn. J. F ; 1980. Parfums Cosmétique Arômes, N°117.

[72] Vagi. E, Simandi. B, Suhajda. A., 2005.Hethelyi. Essential oil composition and antimicrobial activity of Origanum marjorana L. Extracts btained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. J., 38, 51-57.

[73] Zhiri. A., 2006. Nutra News, science, nutrition, prévention et santé.

[74] De Billerbeck. V.G., 2007. Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytothérapie. 5: p. 249-253.

[75] Sivropoulou. A., Papanikolaou. E., Nikolaou. C., Kokkini. S., Lanaras. T. et Arsenakis ; M., 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of origanum essential oils.*Journal of. Agricultural and Food Chemistry*. 44: p. 1202 - 1205.

[76] Lis –Balchin; 2001. Essential oils: their pharmacological action on guinea-pig ileum and antimicrobial activity on microorganisms. J Pham Pharmacol 53(4): 579-82.

[77] Kalemba. D et Kunicka.A; 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal chemistry 10, 813-829.

[78] Cristiani. M, D'Arrigo. M, Mandalari. G, Castelli. F, Sarpietro. M. G et Micieli. D; 2007.Interraction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6300-6308.

[79] Carson. C.F. and Riley. T. V; 1995. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of Melaleucaalternifolia. *Journal of Applied Bacteriology*, 78 :264-269.

[80] Bakkali. F, Averbeck. S, Averbeck. D, etIdaomar.M., 2008.Biological effects of essential oils.*Food and ChemicalToxicology*, 46, 446-475.

[81] El-kalamouni. C ; 2010. Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat en sciences de la matière. Université de Toulouse.

[82] Belaïche. P ; 1979. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Ed. Maloine S. A., Tome I.

[83] Robert-Demuet. S.,1995. Méthodes de dilutions. In Antibiotiques et antibiogramme, 131-137. Montréal, Canada.

[84]Suppakul. P., Miltz. J., Sonneveld. K. et Bigger. S. W ; 2003. Antimicrobial properties of Basil and its possible application in food packaging. J.Agric. Food Chem., 51: 3197-3207.

[85] Mann. C. M et Markham J. L ; 1998. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils.*Journal of Applied Microbiology*, 84, 538-544.

[86] Haddouchi. F, Lazouni. H, Ahammer. K. A. Carson. C. F. et Riley. T. V ;1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology, 86, 985-990.

[87] Benjilali. B, Tantaoui-Elaraki. A, Ismaïli-Alaoui. M. et Ayadi. A ; 1986. Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes médicinales et phytothérapie, 20 (2): 155-167.

[88] Hulin. V, Mathot. A.G, Mafart. P. et Dufossé. L ; 1998. Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'aromes. Sciences des aliments, 18: 563-582.

[89] Edris. A. E,2007. Pharmaceutical and thérapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents : A review. Phytother. Res. 21, 308-323.

[90] Butterfieid.D etLauderback.C ; 2002.Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain : potential causes and consequences involving amyloid beta-peptid associated free radical oxidative stress. Free Radie. Biol. Med. 32, 1050-1060.

[91] Gardner. P ; 1997.Superoxide-driven aconitase FE-S center cycling. BioscienceRep. 17, 33-42.

[92] Braga. P. C, Dal Sasso. M, Culici. M, Gasastri. L, Marceca. MX et Guffanti. E. E ; 2006. Antioxydant potential of Thymol determined by Chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems. Pharmacology 76, 61-68.

[93] Smirnoff. N ; 2005**.** Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants; Ed 1: BLACKWELL; p: 141-210.

[94] Kohen. R et Nyska. A; 2002. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, Redox reactions and methods for their quantification. ToxicoloPathol. 30: 620-650.

[95] Dacosta, Y ; 2003. Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317 p.

[96] Vansant. G., 2004. Radicaux libres et antioxydants : Principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.

[97] Novelli. G. P ; 1997. Role of free radicals in septicshock. J PhysiolPharmacol. 48 : 517-527

[98] Favier. A ; 2003**.** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115.

[99] Curtay. J.P. et Robin. J.M ; 2000. Intérêt des complexes antioxydants. Nu trithérapie Info. Centre d'étude et de développement de la nutrithérapie.

[100] Pincemail. J. et Defraigne. J.O ; 2004. Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, Symposium « antioxydant et alimentation » institut Danone.

[101] Lehucher-Michel. M. P, Lesgards. J. F, Delubac O. et autre ; 2001. Stress oxydant et pathologies humaines. Press Med. 30: 1076-1081.

[102] Kohen. R et Nyska. A ; 2002. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. ToxicoloPathol. 30: 620-650.

[103] Diouf. P. N, Merlin. A and Perrin. D ; 2006. Antioxidant properties of wood extracts and colour stability of woods. Annals of Forest Science, 63: 525-534.

[104] Belkheiri. N ; 2010. Dérivés phénoliques et activités antiathérogènes. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse, p 113.

[105] Huang. D, Ou. B et Prior. R.L ; 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6): 1841-1856.

[106] Fasseas. M. K, Mountzouris. K. C, Tarantilis. P. A, Polissiou. M et Zervas. G ; 2007. Antioxydant activity in meat treated with Oreganoand Sage essential oils. *Food Chemistry*, 106, 1188-1194.

[107] Benzie. I. F. F etStrain J. J. Anal. Biochem ; 1996, 239, 70-76.

[108] Apak. R, Güçlü. K. G, ÖzyürekMetKarademir. S. E. J ; 2004. Agric. Food Chem. 52, 7970-7981.

[109] Allard. J, Royall. D, Kurian. R, Muggli. R et Jeejeebhoy. K ; 1994. Effects ofβ-carotene supplementation on lipid peroxidation in humans, *A mjClimNutr* , 59: 884 – 90.

[110] Biesalski. H.K, Hemmes. C, Hopfenmaller. W, Schmid. C etGollnick.H.P ; 1996. Effects of controlled exposure of sunlight on plasma and skin levels of β-carotene, Free Radio Res, 24 : 215-224.

[111] Marco.G.L ; 1968. A rapid method for evaluation of antioxidants. *J Am OilChemSoc*, 45 : 594-8.

[112] Miller. H.E ; 1971. A simplified method for the evaluation of antioxidants, *J Am Oil ChemSoc*, 48 : 91.

[113] VonGadow. A, Joubert. E etHansmann.C.F ; 1997. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (Aspalathuslinearis), α-tocopherol , BHT, and BHA. *J Agric Food Chem* , 45 : 632-8.

[114] Kartal. N, Sokmen. M, Tepe. B.D, Polissiou.M etSokmen A., 2007. Investigation of the antioxydant properties of Ferula orientalsL. using a suitable extraction procedure. Food Chemistry, 100:584-589.

[115] Pratt. D et Miller. E ; 1984 ; A flavonoid antioxidant in spanish peanuts (Arachiahypogoea), *J Am Oil ChemSoc*; 61: 1064-7.

[116] Svoboda et Svoboda;2000 .Secretory structures of aromatic and medicinal plants; Ed: microscopix publications; p: 7-12.

[117] Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., et Gontier E; 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective; Plant Science 161, p: 839-851. KAR A.; 2007.

[118] Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie; Ed 2: new age international publishers; p: 1-30.

[119] T. Johnson; 1999.Ethnobotany desk reference, CRC Press Boca Raton London, New York, Washington, D.C., USA 730.

[120]Wiart C; 2006. Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future; Ed: world scientific ; p: 401 - 416.

[121] Bonnier G; 1999. La Grande Flore en Couleur; Ed : belin; Tome 3; p:205 - 206.

[122] Baba iassaF ; 1999 . Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb ; Ed : librairie moderne – ROUIBA ; p : 243 - 244.

[123] NT. Beniston ; 1984. Fleurs d'Algérie , Entreprise nationale du livre, N° d'édition/1822/84, Alger 120.

[124] T. Johnson;1999. Ethnobotany desk reference, CRC Press Boca Raton London, New York, Washington, D.C., USA 730.

[125] Centre for Mediterranean Cooperation, International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, "*A guide to medicinal plants in North Africa*", publié par IUCN, 2005.

[126] W.S.Beniston ; 1984. fleurs d'algérie N° d'ed .1822/84 ;entreprise nationale du livre ; alger .

[127] John T;1995.Arnason, Phytochemistry of Medicinal Plants, Springer72 p. ,

[128] François Couplan, *Les plantes et leurs noms : Histoires insolites*, Editions Quae,156 p. ,2012

[129] Baser K.H.C; Ozek T; and BeisS.Hm; 2003.Constituents of the essentiel oil do Rutachalepensis L, from Turkey. J. Essent. Oil Res; 8, 413-414,.

[130] Bilderback L; 2007. Spices and Herbs; Ed: alpha books; P: 177-178.

[131] Le moine e ;2001 . Les Plantes : Aromatiques et Médicinales; Ed : moliere Paris; p : 92

[132] Balch J. F. et Stengler M.; 2004; Prescription for Natural Cures; Ed: johnwiley& SONS; p: 146.

[133] Benkiki N ;2006. Etude phytochimique des plantes medicinales algeriennes: Ruta montana, matricariapubescens et hypericumper foliatum, Thèse de doctorat, Faculté des sciences, Université de Batna,.

[134] Richter G ; 1993. Métabolisme des végétaux, Physiologie et Biochimie 5ème Ed. Lausanne 339,

[135] Bruneton J ;1999. Pharmacognosie, Photochimie Des Plantes Médicinales, 3ème Ed, Technique et Documentation Lavoisier, Paris 230,

[136] Petit-Play G; Rideau M; Chenieux J.C ;1982. Etude de quelques Rutacées à Alcaloides-Rutagraveolens, Revue Botaniqus, Chimique et Pharmacologique, Tome XVI 1,72,

[137] Weterman P.G; Grundon M.F;1983. Chemistry, Chemical Taxonomy Of The Rutales, Academic Press London-New York,.

[138] Page web,http://www.plants.usda.gov/java/profile?symbol=RUCH4. Date de dernière consultation: le 22/04/2015.

[139] Gray A.I; Wataman P.G;1978. Phytochemistry, 17, 845,

[140] Schemmer O; Leismeister U, Mutagenesis;1999. 467, 1989. Documentation Lavoisier, Paris 230,

[141] R. Zamora-Ros et al., Dietary flavonoid and lignan intake and breast cancer risk according to menopause and hormone receptor status in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) Study ,

[142] Mohr N; 1982.Budzik.H; El-Tawil B.A.H, Phytochemistry,

[143] Baser K.H.C; Ozek T; and BeisS.Hm;2003.Constituents of the essentiel oil do Ruta chalepensis L, from Turkey. J. Essent. OilRes; 8, 413-414,.

[144] Le moine E. ; 2001 ; Les Plantes : Aromatiques et Médicinales; Ed : moliere Paris; p : 92

[145] Schauenberg p. et Paris F. ; 1977 ; Guide des plantes médicinales ; Ed3 : Delechaux et Niestle; p : 106-119.

[146] DukeA.J., Duke P.A.K. et Ducellie J.L. ; 2008 . dukeˮs handbook of Medicinal Plants of the Bible, Ed: CRC PRESS; p: 394 – 397.

[147] Web page http://fr.wikipedia.org/wiki/Cumin date de dernière consultation 16/03/2015

[148] Vican, P ; 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse (Ed). Paris, 355p.

[149] Bremness, L ; 2002. Plantes aromatiques et médicinales. Bordas (Ed). Paris, 303 p.

[150] Référence thérapeutique de 214 Elixirs" aux Editions Col du Feu (32 euros franco de port pour la France)

[151] Dans http://www.inchem.org/ - Rev. perubiol. vol.13 no.3 Lima date de dernière consultation 22/03/2015.

[152] Rapport fait à la Convention nationale dans la séance du 3 du second mois de la seconde année de la République Française p. 28

[153] Effects of moisture content, seed size, loading rate and seed orientation on force and energy required for fracturing cumin seed (*Cuminum cyminum* Linn.) under quasi-static loading. *J Food Engineering*.**86**: 565-572.

[154] Lipid studies of *cuminum cyminum* fixed oil Pak. *J Bot*. **36**: 395-401.

[155] Webpage : http://www.africa-plants.com/1Cumin.htm date de dernière consultation 22/03/2015

[156] La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed). Paris,764 p.

[157] Microwave heating and conventional roasting of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) and effect on chemical composition of volatiles. *Food Chem*. **87**: 25-29.

[158] Flavonoid patterns in the fruits of The Umbelliferae.*Phytochemiatry*.**11**: 1741-1750

[159] Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem*. **97**: 122-129

[160] Cumin herb as a new source of essential oils and its response to foliar spray with some micro-elements. *Food Chem*. **77**: 75-80

[161] Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control*.**14**: 141-143.

[162] Chemical and biological characteristics of *Cuminumcyminum*andRosmarinusofficinalisessentialoils.*Food Chem*. **102**: 898-904.

[163] Antifungal effect of some spice hydrosols. *Fitoterapia*.**76**: 661- 665.

[164] A survey of the incidence and level of aflatoxin contamination in a range of imported spice preparations on the Irish retail market. *Food Chem*.**107**:1429-1435.

[165] Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects.*J Stored Products Research*. **36**: 161-168.

[166] Chemical and biological characteristics of *Cuminumcyminum*andRosmarinusofficinalisessential oils. *Food Chem*. **102**: 898-904

[167] Nalini, N., Sabitha, K., Viswanathan, P., Menon, V.P;1998 Influence of spices on the bacterial (enzyme) activity in experimental colon cancer. *JEthnopharmacol*.**62**: 15-24.

[168] Roman-Ramos;1995.R., Flores-Saenz, J.L., Alarcon-Aguilar, F.J. Anti-hyperglycemic effect of some edible plants.*J Ethnopharmacol*.**48**: 25-32.

[169] Willatgamuwa. S.A., Platel, K., Saraswathi, G., Srinivasan, K. (1998) Antidiabeticinfluence of dietary cumin seeds in streptozotocin induced diabetic rats. NutritionResearch.**18**: 131-142.

[170] Ho, S.C., Tsai, T.H., Tsai, P.J., Lin, C.C;2008. Protective capacities of certain spices againstperoxynitrite-mediatedbiomolecular damage. *Food and Chemical Toxicology*.**46**: 920-928.

[171] Platel, K., Srinivasan, K.; 2000**.** Stimulatory influence of select spices on bile secretion in rats.Nutrition Research.**20**: 1493-1503.

[172] Janahmadi, M., Niazi, F., Danyali, S., Kamalinejad, M;2006.Effects of the fruit essential oil of *Cuminumcyminum*Linn.(Apiaceae) on pentylenetetrazol-induced epileptiform activity in F1 neurones of *Helix aspersa*.*J Ethnopharmacol*.**104**: 278-282.

[173] Al-Bataina, B.A.,Maslat, A.O., AL-Kofahi, M.M.;2003.Element analysis and biological studies on ten oriental spices using XRF and Ames test.*J Trace Elem. Med. Biol*. **17:**85-90.

[174] Page web: http://www.maps google.com.*Date de dernière consultation : le 16/05/2015*.

[175] RamdaniBouguessa. N, Seghier. M, Belouni. R et Benslimani. A ; 2010. Manuel de microbiologie, à l'usage des étudiants en 3ème année de médecine. OPU, Edit : 1.04.5042.

[176] Krieg. N.R et Holt. J.G., 1984. Bergy's Manual systematic Bactériology. *ÉditionBarbara.Tansil* ; 1: 941.

[177] Clevenger. J.F ; 1928. Determination of volatile oil.J. Ann. Pharm. Assoc. 17(4), 346-351.

[178] Megateli. S ; 2009. Extraction des huiles essentielles par le procédé de chauffage par induction magnétique, cas de *Ruta chalepensis* L et *Cuminum cyminum* L. Thèse de Magistère en Génie des procédés pharmaceutiques, Université YAHYA Fares de Médéa.

[179] Mohammedi. Z., 2006. Etude de pouvoir antibactérien et antioxydant de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister. Option: produit naturels, activité biologique et synthèses. Faculté des sciences. Université AAB. Tlemcen .Algérie.

[180] Elenkova.N., 1983.Chimie analytique et méthodes physiques d'analyse. *Ed. Technika Sofia: 123-128.* Bulgarie.

[181] Afnor ; 2000. Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse (tome 1). Monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2. volumes 1 et 2) mars.

[182] Duraf fourd. C, D'Hervicourt. L. et Lapraz. J. C ; 1990. Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2 ème éd. Masson, Paris.

[183] Ponce. A.G, Fritz. R, Del Valle. C et Roura. S.I ; 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chad. Le bensmitt el. Wissens chaftund technologic, 36, 679-684.

[184] Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 4ème édition, 2005.

[185] Skandamis. P. N et Nychas. G.J.E ;2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attribues of minced meat stored in air and modified atmospheres. *Journal of applied Microbiology*, 91, 1011-1022.

[186] Benmansour. A ; 1999. Etude et valorisation de l'Armoise blanche d l'ouest algérien et des noyaux de deux variétés de dattes algériennes. Thèse du Doctorat d'état. Université de Tlemcen. 211.

[187] Sanchez-Moreno C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Int. J. of Foods Sci. Tech. 8: 121-137.

[188] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., and BersetC. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm.Wiss. Technol. 28: 25-30.

[189] Mansouri. A., Embarek. G, Kokkalou. E. et Kefalas. P ; 2005. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (Phoenix dactylifera); Food Chemistry 89; p: 411-420.

[190] Torres.R ; 2006. Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of Haplopappusmultifolius; Phytochemistry 67; Ed: ELSEVIER; p: 984 -987.

[191] Cristina. P, Ilonka. S et Bartek. T ; 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel ISSN 1313-8871, http://www.revue-genie-industriel.info.

[192] Foragen ; 2001. Transformation plus efficace de produits naturels. Bulletin «Visions» de Foragen, vol. 2, Éd. 2, Publié par: Gestion Foragen Technologies, disponible sur la page web :*www.foragen.com*.

[193] Gérard. D. Chauffage par induction éléctromagnétique : Principes. D 5 935. 10, 22.

[194] Zoumbia. Y, Youcef Ettoumi. K, Krea. M, Moulai-Mostefa. N ; 2014. A new approch for pectin extraction : Electromagnetic induction heating. Arabian Journal of Chemistry.

[195] Rivera. L.L ; 2006. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe, thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, spécialité : Sciences des Agro-ressources.

[196] Kelen. M et Tepe. B ; 2008. Chemical composition, antioxydant and antimicrobial proprieties of the essential oils of three Salvia species from Turkish flora.BioressourceTechnology, 99, 4096-4104.

[197] Vekiari. S. A, Protopapadakis. E. F, Papadopoulou. P, Papanicolaou. D, Panou. C et Vamvakias. M ; 2002. Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5(1), 147-153.

[198] Flück H. (1942) – Nos plantes médicinales. Traduit par Weitzel R., librairie Payot, Lausanne, pp. 8-14.

[199] Bouguerra. A ; 2011. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de magister en sciences alimentaires. Université Mentouri, Constantine.

[200] Food chemicals codex, 5eme edition, The national academiespress, USA,2004.

[201] Naeini. A. R, Nazeri. M, Shokri. H ; 2011. Activité antifongique des huiles essentielles de *Zataria multiflora*, *Pelargonium graveolens* et *Cuminum cyminum* sur trois espèces de Malassezia isolées de patients atteints de pityriasis versicolor.

[202] Pattnaik. S. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essentials oils.

[203] Hajlaoui. H, Mighri. H, Noumi. E, Snoussi. M, Trabelsi. N, Ksouri. R, Bakhrouf. A ; 2010. Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminumcyminum* L. Essential oil: A high effectiveness against Vibriospp. Strains.

[204] Cox.S. D, Mann. C. M, Markham. J. L, Bell. H. C, Gustafson. J. E, Warmington. J. R et Wyllie. S. G., 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil).*J. Appl. Microbiol*. 88: 170–175.

[205] Ziming. W, Lan. D, Tiechun. L, Xin. Z,Lu. W, Hanqi. Z, Li. L, Ying. L, Zhihong. L, Hongju. W, Hong. Z etHui. H ; 2006. Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. And Zanthoxylumbungeanum Maxim.

[206] Haddouchi. F, Chaouche. T. M, Zaouali. Y, Ksouri. R, Attou. A et Benmansour. A ; 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four Ruta species growing in Algeria.*Food Chemistry*, 141, 253-258.

[207] Ben-Bnina, E, Hammami, S, Daamii-remadi, M, Ben-Jannet, H et Mighri, Z ; 2010. Chemical composition and antimicrobial effects of TunisianRutachalepensisL.Essential oils.Journal de la Société Chimique de Tunisie, 12, 1–9.

[208] Proestos, C. Boziaris. I. S, Nychas. G. J. E et Komaitis, M ; 2006. Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity.Food Chemistry, 95, 664–671.

[209] Mailhebiau. P ; 1994.La nouvelle aromathérapie: caractérologie des essences et tempéraments humains: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne: Jakin Ed., pp. 635.

[210] Hogg. S ; 2005. Essential Microbiology. John Wiley et Sons, Ltd., Chichester, West Sussex, England.

[211] Delaquis. P. J, Stanich. K, Girard. B et Mazza, G ; 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food Microbiology, 74, 101–109.

[212] Dorman. H. J. D et Deans. S. G ; 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88(2), 308–316.

[213] Lambert. R. J. W, Skandamis. P. N, Coote. P et Nychas. G. J. E ; 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology, 91, 453–462.

[214] Griffin. S. G, Wyllie. S. G, Markham. J. L et Leach. D. N ; 1999. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity.Flavouret Fragrance, 14(5), 322–332.

[215] Sharififar, F., Moshafi, M.H., Mansouri, S.H., Khodashenas, M., Khoshnoodi, M., 2007. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic Zatariamultiflora Boiss. Food Control 18, 800–805

[216] Sbovoda. K. P etHampson. J. B ; 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.

[217] Akash. K, Bhanu. P, Prashant. K. Mishra, et Dubey. N. K ; 2014. Antifungal and antiaflatoxigenic properties of *Cuminum cyminum* L, seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities. *International Journal of Food Microbiology* 168–169 (2014) 1–7.

[218] Ruberto. G etBaratta. M.T., 2000. Antioxidant activity of selected essential oil com-ponents in two lipid model systems. Food Chem. 69, 167–174

[219] Tepe . B, Donmez. E, Unlu. M, Candan. F, Daferera. D, Vardar-Unlu. G, Polissiou. M, et Sokmen. A; 2004. Antibacterial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of Salvia cryptantha (Montbret et Aucher ex Benth.) and Salviamulticaulis (Vahl). Food Chem. 84: 519–525.

[220] Sidi Boulenouar. K et Ziane. A; 2003. Etude phytochimique des huiles essentielles de Lavandulastoechas L. de la région de Tlemcen. Mémoire de DES en Biochimie. Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen, 54 p.