REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Chimie

Spécialité : Chimie Macromoléculaire

Par :

KHEDIM NOUREDDINE

Thème :

Procédés d'extraction et analyse des composés volatils d'une plante médicinale (*Ocimum basilicum L*)

Soutenue publiquement le : 14 /06 /2018. Devant le jury composé de :

Dr NEDJHIOUI MOHAMED	Grade : M.C.A	Université de Médéa	Président
CHAOUATI KARIMA	Grade : M.A.B	Université de Médéa	Examinateur
BOUAZZA FATMA	Grade : M.A.B	Université de Médéa	Encadreur

Année universitaire 2017/2018

Remerciement

Après avoir remercié Dieu le tout-puissant qui m'a fait aidé à mes études et m'a aidé à finir ce travail.

Je remercie mes chers parents qui ont été mon premier lien dans ma vie et le secret de mon succès.

Mes sincères remerciements à la professeur Bouazza Fatma, pour sa disponibilité et son aide précieuse.

Des remerciements vont au président et au membre de jury que je suis honoré d'être avec ce jour.

Je voudrais également remercier mes éminents professeurs, qui m'ont enseignés depuis la première année de mon éducation élémentaire jusqu'aux années académiques, qui ont été désireux d'éduquer et d'enrichir mes connaissances.

Je n'oublie pas non plus de remercier tous les membres de ma famille de près ou de loin.

Je tiens à remercier tous les enseignants qui enseignent à l'université du Dr Yahia Farés à Médéa et remercier tout le personnel de SAIDAL de Médéa.

Je termine mes remerciements à tous mes amis et collègues et à tous ceux qui ont contribué au à la réalisation de ce travail de près ou de loin.

Dédicace

Je tiens à remercier ALLAH le Tout-Puissant qui m'a donné la force d'accomplir ce modeste travail.

Je dédie cet humble travail aux chers parents qui ont veillé sur mon succès futur.

Je dédie également ce travail aux professeurs qui m'ont enseigné et pris soin de mon étudions et de mon succès.

Je dédie aussi ce travail à mes amis et collègues qui m'ont aidé dans ma carrière académique, et à tous ceux qui connaissent Khedim noureddine.

Enfin, je dédie ce travail modeste à ma famille et aux Khedim dans tout le pays Algérien.

Remerciement

Dédicace

Résumé

Introduction générale ……01

Partie théorique

Chapitre I : la plante d'ocimum basilicum

I.1. Introduction……...03

I.2. Les différents noms de la plante……03

I.3. Description botanique……...04

I.3.1. Classification botanique…….....04

I.3.2. Description botanique…….....04

I.3.2.1. La tige…….....04

I.3.2.2. Les feuilles……...04

I.3.2.3. Les fleurs…….....04

I.3.2.4. Les floraisons…….……..05

I.4. Indications thérapeutiques usuelles…….....06

Chapitre II : Les huiles essentielles d'ocimum basilicum

II.1. Définition des huiles essentielles……..……07

II.2. Répartition, localisation des huiles essentielles…….....07

II.3. Variabilité des huiles essentielles ……08

II.4. Propriétés physiques et chimiques d'huiles essentielles…….08

II.5. Composition chimique dans l'huile essentielle ……09

II.5.1.1. Les mono terpènes……...…..…….09

II.5.2. Les sesquiterpènes…….....10

II.6. Toxicité des huiles essentielles…….……....10

II.7. Conservation des huiles essentielles……..11

II.8.Utilisation des huiles essentielles……..……....11

Chapitre III : Les procédés d'extraction des huiles essentielles

III.1. Hydro distillation…….....12

III.2. Entraînement à la vapeur d'eau……...……13

III.3. Extraction assisté par micro-ondes…….14

III.4.Extraction par détente instantanée contrôlée……15

III.5. D'autre méthode

III.5.1. Extraction par solvants volatils ……..…….17

III.5.2. Extraction par Soxhlet……..……17

III.5.3. Extraction par ultrasons……..…….18

III.5.4. Extraction par le CO_2 à l'état supercritique…….20

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

Partie IV.1 : préparation et analyses physico-chimique d'huile essentielle d'ocimum basilicum

IV.1.1. Matériel

IV.1.1.1. Matériel biologique…….....24

IV.1.1.2. Matériel non biologique …….....24

IV.1.2. Méthode

IV.1.2.1. Séchage de la plante……...……...25

IV.1.2.2. Extraction des huiles essentielles…….....25

IV.1.2.2.2. Rendement……...…….....26

IV.1.2.3.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse ……..……...27

IV.1.2.3.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse …….29

IV.1.2.4. Identification……...31

IV.1.2.5. Détermination des mesures des constantes physico-chimique …..…….....32

IV.1.2.5.1. Mesure de la densité……...……..32

IV.1.2.5.2. Mesure de l'indice de réfraction ……..32

Partie IV.2 : Etude des activités anti oxydation et activité anti inflammatoire

IV.2.1. Matériel

IV.2.1.1. Matériel biologique…….....33

IV.2.1.2.Matériel non biologique ……...….....34

IV.2.1.3. Produit et réactif chimique…….…….....34

IV.2.2. Méthode

IV.2.2.1. Activité anti oxydante par DPPH ……..…….....35

IV.2.2.2. Activité anti inflammatoire…….36

Chapitre V : Résultats et discussion

Partie V.1 : préparation et analyses physico-chimique des HEs d'ocimum basilicum

V.1.1. Rendement en les huiles essentielles …….....40

V.1.2. Identification les composés d'huile essentielle ……...41

V.1.3. Détermination des mesures des constantes physico-chimique…….....42

Partie V.2 : Etude de l'activité anti oxydante, activité anti toxicité et activité anti inflammatoire

V.2.1. Evaluation de l'activité anti oxydant par DPPH……..43

V.2.2. Evaluation de l'activité anti inflammatoire…….....45

Conclusion générale……..……..49

Références

Liste des figures

Figure I.1 : Présentation d'Ocimum basilicum L……..05

Figure I.2 : présentation de Floraison d'ocimum basilicum …….05

Figure II.1 : Différentes structures des monoterpènes…….....09

Figure II.2 : Différentes structures des sesquiterpènes....…….....10

Figure III.1 : Dispositif de hydrodistillation par Clevenger…….13

Figure III.2 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendant…….....14

Figure III.3 : Système d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes…….....15

Figure III.4 : Schéma d'une unité de Détente Instantanée Contrôlée (DIC) et son cycle de traitement……16

Figure III.5 : Extracteur Soxhlet (INPMA)……..18

Figure III.6 : Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore……...19

Figure III.7 : Schéma de principe d'une extraction par CO2 supercritique…….....21

Figure III.8 : Appareillage d'extraction avec fluide supercritique (CO_2)…….....23

Figure IV.1 : Le basilic : parties aériennes et feuilles sèches …….24

Figure IV.2 : Montage expérimental de l'hydrodistillation…….....26

Figure IV.3 : Montage pour chromatographie en phase gazeuse…….....27

Figure IV.4 : Chromatographe en phase gazeuse…….....29

Figure IV.5 : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse……..30

Figure IV.6 : Réfractomètre …….32

Figure IV.7 : Forme libre et réduite de DPPH……...35

Figure IV.8 : Les trois lots de souris…….....37

Figure IV.9 : photo de gavage des souris …….38

Figure IV.10 : L'injection de la carragénine……..38

Figure IV.11 : sacrifier les souris par éther……...39

Figure IV.12 : couper les pattes et les peser sur une balance analytique …….39

Figure V.1 : Evolution de rendement en fonction de temps …….40

Figure V.2 : Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration pour l'HE d'ocimum basilicum…….....43

Figure V.3 : Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration d'acide gallique ……...44
Figure V.4 : Comparer l'EC_{50}de HE d'ocimum basilicum et d'antioxydant de référence l'acide gallique……..45

Figure V.5 : Evolution de poids moyens des pattes droites et gauches des souris des trois lots……..47

Figure V.6 : Le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites des trois lots …….....47

Figure V.7 : Le pourcentage de réduction de l'œdème de lot de référence et le lot d'essai par rapport ou témoin ……...48

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Classification botanique d'Ocimum basilicum……04

Tableau IV.1. : Les conditions opératoires des analyses en chromatographie en phase gazeuse……28

Tableau IV.2 : Les conditions opératoires des analyses en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ……..29

Tableau IV.3 : Les matériels non biologiques utilisés…….....34

Tableau IV.4 : Les produits et réactifs chimiques utilisés……34

Tableau V.1 : cinétique d'extraction parhydrodistilation…….....40

Tableau V.2 : Composition chimique de l'huile essentielle d'O.basilicum…….....41

Tableau V.3 : Détermination des mesures des constantes physico-chimiques de l'HE d'Ocimum basilicum ……42

Tableau V.4: Les valeurs des EC_{50} des différents extraits……44

Tableau V.5 : Récapitulation des résultats de l'administration d'HE de la plante sur les souris……...46

Liste des abréviations

% : pourcentage

°C : Degré Celsius

AFNOR - NF : Association Française de Normalisation - Norme Française.

AG : Acide gallique

AH : Antioxydant.

CG : Chromatographie en phase gazeuse

CG/SM : Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

CO_2 : Dioxyde de carbone

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DIC : Détente instantanée contrôlée

D.I.C : Détente instantanée contrôlée

DL_{50} : Dose létale 50.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EC_{50}: concentration équivalente requise pour réduire 50% des radicaux libres initialement présents en solution

g : gramme

HD : Hydrodistillation.

HE : Huile essentielle

M_{HE} : Masse en huile essentielle

mg: milligramme

ml : millilitre

MS : Quantité de la matière végétale sèche en g.

NF : Norme Française.

O.basilicum:Ocimum basilicum.

Ocimum basilicum L. : Ocimum basilicum Linné.

P_c: Pression critique

t : temps

V/V : volume / volume

ملخص

يهدف هذا العمل إلى استخلاص الزيت العطري لأوراق نبات الحبق الذي ينتمي إلى العائلة الشفوية. تم قطف هذا النبات من الأربعاء ولاية البليدة في شهر جوان سنة 2017، استخلص الزيت العطري عن طريق التقطير المائي باستخدام جهاز كليفنجر. كما قمنا بالدراسة الحركية لاستخلاص هذا الزيت وحددنا من خلالها زمن الفصل وهو 3 ساعات وكذلك تحديد المردود الذي قدر ب: 1.22٪.

تحليل هذا الزيت العطري باستعمال GC وGC / MS مكننا من تحديد المركبات الكيميائية وعددها21. المركبات الكيميائية الأساسية و المتواجدة بنسبة عالية هي: لينالول (46٪)، الليمونين (17.2٪)، 1،8-سينول (8.6٪)، تربينن-4-أول (3.6٪) و المرسين (1.8٪).

تم تحديد قيمة EC_{50} للزيت العطري المستخلص من الجذر الحر DPPH حيث تحصلنا على DPPH مقداره 5 ميكروغرام / مل.

وكان النشاط المضاد للالتهابات وزيادة نسبة ذمة الساق اليسرى النسبية لساقيه على التوالي للسيطرة 24.28٪ للدفعة المرجعية، وزيادة النسبة المئوية للذمة 17.91٪ والنسبة المئوية للتخفيض في الوذمة هي 35.56٪. وأخيرا، فإن النسبة المئوية للزيادة في ذمة الكثير من الزيت العطري هي 21.12٪ والنسبة المئوية للتخفيض في الوذمة هي 13.01٪.

الكلمات الرئيسية: الزيوت الأساسية ،الحبق ، التقطير المائي ، نشاط مضادات الأكسدة ، والنشاط المضاد للالتهابات

Résumé

Ce travail, à j’intéresse à l'ocimum basilicum appartenant à la famille des lamiacées, cultivées dans la région de l'Arabra Wilaya de Blida, pour objectif d'étude de composition d'huile essentielle, rendement et l'activité anti oxydantes ainsi que l'activité anti-inflammatoire.

L'analyse d'huile essentielle par CPG et CG/MS donne 21 composés tels que les composés majoritaires sont : Linalool (46%), Limonène (17,2%), 1,8-cineole (8,6%), Terpinèn-4-ol (3,6%) et Myrcène (1,8%).

Le rendement en huile est égale 1,22% par méthode d' hydrodistillation.

L'activité anti oxydante d'huile essentielle obtenu par hydrodistillation, a été évaluée par la méthode de réduction du DPPH•. La valeur de l'EC_{50} d'Huile essentielle d'ocimum basilicum est de 5µg/ml.

L'activité anti-inflammatoire, le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites du témoin est de 24.28%, concernant le lot de référence, le pourcentage d'augmentation de l'œdème est de 17,91% et le pourcentage de réduction de l'œdème est de 35,56%. Enfin le pourcentage d'augmentation de l'œdème pour le lot d'Huile essentielle est de 21,12% et le pourcentage de réduction de l'œdème est de 13,01%.

Mots clés : Huile essentielle, Ocimum basilicum, Hydrodistillation, Activité anti oxydant, Activité anti-inflammatoire.

Summary

The volatile componentsobtained by hydrodistillation of leaves ocimumbasilicum from lamiaceaefamulythe plante material was collected in jun from Larabaa in Blida were analaysed by gaz chromatography GC and gaz chromatography mass spectrometry GC/MS.

A total of 21 compounds, representing 87% of total oil were identified. The oil was found to contain Linal (46%), Limonene (17.2%), 1,8-Cineole (8.6%), Terpinen -4-ol (3.6%) and Myrcene (1.8%). The oil yield is 1.22% and the time of extraction is 3h.

The antioxidant activity of essential oil obtained by hydrodistillation evaluated by The EC_{50}value of essential oil is 5µg / ml.

For the anti-inflammatory activity, the percentage increase in the edema of the left legs to the straight legs of the control was 24.28%, for the batch of reference, the percentage increase of edema is 17, 91% and the percentage reduction of edema is 35.56%, finally this last increase of edema for the lest batches of approximativlly batch 1 = 21.12% and batch 2 = 13.01%.

Key words: Essential oil, Ocimumbasilicum, Hydrodistillation, Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity.

Introduction générale

Une plante médicinale est une plante que l'on cultive ou que l'on cueille dans son milieu naturel pour ses propriétés médicinales. Les personnes utilisent des plantes depuis des milliers d'années pour traiter divers maux, le monde végétale est à l'origine d'un grand nombre de médicaments. Récemment, des chercheurs ont estimé qu'il existe environ 400 000 espèces de plantes dans le monde, dont environ le quart ou le tiers ont été utilisées par les sociétés à des fins médicinales **(Melero C. P., Medarde M, and Feliciano A.S, (2000) ; Highfield E. S. and Kemper K. J., (1999).**

Les plantes aromatiques sont prometteuses et constituent une grande source d'antioxydants naturels pour l'industrie agroalimentaire. La présence des antioxydants dans l'alimentation est devenue essentielle pour la qualité et la sécurité de l'aliment. Les effets négatifs des antioxydants synthétiques encouragent à leur substitution par des agents naturels **(Elkalamouni, 2010)**.

Parmi les familles qui appartiennent à cette catégorie des plantes aromatiques et médicinales, la famille de Lamiacée représente une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir anti inflammatoire et antioxydant **(Bakkali et al, 2008)**. L'espèce le plus cité dans la littérature est : Ocimum basilicum **(Lee et al, 2005)**.

Notre choix s'est porté sur cette plante, car elle est répondue en Algérie ; elle est utilisée en conservation traditionnelle de certains aliments, ses huiles essentielles et leurs composants commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation **(Caillet et al, 2007 ; Bouhdid et al,2006).**Sans aucun doute, les conservateurs alimentaires chimiques ou synthétiques font partie de la panoplie des techniques et des moyens qui permettent d'assurer la sécurité du consommateur, d'allonger la durée de vie des produits alimentaires et de limiter leurs altérations par l'oxydation **(Multon, 2002).**

Le recours aux huiles essentielles s'avère être un choix pertinent face à un risque de contamination précis ou à la nécessité de réduire ou remplacer les agents de conservation

chimiques ou synthétiques **(Caillet et al, 2007)**. Ceci nous a amené à étudier l'activité anti inflammatoire et l'activité antioxydants des extraits d'O.basilicum.

Le but de cette étude, dans un premier temps, consiste une extraction des huiles essentielles par plusieurs méthodes d'extraction, à connaitre les rendements et les composés de la plante étudiée : d'ocimum basilicum et enfin faire une caractérisation de cette huile.

Notre travail est divisé en cinq chapitres :

- Dans le première chapitre, on donne les principales : introduction et description botanique des plante et des généralités qui sont en relation avec notre travail ;
- Dans le chapitre deux, connaitre les caractérisations des huiles essentielles de la plante étudiée : d'ocimum basilicum est en détail ;
- Dans le chapitre trois on connaitre les procédés d'extraction des huiles essentielles.
- Dans le chapitre quatre on traite les différentes méthodes de travail ;
- Dans le chapitre cinq les résultats obtenus sont traités et interprétés ;

Ce travail se termine par une conclusion générale qui englobe les résultats obtenus.

Partie Théorique

I.1. Introduction :

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques **(Mailhebiau, 1994).**

I.1.1. Définitions :

I.1.1.1. Plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont comprises comme les végétaux qui contiennent une ou plusieurs substances utiles au point de vue thérapeutique, ou qui sont précurseurs de la drogue utilisée dans les préparations pharmaceutiques modernes (**Akerele, 1987**).

I.1.1.2. Plantes aromatiques :

Les plantes aromatiques appartiennent à la fois au domaine des plantes médicinales et des matières premières industrielles d'origine végétale, et constituent des sources de substances naturelles complexes, destinées à apporter des caractères organoleptiques particuliers aux aliments **(Anton et Lobestein, 2005).**

I.2.Les différents noms de la plante :

O. basilicum sont des plantes à croissance rapide (Ocimum est dérivé du grec Okimon, okus signifiant rapide). **(Hubert, 2007).**

Le nom basilic vient du grec Basilikon qui signifie « plante royale » ; lui-même dérivé de bas-latin Basilicum Royal en référence à la grande estime portée à cette herbe **(Kothari et al, 2008).**

. Nom botanique : *Ocimum basilicum*

. Nom commun (français) : Basilic

. Nom commun (Arabe) :ريحان

. Appellation locale :حبق

. Autres noms : Herbe royal, Basilic romain, Grand basilic **(Kothe, 2007)**

I.3.Description botanique d'ocimum basilicum :

I.3.1. Classification botanique :

O. basilicum désigne un genre de Magnoliophyta de l'ordre des Lamiales et de famille des Lamiacées **(Tableau I.1).**

Tableau I.1 : Classification botanique d'Ocimum basilicum.

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Ocimum
Espèce	Ocimum basilicum

Source : (Riaz, 1999)

I.3.2. Description botanique :

O.basilicum est une plante annuelle de la famille des Lamiacées (Labiacée, Labiées) **(Hurtel, 2000),** herbacée ligneuse, feuillée, très ramifiée et parfumée.

I.3.2.1.La tige : quadrangulaire, pouvant atteindre jusqu'à 1m de hauteur.

I.3.2.2.Les feuilles: sont opposée, denticulées dans la partie supérieure, ovales, cuvées a la base, acuminées au sommet **(Pousset, 2004)**. Elles sont petites ou large et toujours très brillantes (vert pale à vert foncé) **(Figure I.1).**

I.3.2.3. Les fleurs : bilabiées et petites, ont la lèvre supérieure découpée en quatre lobes, entourée d'une substance mucilagineuse qui se renfle dans l'eau comme celle de la

graine de lin **(Riaz, 1999)**. Elles sont de couleur crème, blanche, rose ou violacée selon la variété **(Arabici et Bayram, 2004 ;Koudjéga, 2004) (Figure I.1).**



Figure I.1 : présentation d'ocimum basilicum L **(Pousset, 2004)**

I.3.2.4. Les floraisons : Mois de floraison d'ocimum basilicum : juin, juillet, aout, septembre **(Figure I.2)**



Figure I.2: présentation de Floraison d'ocium basilicum (**Origine**)

Le basilic étant une plante des pays chauds méditerranéen, introduit dans toutes les régions tropicales et subtropicales (Bulgarie, Madagascar, Italie, Comores et Maroc …etc.) et cultivé dans les pays tempérés **(Schauenberge, 2006 ; Hubert, 2007 ; Bezanger et al, 1990)**. Herbe de saison chaude, son multiplication se fait par semis au printemps, vers Mars-Avril. En climat tempéré, il faut le faire en serre ou dans des pots maintenus à une température de l'ordre de 20°C. La germination se produit au bout de 4 à 7 jours. Le repiquage en pleine terre peut se faire lorsque le sol est suffisamment réchauffé. Le basilic a besoin d'un pH de 5 à 8 et d'une température plus de 15°C et une exposition abritée et cinq heures d'ensoleillement quotidien **(Bezanger et al, 1990)**.Pour l'herbe culinaire en frais, avant épanouissement des fleurs, on récolte de Juillet à Septembre ; pour la première coupe, la barre est placée à 15 cm au-dessus du sol car la plante remonte sur les bourgeons de bas de tige. Pour l'herboristerie ; on récolte en pleine floraison **(Hubert, 2007)**.

I.4. Indications thérapeutiques usuelles :

La décoction acqueuse de O.basilicum est utilisée dans le traitement des falciformations et maladies cellulaires (**Noudogbessi et al., 2013**). Traditionnellement, O.basilicum est utilisée comme plante médicinale dans le traitement des maux de tête, la toux, la diarrhée, la constipation, les verrues, les vers et les dysfonctionnements des reins (**Simon et al., 1999**).

II.1. Définition des huiles essentielle :

Huiles essentielles, substances volatiles et odorantes sécrétées par des parties spécifiques de certains végétaux **(Encarta1, 2009)**. Ils ont été initialement appelées "esprit" pour un souci de normalisation, cette dénomination " essence" a été abandonnée au profit de celle de l'huile essentielle, seul terme en usage actuellement. Le mot essentielle renferme deux significations : origine essence ou partie la plus importante **(Pellecuer et al, 1980)**.

La norme **AFNOR NF T 75-006** définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques» **(Heinrich et al, 1983)**.

Une huile essentielle est en général un mélange de substances naturelles volatiles obtenues par codistillation avec la vapeur d'eau à partir de la biomasse végétale. Les huiles essentielles se caractérisent par leur odeur, leur goût, leurs propriétés physicochimiques et biologiques **(McGraw-Hill, 2007)**.

II.2. Répartition, localisation des huiles essentielles :

II.2.1. Répartition géographique de la plante :

Originaire d'Asie mais cultivé sur tout le pourtour méditerranéen. Le basilic est une plante annuelle en Europe sous climat tempéré, mais vivace sous climat tropical **(Botineau, 2010)**.

II.2.2. Localisation des huiles essentielles :

Les HEs sont stockés sous forme des microgouttelettes dans les glandes des plantes **(EncyclopædiaBritannica, 2016)**.On les trouve dans les fleurs, les fruits, les feuilles (**Encarta2, 2009)**. Ces huiles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisés (cellules à huile essentielle, poils sécréteurs comme dans la menthe, canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif **(El kalamouni, 2010).**

II.3. Variabilité des huiles essentielles :

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant diverses conditions : l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, lieu de séchage, la température, durée de séchage, les parasites, les virus et mauvaises herbes **(Svoboda et Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001)**.

On ajoute aussi, l'influence du cycle végétatif, l'existence de chémotypes et l'influence du procédé d'obtention des huiles essentielles **(Bruneton, 2009)**.

II.4. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles :

II.4.1. Propriétés physiques :

Les propriétés physiques des huiles essentielles se résument en leurs indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation.

Généralement incolores ou jaune pâle, les essences sont liquides à température ambiante. La nature huileuse des HEs, la rend liposoluble ainsi elles sont peu solubles dans l'eau mais le sont dans les solvants organiques apolaires, les huiles grasses, et dans les alcools.

- Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et sensibles à l'oxydation.
- Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation de produits résineux ce qui induit à la perte de ses propriétés.
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (à l'exception des huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée **(Baser et Buchbauer, 2010)**.

II.4.2. Propriétés chimiques :

Les huiles essentielles peuvent contenir une centaine de composées différentes, appartenant à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques spécifiques : les terpènes et les dérivés du phénylpropane bio synthétisé essentiellement à partir de l'acide shikimique **(Bruneton, 1993)**.

II.5. Composition chimique dans huiles essentielles :

II.5.1. Les terpènes :

Les huiles essentielles sont constituées d'un certain nombre de composés terpéniques, généralement les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas élevée. Ces constituants proviennent de l'isoprène répondant à la formule générale $(C_5H_8)_n$, ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes. Le terme « terpénoïde » définit l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés, alors que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène **(Baser et Buchbauer, 2010)**.

Ainsi, on distingue selon le nombre de carbone : les monoterpènes (C_{10}), les sesquiterpènes (C_{15}), et moins fréquemment les diterpènes (C_{20}), les triterpènes (C_{30}) et les tétraterpènes (C_{40}). Certains composés terpéniques peuvent être toxiques, répulsives ou attractifs pour d'autres organismes, d'où leurs rôles dans les interactions entre les plantes et plantes-animaux

II.5.1.1. Monoterpènes :

On y rencontre des monoterpènes acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques ou bicycliques (pinènes, 3-carène, camphène, sabinène). Grace à la réactivité des cations intermédiaires de ces terpènes, elles peuvent se rattache à un certain nombre de molécules **(Figure II.1)(Bruneton, 2008)**.

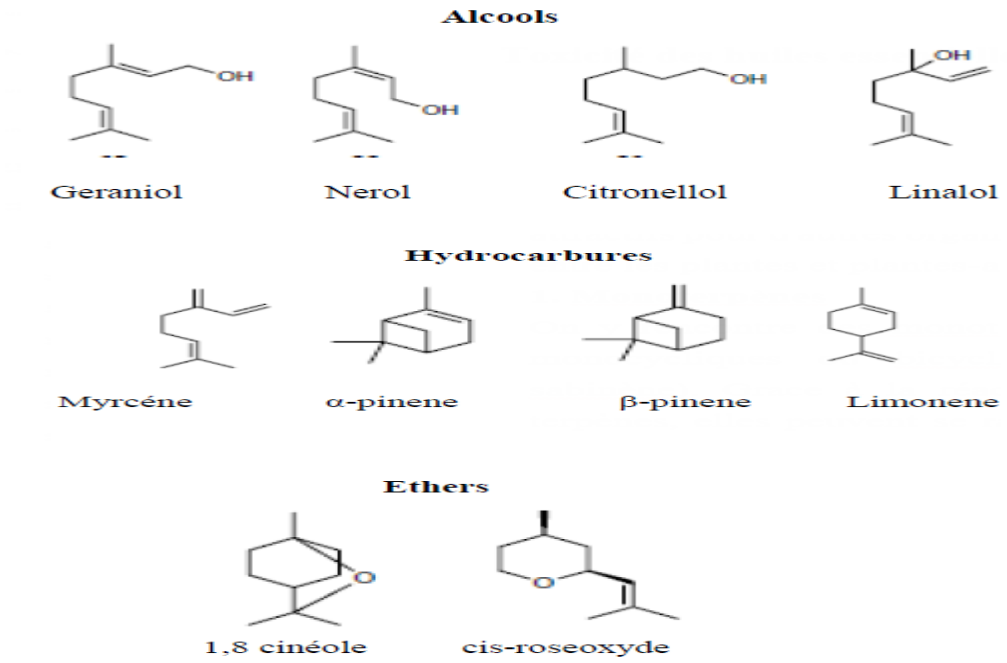


Figure II.1 : Différentes structures des monoterpènes **(Baser et Buchbauer, 2010)**.

II.5.1.2. Sesquiterpènes :

L'allongement de la chaîne des sesquiterpènes amplifie le nombre des cyclisations possible, plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits. On trouvera également des sesquiterpènes aves des fonctions chimiques caractéristiques : alcool (farnésol, carotol), carbures (β-caryophyllène), cétones, ester **(Figure II.2)**

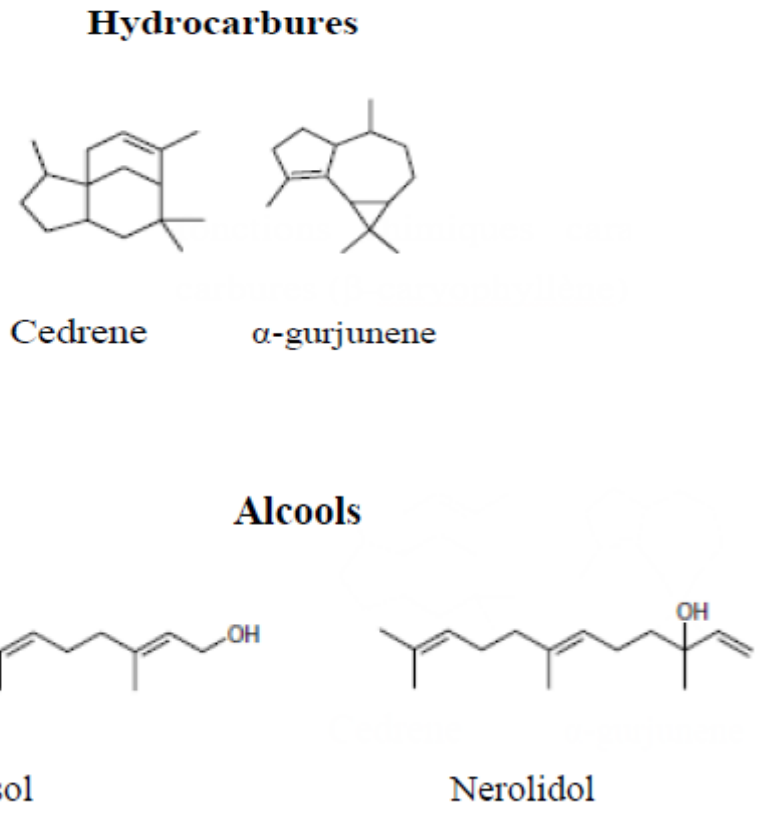


Figure II.2 : Différentes structures des sesquiterpènes **(Baser et Buchbauer, 2010)**.

II.6. Toxicité des huiles essentielles :

Généralement, les huiles essentielles d'O.basilicum ingérées par voie orale ont une toxicité aiguë faible. Selon **Bruneton (1999)** la dose létale (DL_{50}) des HEs du basilic est égale 1 - 2 g/Kg. Le basilic possède une teneur élevée en estragon, un composé qui devient cancérigène quand il est consommé en trop grande quantité. Il faut limiter la prise d'huile essentielle à 4 gouttes.

II.7. Conservation des huiles essentielles :

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables **(Burt, 2004)**. C'est pour cela nous avons déshydraté l'huile essentielle **(Bajpai et Kang, 2010)** et la conservée à une température voisine de 4°C, dans des eppeindorfs en plastique bien fermées et étiquetées, recouvertes par papier aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière.

II.8. Utilisation des huiles essentielles :

En usage externe, les graines sont utilisées contre les moucherons, les corps etranger dans l'oeil, l'otite, la conjonctivite, l'angine, la mammite, le cancer de sein, les crevasses du sein, la gale, les sinusites, les piqûres d'insectes, le coryza chronique, les piqûres de scorpion, la chute des cheveux, les rhumatismes, les maux de dents, également antiseptique, cicatrisant, cytostatique, astringent, verrucide, antiputrescide, antihistaminique et fongicide **(Nacoulma OG, 1996)**.

III.1.Hydro distillation :

L'hydrodistillation, proprement dite, est la méthode standard la plus sélective pour l'extraction d'une huile essentielle et le contrôle de qualité **(AFNOR)**. Le procédé correspond à une distillation hétérogène, et consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement du lieu de sécrétion (poils, poches ou canaux) et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique.

Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi, le mélange azéotropique

« Eau + Huile essentielle » distille à une température légèrement inférieure à 100°C à pression atmosphérique, alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. A la sortie, le mélange circule dans un serpentin où il se condense. Ensuite, il est recueilli dans un essencier ou un vase florentin. La différence de densité entre les deux phases permet une séparation aisée.

La période de distillation varie considérablement selon la matrice et peut atteindre plusieurs heures. Elle influe également sur le rendement et la composition de l'extrait.

La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage. En laboratoire, le système équipé d'une cohobe, qui est généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles, est appelée le Clevenger **(J.F) (Figure III.1).**

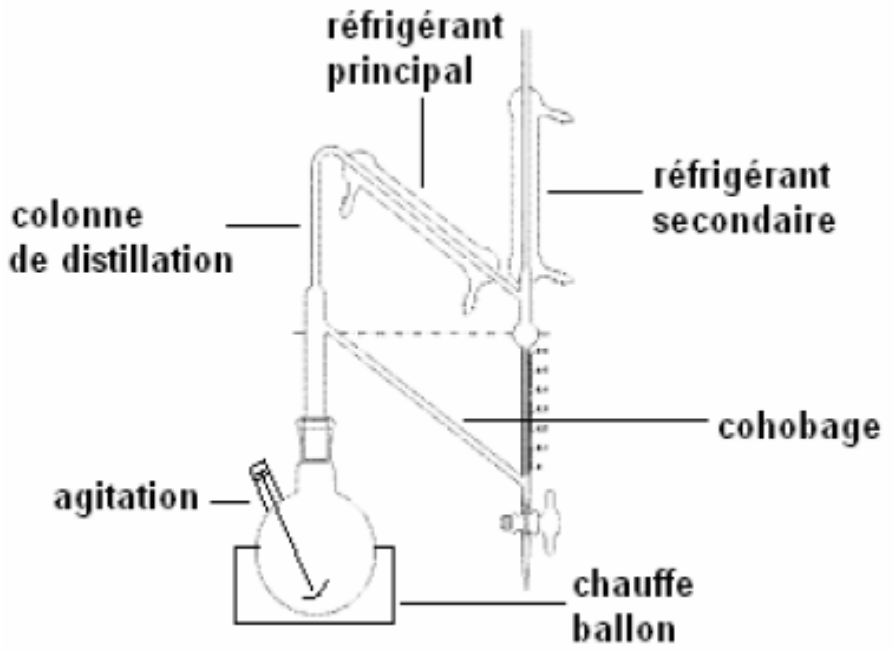


Figure III.1 : Dispositif de hydrodistillation par Clevenger

III.2. Entraînement à la vapeur d'eau :

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique consiste à faire passer la vapeur d'eau fournie par une chaudière à travers la matière végétale située au-dessus d'une grille **(Figure III.2)**. Le mélange est ensuite véhiculé par le haut vers le condenseur et l'essencier où le mélange est séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques permet de palier certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. A l'inverse de cette dernière, le flux de vapeur n'est plus ascendant mais descendant **(Figure III.2)**. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Son principe réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange «vapeur d'eau - huile essentielle» dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de l'absence d'hydrolyse. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

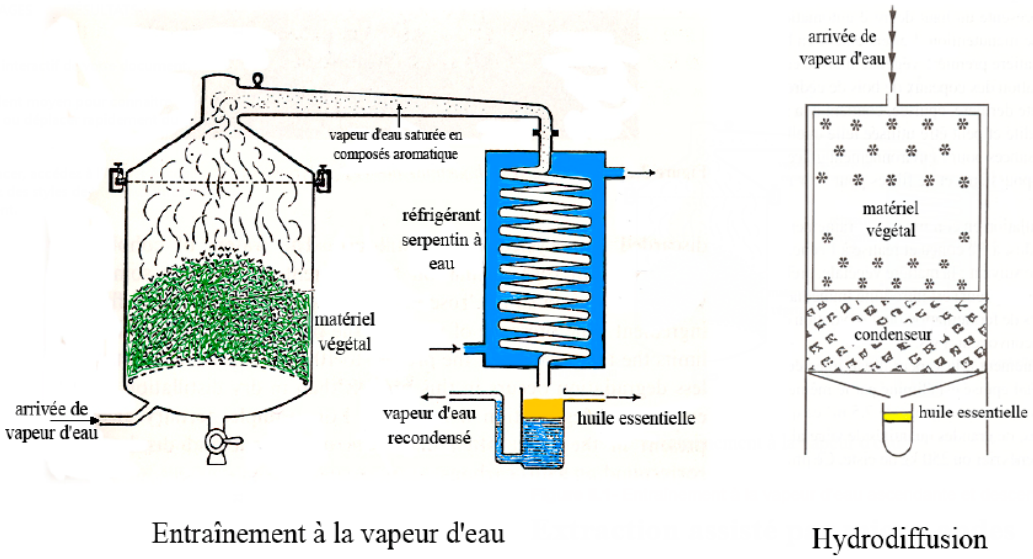


Figure III.2 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendant

III.3. Extraction assisté par micro-ondes :

Au début des années 1990 est apparue une toute nouvelle technique appelée hydrodistillation par micro-ondes sous vide (**Figure III.3)**. Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation. Ce procédé permet un gain de temps (temps d'extraction divisé par 5 à 10) et d'énergie (température plus basse) considérable. En guise d'exemple, l'extraction par micro-ondes de deux kilos de Mentha piperita permet d'obtenir environ 1% d'huile essentielle en 15 minutes alors que deux heures d'hydrodistillation sont nécessaires pour obtenir un rendement similaire à partir de la même masse de plante **(Mengaletal, 1993)**. La composition de l'huile essentielle obtenue par ce procédé est bien souvent semblable à celle obtenue avec un procédé d'entraînement à la vapeur traditionnel. Toutefois, une plus grande proportion de composés oxygénés est généralement observée dans les huiles essentielles extraites par micro-ondes. Ceci est dû à la faible quantité d'eau présente dans le système et à la rapidité du processus de chauffage. Ainsi, les dégradations thermiques et hydrolytiques des composés oxygénés sont limitées **(Bendahouet al, 2007 ;Lucchesi et al,2007)**.

Cette technique présente donc beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit etdégradations thermiques et hydrolytiques minimisées **(Mengalet al, 1993 ;Lucchesiet al, 2004)**. L'extraction par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée (**Chemat et al, 2006 ; Flaminiet al, 2007 ;Lucchesi et al, 2007)**.

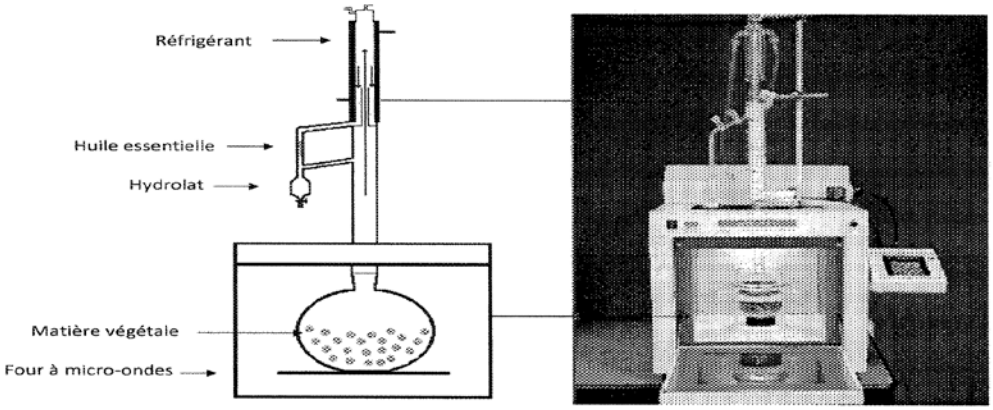


Figure III.3 : Système d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes **(Lucchesi et al, 2007)**

III.4. Extraction par détente instantanée contrôlée :

Cette méthode d'extraction est née des études théoriques menées par le Professeur Allaf (1989) sur l'expansion par extrusion et suivies de travaux expérimentaux. La Détente Instantanée Contrôlée est fondée sur la thermodynamique de l'instantanéité et des processus d'auto vaporisation couplée à l'évolution hydro-thermo-mécanique de nombreux polymères à usages alimentaire, cosmétique, pharmaceutique, etc… **(Allaf et al, 1994 ; Rezzoug et al, 1998)**.

Le traitement par "Détente Instantanée Contrôlée D.I.C." est utilisé en vue d'extraire les arômes et les huiles essentielles à partir de végétaux adéquats naturels ou préalablement séchés.

En effet, appliquée aux végétaux, la D.I.C. permet la modification de leur structure, provoquant ainsi leur texturation et facilitant alors les opérations de transfert de matière. L'auto–vaporisation qui accompagne la détente implique la séparation liquide-solide et permet donc l'extraction de composés spécifiques. Cette opération se

distingue par un traitement thermique très localisé, durant un temps réduit (quelques dizaines de secondes).

Comparée aux autres procédés traditionnels, la D.I.C. **(Figure III.4.)**, est relativement rapide, et donc nettement plus flexible. D'un rendement supérieur, la méthode est comparable à l'extraction par CO_2 supercritique au niveau de la qualité de l'extrait, alors que la consommation énergétique est inférieure à celles de la distillation et par entraînement à la vapeur. Les différents aspects de la qualité sont ainsi couplés : ceux du produit fini, ceux du procédé et ceux de son impact environnemental :

• Vecteur qualité : Améliorer la qualité de l'extrait obtenu par élimination de la dégradation thermique et de la présence de solvants résiduels.

• Vecteur environnemental : Réduire les rejets de solvants, d'eau usée et de matières résiduelles.

• Vecteur énergétique : Réduire la consommation énergétique nécessaire à l'extraction des huiles essentielles.

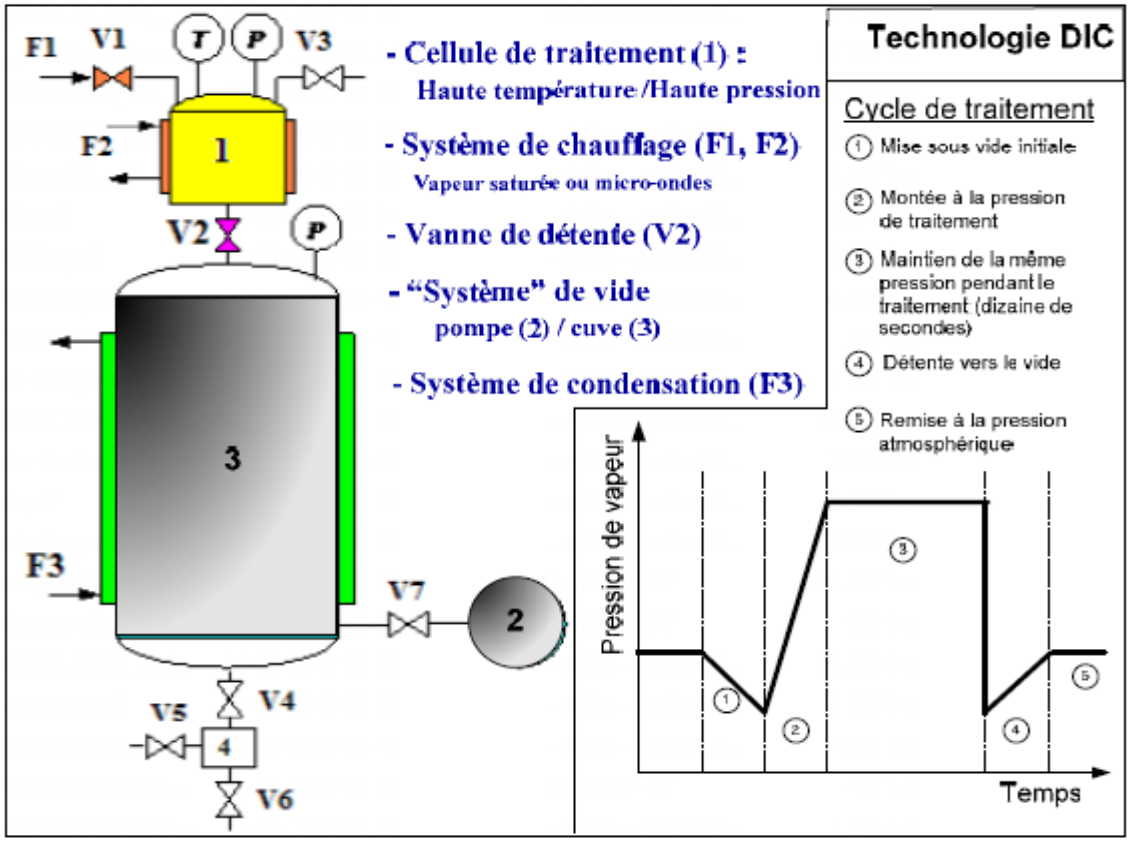


Figure III.4 : Schéma d'une unité de Détente Instantanée Contrôlée (DIC) et son cycle de traiteme

III.5. D'autres méthodes d'extraction :

III.5.1. Extraction par solvants volatils :

La technique d'extraction « classique » par solvant consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil (hexane ou éthanol) et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une « absolue». Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysant de l'eau ou de la vapeur d'eau. Toutefois, l'intervention de solvants organiques peut entraîner des risques d'artéfacts et des possibilités de contaminations de l'échantillon par des impuretés par la suite, parfois difficiles à éliminer.

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. Parmi les solvants les plus utilisés, on recense : l'hexane, le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou encore le dichlorométhane. Cependant, depuis quelques décennies, l'extraction par solvant a connu d'intéressantes améliorations.

III.5.2. Extraction Soxhlet :

L'extracteur de Soxhlet un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide liquide. Le corps de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie de matériel végétal **(Figure III.5)**. Cette cartouche est fixée sur un réservoir à siphon et elle est surmonté d'un réfrigérant. Le solvant (5 à 10 fois la quantité de l'échantillon solide à extraire) est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en solutés à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec le solvant. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair c'est-à-dire sans une proportion significative de solutés **(LAGNIKA. L 2005)**.

Cette technique permet une récupération haute, mais a un certain nombre de lacunes, y compris l'extraction à long temps, grande consommation de solvants et de l'énergie électrique **(Romanik. G et al, 2007)**.



Figure III.5 : Extracteur Soxhlet (INPMA).

III.5.3. Extraction par ultrasons :

Le terme ultrasons est usité lorsque l'on se réfère à des ondes vibratoires dont la fréquence est supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz). Ils ne présentent pas de différences physiques avec les sons. Ils sont généralement classés en deux domaines suivant la puissance qu'ils peuvent transmettre au milieu réactionnel. On distingue les ultrasons de faible puissance utilisés à des fins de diagnostic et de contrôle non destructif et les ultrasons de puissance appliqués à des domaines industriels variés (nettoyage, soudure, extraction, homogénéisation, etc...)

La technique d'extraction par ultrasons est basée sur le principe de la cavitation. La propagation d'une onde ultrasonore dans le milieu donne lieu à des régions de compression et de dépression, à cause des oscillations mécaniques des éléments de matière. Lorsque la pression atteint des valeurs très faibles, il peut se former des bulles d'air ou de vapeur de liquide appelées cavités. Ce phénomène ne peut avoir lieu que si l'intensité acoustique locale est suffisamment importante pour vaincre les forces de cohésion du liquide. Des microbulles d'air existent dans le liquide au repos,

emprisonnées dans des crevasses à la paroi du récipient ou dans des impuretés solides ; elles jouent le rôle de nucléis pour les bulles de cavitation et dans ce cas, la puissance nécessaire pour atteindre le seuil de cavitation est moins important.

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons (20 – 100 kHz) est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie **(Chemat et al, 2008)**. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des composés aromatique ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique **(Salisova et al., 1997 ; Vinatoru et al., 1997 ; Hromadkova et al., 1999 ; Vinatoru et al., 1999 ; Vinatoru,2001 ; Chemat et al., 2003 ; Chemat et al., 2004a ; Luque de Castro et al., 2007)(Figure III.5).**

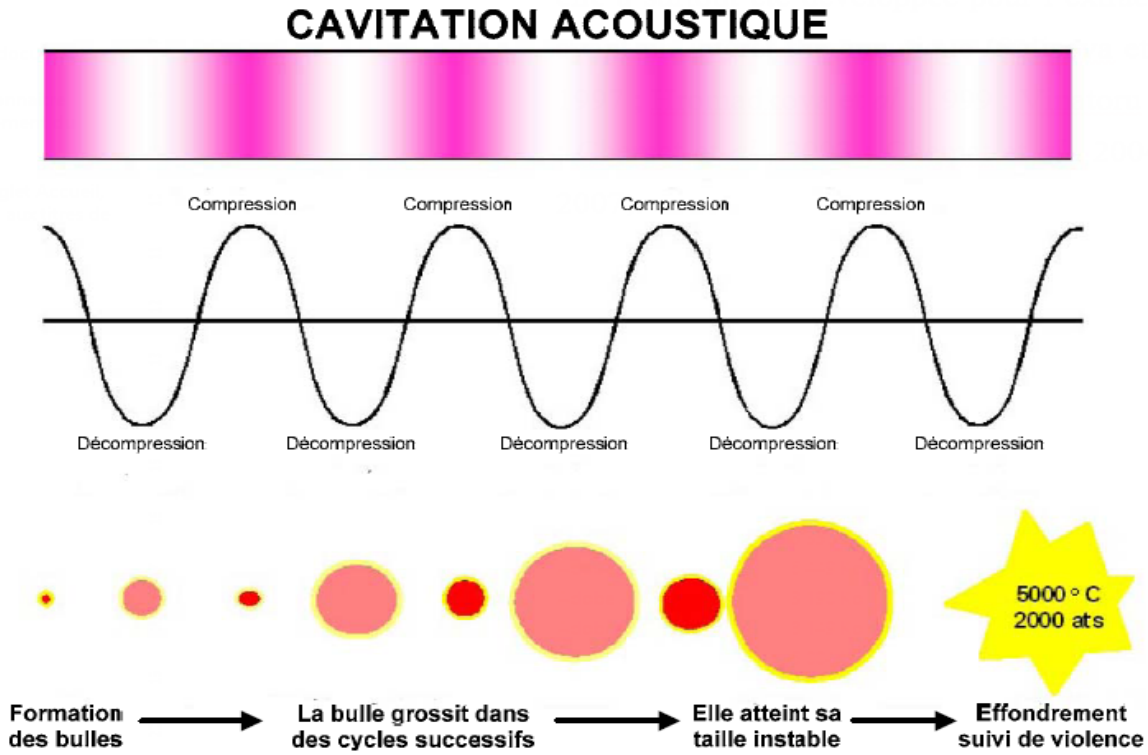


Figure III.6 : Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore.

Pendant la sonication, les ondes sonores utilisées induisent des vibrations mécaniques dans le solide, le liquide ou le gaz, à travers une succession de phases d'expansion et de compression, comme au cours d'un phénomène de cavitation. Les bulles, formées par l'expansion, vont se développer puis dégonfler. Si ces bulles se situent près d'une surface solide, alors le dégonflement sera asymétrique, ce qui produira des jets de liquide ultra-rapides **(Figure III.5)**. D'après **Vinatoru (2001),** les mécanismes d'extraction impliquent deux phénomènes physiques :

- Les molécules peuvent parfois traverser la paroi cellulaire par simple diffusion ;
- Le contenu des cellules peut être « lessivé» après destruction des parois cellulaires, afin de récupérer l'ensemble des composés d'intérêt.

Les ultra-sons permettent d'améliorer ces deux phénomènes. Ils pourraient augmenter le rendement, diminuer la quantité de solvant nécessaire et/ou le temps de traitement **(Mason et Cintas, 2002)**.

III.5.4. Extraction par le CO_2 à l'état supercritique :

C'est une nouvelle technologie utilisée industriellement qui fait encore l'objet de nombreuses recherches. L'originalité de cette technique repose sur le comportement du solvant utilisé sous des conditions particulières puisque au-delà d'un certain point, dit point critique, caractérisé par une température (Tc) et une pression (Pc), les corps purs se trouvent dans un état particulier dit supercritique. Dans leurs conditions d'utilisation, les fluides supercritiques ont une masse volumique voisine de celle des liquides, une viscosité proche de celle des gaz et une diffusivité intermédiaire ; leur polarité est modifiée par rapport à l'état liquide. Leur pouvoir dissolvant dépend fortement de la température et de la pression **(Perrut, 1999)**. Le fluide supercritique le plus utilisé est le dioxyde de carbone **(Pellerin, 1991, 2001)**. Le CO_2est thermodynamiquement stable, insipide, inodore et incolore, il est ininflammable mais peut être asphyxiant à haute concentration. Son point critique est de Pc = 73,6 bar et Tc = 31,4 °C.

Dans cet état, l'extrait devient insoluble dans le CO_2 et précipite au fond de l'enceinte. Le gaz carbonique est ensuite liquéfié et peut être à nouveau utilisé **(Figure III.7).**

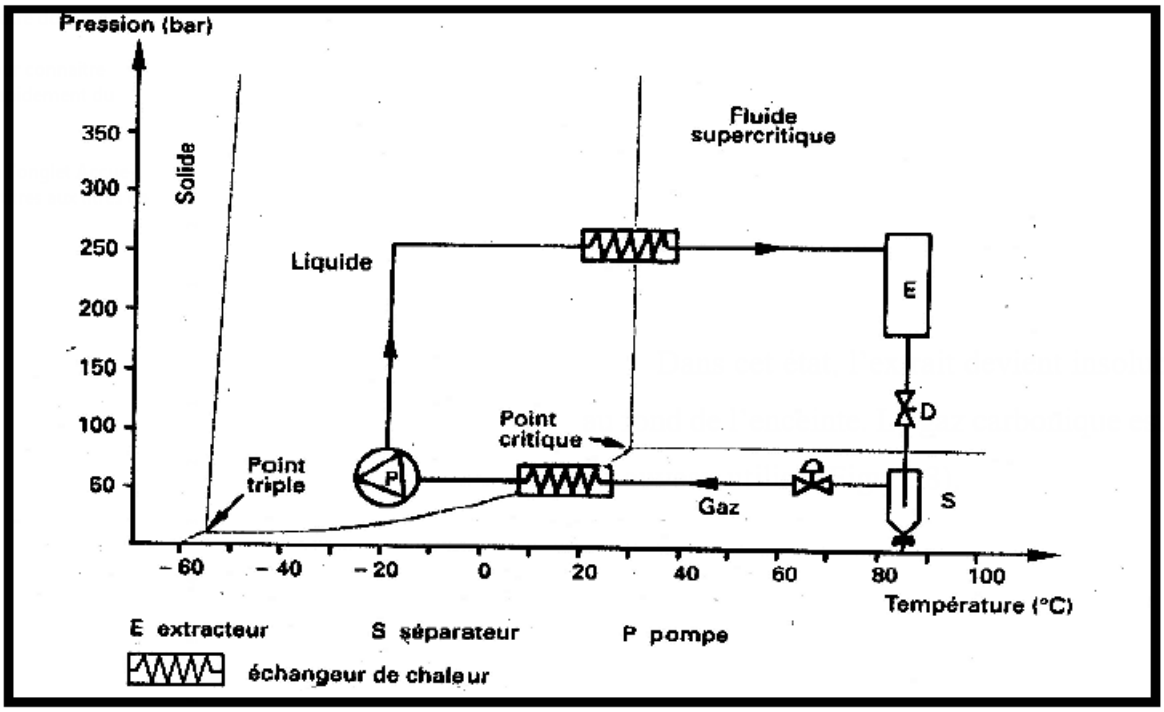


Figure III.7 : Schéma de principe d'une extraction par CO_2 supercritique **(Pellerin,2001)**.

L'extrait récupéré ne contient aucune trace de solvant résiduel qui est facilement éliminé sous forme gazeuse. Le CO_2 est ensuite recyclé et ramené à l'état supercritique. Afin d'extraire les composés les plus volatils dont la composition est de type « huiles essentielles », on utilise des pressions d'extraction modérées (entre 80 et 100 bar). A des pressions plus élevées (200 à 280 bar), on extrait également des composés plus lourds dont la composition est de type « concrètes ». Evidemment selon les conditions opératoires, on peut en théorie obtenir tous les extraits intermédiaires. Le rendement est alors beaucoup plus élevé. Les extractions sont rapides ; il faut compter environ 90 min pour extraire 500 g de matière végétale **(Pellerin, 2001)**. Le CO_2 étant une molécule apolaire, il extrait préférentiellement les composés apolaires. Cependant, à des pressions élevées, la polarité du CO_2 augmente et il va extraire des composés de plus en plus polaires **(Anklam et al, 1998)**. Étant donné que l'on chauffe très peu la matière première, les composés thermosensibles et hydrolysables ne sont pas dégradés. Cependant, le CO_2 présente une certaine acidité, il peut se former de l'acide carbonique, pouvant entraîner une légère hydrolyse acide. L'extrait obtenu par extraction au CO_2 supercritique est un des extraits qui se rapproche le plus de la matière première **(Pellerin, 1991)**.

L'extraction au CO_2 supercritique entièrement « verte » semble être viable avec l'ajout de cosolvants qui sont introduits à l'aide d'une pompe à débit constant. L'éthanol et l'eau sont les plus utilisés à cause de leurs polarités comme co-solvants/réactifs intermédiaires, et l'eau dans le domaine compris entre le point d'ébullition et les conditions supercritiques. Ainsi, l'extraction est moins sélective, plus de composés sont extraits, le rendement en est amélioré. D'autres solvants peuvent être utilisés. Cependant, leur utilisation supprime certains avantages majeurs rencontrés lors de l'utilisation du CO_2. En effet, avec un co-solvant, il est possible de perdre des composés volatils lors de l'étape de concentration **(Anklam et al, 1998 ; King, 2004)**.

L'appareillage est assez coûteux car il doit pouvoir supporter des pressions allant jusqu'à 300 bar en toute sécurité et permettre ainsi un éclatement des poches à essence et un entraînement des substances aromatiques **(Figure III.7)** et **(figure III.8)**

L'extraction aux fluides supercritiques, le plus souvent du CO_2, permet d'extraire des substances odorantes peu volatiles et plus particulièrement les matières sèches qui sont récalcitrantes aux méthodes d'extraction traditionnelles. De ce fait, elle a été utilisée pour extraire les composés aromatisants de nombreux aliments comme des épices **(Duarte et al, 2004)**, du riz **(Bhattacharjee et al, 2003)**, diverses boissons **(Senorans et al, 2003)** et du café **(Sarrazin et al, 2000)**.

Autre avantage, ce gaz ne pollue pas et est inoffensif car il est recyclé à l'intérieur du système. Les huiles essentielles extraites de cette manière ont l'avantage d'éviter la dégradation thermique associée à la distillation à pression atmosphérique. L'avantage, bien sûr, c'est qu'aucun résidu de solvant ne reste, puisque, aux pressions et températures normales, le CO_2 revient simplement à l'état gazeux et s'évapore.

L'extraction aux fluides supercritiques est donc une technique intéressante qui apporte de nouvelles notes olfactives (méthode d'extraction plus complète et moins dégradante). Le développement de cette technologie continue à s'appuyer sur des traitements et/ou des produits qui n'affectent pas l'environnement et les consommateurs. Le changement des températures et/ou des pressions réduites des fluides critiques offre une profusion d'opportunités, dont un excellent exemple est constitué par l'état critique relatif de l'eau. Par exemple, l'eau sous-critique fournit, légèrement au-dessus de son point d'ébullition, un milieu unique imitant celui des solvants organiques polaires, qui a même été utilisé pour l'extraction des solutés thermiquement labiles ou dans la chimie réactionnelle **(King, 2004 ; Turner, 2006)**

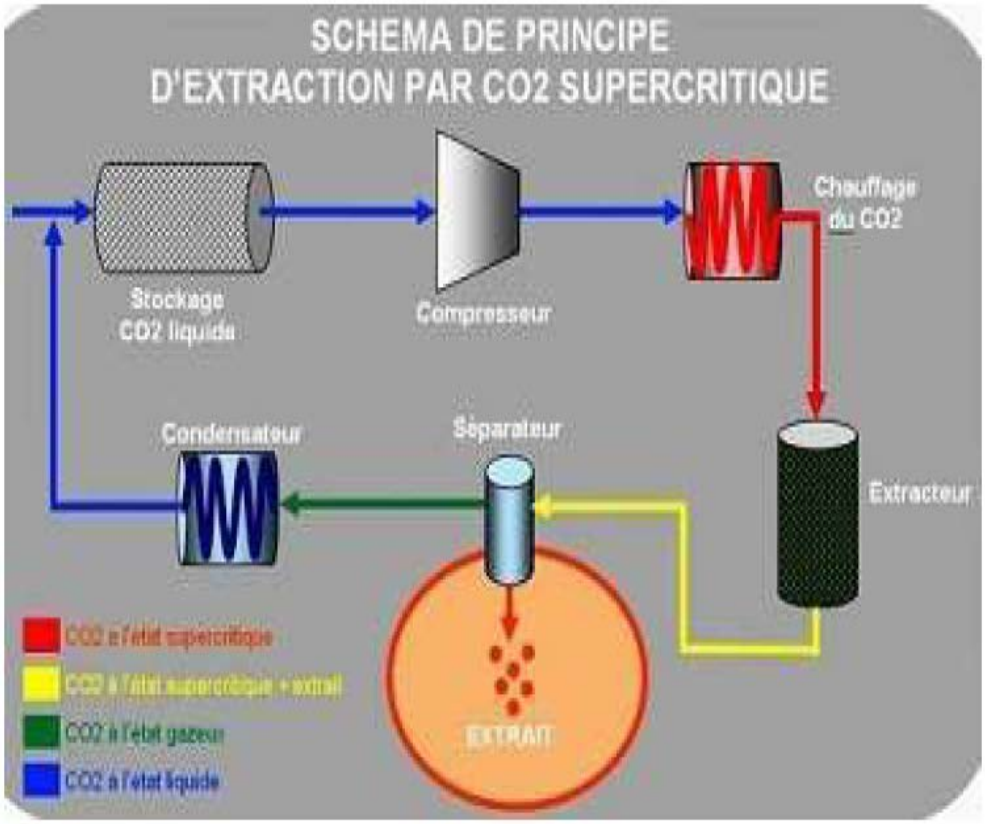


Figure III.8 : Principe d'extraction avec fluide supercritique (CO_2)

Partie expérimentale

Partie IV.1 : préparation et analyses physico-chimique :

IV.1.1. Matériel :

IV.1.1.1. Matériel biologique :

IV.1.1.1.1. Matière végétale :

Les échantillons d 'O.basilicum (**figure IV.1**) ont été récoltés durant la période allant du mois de mai jusqu'au mois de juin 2017.



Figure IV.1. : Le basilic : parties aériennes et feuilles sèches (**Origine**)

IV.1.1.2. Matériel non biologique :

. Hydrodistillateur type Clevenger **(Thermo scientifique)**

. Réfractomètre

. Etuve + Autoclave **(Mammert)**

. Plaque chauffante**(AREC**)

. Balance de précision **(KERN®)**

. L'ampoule à décantation

. Un petit flacon en verre

.Papier aluminium

. Une étuve à 105°C

IV.1.2.Méthode :

IV.1.2.1. Séchage de la plante :

La plante, fraichement récoltée, est laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Devenu sèche, les feuilles sont récupérées dans des sacs propres.

IV.1.2.2.Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

Les huiles essentielles de plante étudiée ont été extraites par hydrodistillation une utilisant l'appareil du type Clevenger. Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon sec dans l'eau portée à ébullition. La vapeur saturée d'huiles essentielles traverse un serpentin ou elle se condense pour donner deux produits : l'eau distillée et l'huile essentielle.

IV.1.2.2.1. Mode opératoire

Les feuilles séchées ont été mises dans un ballon de 4000 ml qui fut remplie avec l'eau distillée ; le ballon a été mis dans le chauffe-ballon. Les huiles essentielles entraînées par les vapeurs d'eau générées dans le ballon sont dirigées vers le col de cygne (le coude) qui relie le ballon avec le réfrigérant. (**Figure IV.2**)

Une fois arrivées dans le réfrigérant, elles se condensent rapidement et se retrouvent dans l'ampoule à décantation qui permet la séparation immédiate de l'essence par sa densité. Après 3 heures d'extraction, l'huile essentielle a été recueillie dans un petit flacon en verre hermétique et recouvrît de papier aluminium pour le protéger de la lumière. On le conserve au réfrigérateur.

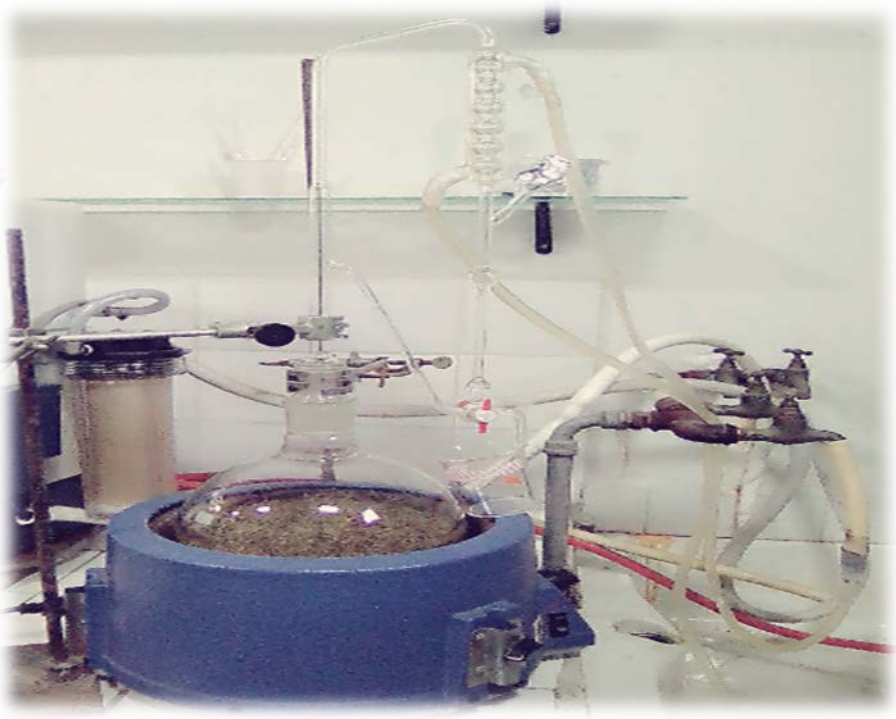


Figure IV.2 : Montage expérimental de l'hydrodistillation (Laporatoire biomasse de ENS)

IV.1.2.2.2. Rendement

Selon la norme **AFNOR (1986),** le rendement d'huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée, il est donné par la formule suivante :

$$R_{HE}\,(\%) = \frac{M_{HE}}{M_S} \times 100 \qquad \text{IV.1}$$

R_{HE} : Rendement de l'huile essentielle d'Ocimum basilicum en %

M_{HE}: Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme

M_S : Masse en gramme de la matière végétale sèche

IV.1.2.3. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) sont réalisés au semi de l'équipe des Eco-procédés du laboratoire LEPTAB de l'université de la rochelle animée par Pr, K, Allaf.

IV.1.2.3.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

La CPG sur colonnes capillaires est la méthode d'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles la plus utilisée à l'heure actuelle **(Figure IV.3)** et **(Figure IV.4)**.

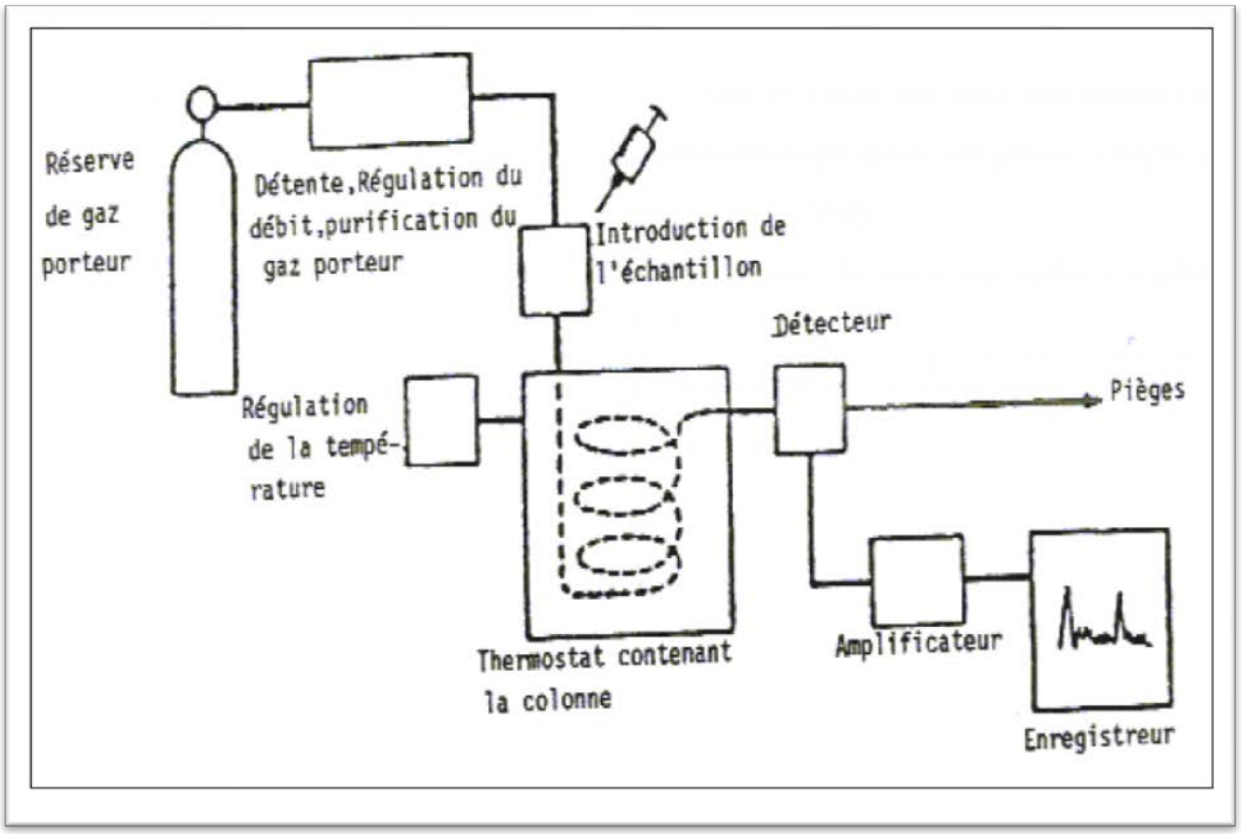


Figure IV.3 : Schéma de chromatographie en phase gazeuse

Les différents constituants d'un mélange préalablement vaporisé au niveau de l'injecteur, sont élués dans la colonne (phase stationnaire) par un gaz vecteur (phase mobile) à des vitesses différentes selon leur volatilité et leur affinité pour la phase stationnaire. Le détecteur transmet au système d'enregistrement un signal chaque fois qu'un produit arrive en sortie de colonne ; ce signal est caractérisé par un temps de rétention.

Tableau IV.1. : Les conditions opératoires des analyses en chromatographie en phase gazeuse

Paramètres	
Colonne capillaire	HP5MS
Longueur	30m
Diamètre interne	0.25mm
Epaisseur de phase	0.25µm
Température du détecteur (FID)	320°C
Gaz vecteur	Azote
Débit	0.3ml
Température de l'injecteur	250°C
Programmation du four	2°C/min de 60°C à 280°C 8 min à 60°C 15 min à 280°C
Concentration des échantillons (H/hexane)	1/10 (V/V)
Quantité injectée	1µl
Mode d'injection	Split 1:20
GC de marque Hewlett Packard 6890	Gaz chromatographshimadzu GC- 17A Agilent Technologies – 7890A- GC système



Figure IV.4 : montage utilisé pour la chromatographie en phase gazeuse

IV.1.2.3.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) :

La Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse des huiles essentielles (**Figure IV.5**) a été réalisée sous les conditions suivantes.

Tableau IV.2 : Les conditions opératoires des analyses en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Paramètres	
Mode de détection	Impact électrique
Courant d'ionisation	70eV
Colonne capillaire	HP-5MS
Longueur	30m
Diamètre interne	0.25mm
Epaisseur de phase	0.25µm
Gaz vecteur	Hélium
Débit	0.7ml
Pression (source, analyseur)	10^{-7} mbar
Température d'interface	280°C

Température de l'injecteur	250°C
Programmation du four	2°C/min de 6°C à 280°C 8 min à 60°C 15 min à 280°c
Concentration d'échantillon (H/hexane)	1/10 (V/V)
Quantité injection	0.1µl
Mode d'injection	Split 1:20
GC-MS de marque	Hewlett Packard- 5890GC- 5973A MS Varian 3900- saturn 2100 T



Figure IV.5 : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

IV.1.2.4. Identification les composés chimiques des huiles essentielles :

L'identification des constituants de l'huile essentielle se fait par comparaison du spectre de masse de chaque pic séparé par CG avec ceux reportés comme références dans des librairies spécialisées de spectrométrie de masse.

La fiabilité de la reconnaissance est principalement, donnée par un taux de vraisemblance (supérieur à 90 %) du spectre de masse du soluté inconnu par rapport à celui de la banque de données. Cette présence est confirmée par le calcul des indices de rétention propres à ce composant.

L'indice de rétention d'un soluté donné peut être obtenu à partir d'un chromatogramme complexe de solutés en mélange et d'au moins deux alcanes normaux qui encadrent le soluté d'intérêt. Ceci revient à considérer les alcanes comme des étalons sur lesquels l'échelle des indices de rétention se réfère.

Par définition, l'indice de rétention d'un alcane normal est égal à 100 fois le nombre d'atomes de carbones présents dans le composé indépendamment du remplissage de la colonne, de la température et des autres conditions chromatographiques. Les indices de rétention de tous les composés autres que les alcanes normaux varient souvent de plusieurs centaines d'unités avec les paramètres de la colonne **(Skoog et al, 2003)**.

Le système des indices de rétention de Kovats, est d'un usage général, adépassé largement le cadre de l'analyse qualitative pure et simple. Il est utilisé pour caractériser les phases stationnaires **(Tranchant et al, 1995)**. Dans les conditions de montée linéaire de la température de la colonne, Van Den Dool et Kratz (1963), ont proposé la formule suivante de calcul des indices :

$$\mathbf{IR} = 100\ \mathrm{X}\frac{(\mathbf{tR})_{\mathrm{i}} - (\mathbf{tR})\mathrm{n}}{(\mathbf{tR})\mathrm{n}+1 - (\mathbf{tR})\mathrm{n}} + 100\ \mathrm{n} \qquad \textbf{IV.2}$$

IR : Indice de rétention du soluté considéré.

$(tR)_i$: Temps de rétention du soluté considéré.

$(tR)_n$: Temps de rétention de l'alcane contenant "n" atomes de carbone et dont le pic précède celui du soluté .

$(tR)_{n+1}$: Temps de rétention de l'alcane contenant "n+1" atomes de carbone et dont le pic sort après celui du soluté.

n et n+1: nombre de carbones des hydrocarbures paraffiniques (n-alcanes).

La préparation de la solution étalon des n-alcanes pour la mesure des indices de Kovats des composés identifiés dans les huiles essentielles a été faite comme suit : Solution des n-alcanes de C_5 à C_{28} (**origine : Aldrich et FlukaChemicals**) à 5% dans le pentane. Soit 0,1 g de chaque alcane dans 20 ml de pentane, conservé au réfrigérateur. L'identification des composés a été effectuée par comparaison de leurs indices de rétention (indices de Kovats) et des spectres de masse expérimentaux de leurs ions-fragments caractéristiques à ceux cités dans la littérature **(Adams, 2007)**.

IV.1.2.5. Détermination des mesures des constantes physico-chimiques :

IV.1.2.5.1. Mesure de la densité selon la norme NF T 75-111 :

Elle est effectuée à l'aide d'un pycnomètre d'un millilitre de volume, à la température de 20°C

IV.1.2.5.2. Mesure de l'indice de réfraction (NFT 75 112, 1977) :

L'indice de réfraction est le rapport de la vitesse d'un rayon lumineux (la raie D du sodium 589 nm) dans le vide et sa vitesse dans le milieu. Autrement dit, c'est la mesure de la réfringence d'un corps donné par rapport à la raie D du sodium **(Figure IV.6)**.



Figure IV.6 : Réfractomètre (**Origine**)

IV.1.2.5.2.1. Mode opératoire :

Régler le réfractomètre en mesurant l'indice de réfraction de l'eau distillée qui doit être de 1,333 à 20°C. Ouvrir le prisme secondaire et déposer 2 ou 3 gouttes de l'échantillon liquide sur la partie centrale du prisme principal. Ensuite fermer doucement le prisme secondaire. L'échantillon s'étale entre le prisme principal et le prisme secondaire en un film mince. Attendre que la température soit stable à 20°C et effectuer la mesure.

L'indice de réfraction (IR), à la température de référence t, est donné par l'équation suivante :

$$I_{20} = I_t + 0{,}00045\ (t - 20°C) \qquad \textbf{IV.3.}$$

I_{20}:indice à 20°C.

I_t:indice à la température de chambre.

t:température de mesure.

Partie IV.2 : Etude des activités anti oxydantes, et activité anti inflammatoire:

IV.2.1. Matériel:

IV.2.1.1. Matériel biologique:

.Les extraits :

Nous avons testés les activités anti-oxydantes, et anti inflammatoires des Huiles essentielles qu'on a préparés à partir des feuilles de plante d'ocimum basilicum.

IV.2.1.2. Matériel non biologique :

Tableau IV.3 : Les matériels non biologiques utilisés

Activité anti oxydant	Activité anti inflammatoire
. Spectrophotomètre **(Thermo) ;** .Vortex . Cuve de quartz .Balance analytique .Tube à essai **.** Bécher	. Balance analytique .Seraing .Gabarre de gavage .Fiole 100ml .Bécher .Eprouvette 100ml .Pince .Vortex

IV.2.1.2.3. Produits et réactifs chimiques :

Tableau IV.4 : Les produits et réactifs chimiques utilisés

Activité anti oxydant	Activité anti inflammatoire
. 2,2-di-phényl -1-picryl-hydrazyle . Acide gallique . Méthanol 99 % **.** L'eau distillée	. Solution dichlofénac . L'eau distillée . solution de carraginine .L'eau physiologie **.**Tween 10% **.**NaCl

IV.2.2. Méthodes :

IV.2.2.1. Activité antioxydant :

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydant d'un composé. L'activité antioxydant des extraits d'O. basilicum traduit leur aptitude à piéger les radicaux libres.

IV.2.2.1.1. Test au DPPH :

Le test DPPH permet de mesurer les propriétés anti oxydantes des composés en fonction de leur capacité à piéger le radical DPPH. Le DPPH est un radical libre stable possédant un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Capable d'accepter un électron ou un atome d'hydrogène formant ainsi la forme non radicalaire (DPPH-H).

Ce radical de couleur violette présente une bande d'absorption à 517 nm dans le méthanol, mais lorsqu'il est mélangé avec une solution protéique. Sa forme réduite sera générée par le virement de la couleur violette en couleur jaune **(figure IV.7)**.

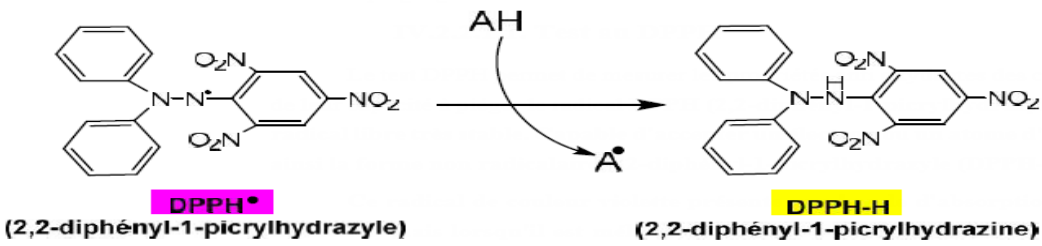


Figure IV.7 : Forme libre et réduite de DPPH

Le suivi de la délocalisation est réalisé par spectrophotométrie à 517nm **(Gulcin*et al*, 2003 ; Molyneux 2004 ; Roginsky and Lissi 2005).**

IV.2.2.1.1.1. Mode opératoire :

Des dilutions d'huiles essentielles ont été préparées dans de méthanol afin de tester le pouvoir antioxydant. 2,8ml d'une solution méthanoïque du DPPH est ajouté à 200 µl de chaque dilution. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, les absorbances des échantillons ont été lues à 517nm.

Le pouvoir anti radicalaire des huiles est calculé en déterminant le facteur EC_{50}, à partir de la courbe de la variation du pourcentage d'inhibition (I %) des radicaux libres de DPPH·, en fonction des concentrations des extraits **(Molyneux, 2004)**. Chaque absorbance correspond à un pourcentage d'inhibition calculé par la relation suivante :

$$\% \text{ Activité antioxydant} = \frac{(Ao - A)}{Ao} \text{ X } 100 \qquad \textbf{IV.4.}$$

A_0:est l'absorbance de la solution de DPPH sans l'huile essentielle et sans extraits
A:est l'absorbance de la solution de DPPH en présence de l'huile essentielle ou des extraits.

Nous avons tracé le graphe de la variation de l'absorbance, en fonction de la concentration des échantillons d'huiles essentielles. Cette courbe nous a permis de déterminer les valeurs d'EC_{50} **(Sharma et Bhat, 2009)**. L'acide gallique est utilisé comme antioxydant de référence.
EC_{50} est définie comme étant la concentration en (mg/ml) de l'extrait capable d'inhiber 50% des radicaux libres.

IV.2.2.2. Activité anti inflammatoire :

IV.2.2.2.1. Etude de l'activité anti-inflammatoire :

L'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux a été évaluée en mesurant l'œdème induit par la carragénine **(Mulla et al, 2010; Sharma et al, 2010 ; Alam et al, 2011)**.

a) Principe :

Vérification de l'action inhibitrice des extraits des plantes sur l'inflammation chimique provoquée par l'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de la souris **(Khabbal et al, 2006)**.

Mode opératoire :

b) Répartition des animaux :

Les souris ont été réparties en 3 lots de 3 souris chacun :

. Lot E_1 : lot témoin négatif

. Lot E_2: lot témoin positive

.Lot E_3: lot Dose



Figure IV.8 : Les trois lots de souris (**Origine**)

c) Administration et injection :

Au temps T_0 (gavage) : Dans notre cas les souris ont été mises à jeun pendant 18h, après nous avons administré par voie intra-gastrique des suspensions suivantes :

. Lot témoin négatif : chaque souris a reçu 0,5 ml de l'eau physiologique

. Lot témoin positif : chaque souris a reçu 0.5 ml de produit de référence (Dichlofénac de sodium)

. Lot Dose : chaque souris a reçu 0,5 ml de l'HE à 200mg/5ml



Figure IV.9 : photo de gavage des souris (**Origine**)

Au temps T_0 +30 min : Les souris des trois lots ont reçu 0.025 ml de la carragénine chacune et cela par injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche.



Figure IV.10 : L'injection de la carragénine (**Origine**)

Au temps T_0+4h et 30min : sacrifier les souris par dislocation (produits de éther).



Figure IV.11 : sacrifier les souris par éther (**Origine**)

Après coupé les pattes postérieures droites et gauches à hauteur de l'articulation et les peser sur une balance analytique.

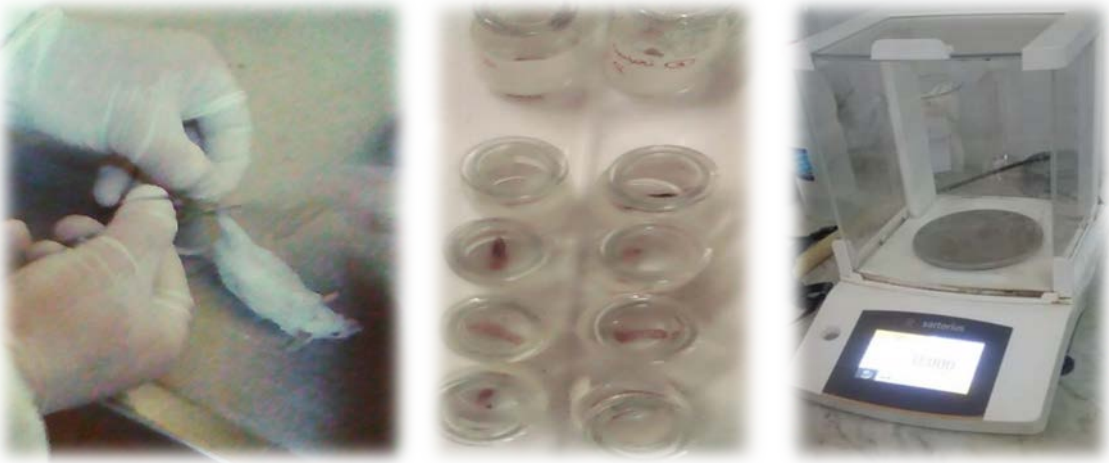


Figure IV.12 : couper les pattes et les peser sur une balance analytique (**Origine**)

C) Expression des résultats :

. Calcule les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot.

. Le calcul du pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) est donné par l'expression suivante équation **(IV.5.)** :

$$\%\ d'oedème = \left[\frac{\text{Moyenne des poids de la patte Gauche}}{\text{Moyenne des poids de la patte Droite}} - 1\right] X\ 100 \qquad \textbf{IV.5.}$$

. Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé comme suit :

$$\%\ \text{de réduction de l'oedème} = \left[1 - \frac{\%\ \text{de l'oedème essai}}{\%\ \text{de l'oedème témoin}}\right] X\ 100 \qquad \textbf{IV.6.}$$

Résultats et discussions

Partie V.1 : préparation et analyses physico-chimique des extraits d'ocimum basilicum :

V.1.1. Rendement en HE :

L'HE a été extraite de la matière végétale sèche, le rendement en HE varie beaucoup avec la plante utilisée, les pratiques culturales, l'origine de la plante, le matériel employé et la méthode d'extraction.

Tableau V.1 : cinétique d'extraction par hydrodistilationen utilisant l'appareil de Clvenger

Temps (min)	0	5	10	25	40	70	100	130	160	190
M_{HE} (g)	0	0.278	0.616	0.671	0.774	0.933	1.091	1.25	1.25	1.25
R(%)	0	0.272	0.502	0.656	0.756	0.912	1.07	1.22	1.22	1.22

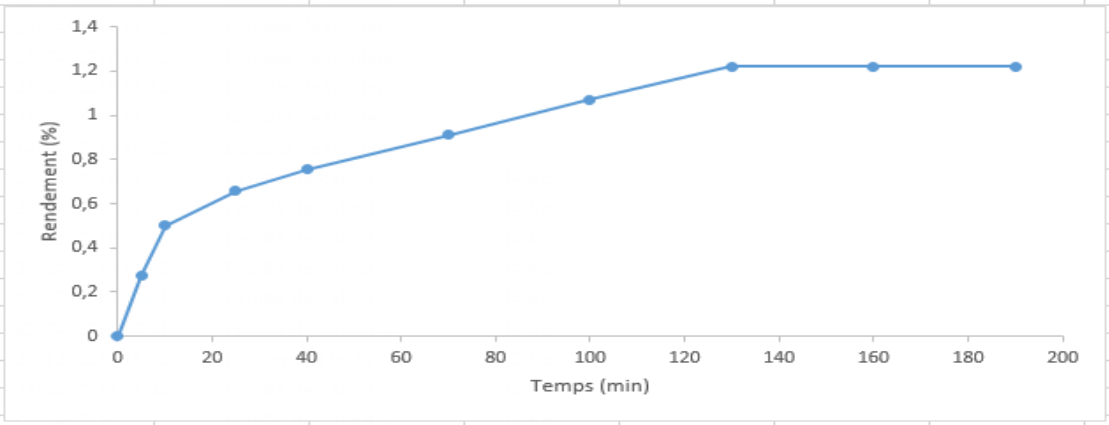


Figure V.1 : Evolution de rendement en fonction de temps

Du point de vue rentabilités en poids, O.basilicum présente un rendement satisfaisant (1.22%) non seulement en comparaison avec les autres plantes de genres différents mais aussi avec la même espèce de région différente. Ce sont des facteurs entre autres qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en HE **(Vekiari et al, 2002)**.

V.1.2. Identification les composés chimiques des huiles essentielles :

Les résultats de l'identification des composés chimiques par CPG/SM des huiles essentielles d'ocimum basilicum, ce qui correspond à 85.7% du total d'huile de la plante. Elle est constituée majoritairement de monoterpènes dont linalool (46%), Limonène (17.2%), 1,8-cinéole (8.6%), Terpinè-4-ol (3.6%), myrcène(1.8%) et pinène (1.7%).

Tableau V.2 : Composition chimique de l'huile essentielle d'O.basilicum

Les composants	Le temps de rétention (s)	Quantité en %
α-Thryène	926	0,3
α-Pinene	937	1,4
β-Sabinène	969	0,2
β-Pinène	976	1,7
Myrcene	992	1,8
Linonène	1024	17,2
1,8-cinerole	1025	8,6
β-ocimène	1030	0,8
γ-terpinène	1054	0,3
Terpinolene	1085	0,6
Linalool	1091	46
borneol	1160	0,2
Terpinèn-4-ol	1180	3,6
α-terpinéol	1188	0,4
Trans-α-bergamotène	1429	0,8

humulene	1449	0,4
β-favrnesène	1452	0,3
Allo-aromadendrène	1464	0,3
Germacrène D	1481	0,2
γ-cadinène	1512	0,3
δ-cadinène	1520	0,3
Totale		85,7%

V.1.3. Détermination des mesures des constantes physico-chimiques :

Tableau V.3 : Détermination des mesures des constantes physico-chimiques de l'HE d'Ocimum basilicum

.

Constantes physico-chimiques	**Valeurs**
Densité	0.963
L'indice de réfraction	1,4845

L'indice de réfraction est une grandeur qui nous permet d'identifier l'HE, aussi de contrôler sa pureté, en effet un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé **(Boukhatem et al, 2010).**

Partie V.2 : Etude de l'activité antioxydant et activité anti inflammatoire :

V.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante :

Nous avons employé le test chimique DPPH, afin d'étudier l'activité antioxydant, exprimant la capacité de réduction des radicaux libres.

V.2.1.1.Test du piégeage du radical libre DPPH :

Les valeurs obtenues (I% de chaque extrait), nous ont permis de tracer les graphes illustrant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'HE (**figureV.2)**, ainsi que (**la figure V.3)**, qui représente la variation du pourcentage d'inhibition (I%) en fonction de la concentration d'antioxydant standard est l'acide gallique.

Le (**tableauV.1)**, renferme la valeur d'EC_{50} de HE d'ocimum basilicum et la valeur d'EC_{50} d'acide gallique, en guise de comparaison. Ces valeurs correspondent aux concentrations nécessaires en substrat pour piéger 50% du radical libre DPPH•.

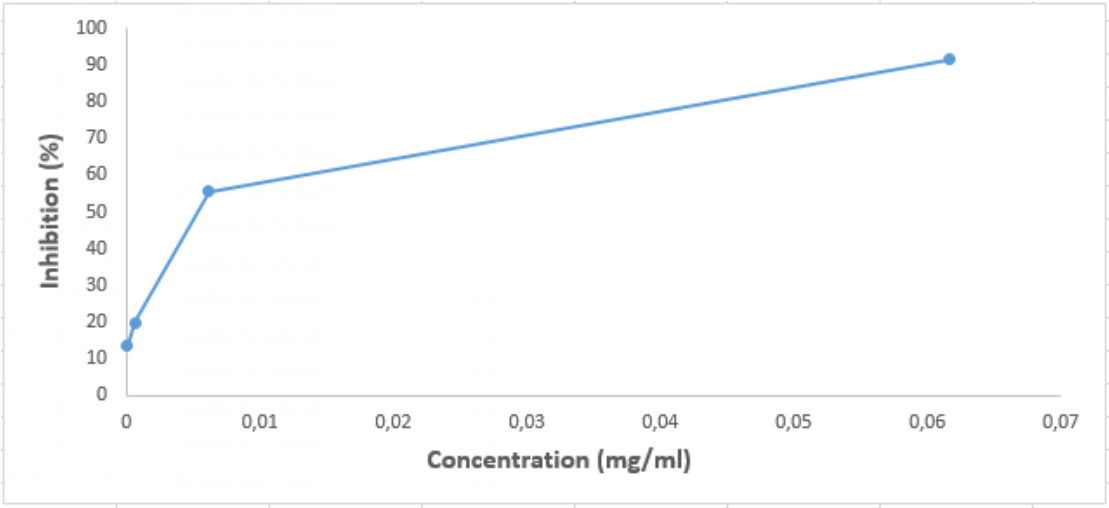


Figure V.2 : Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration pour l'HE d'ocimum basilicum

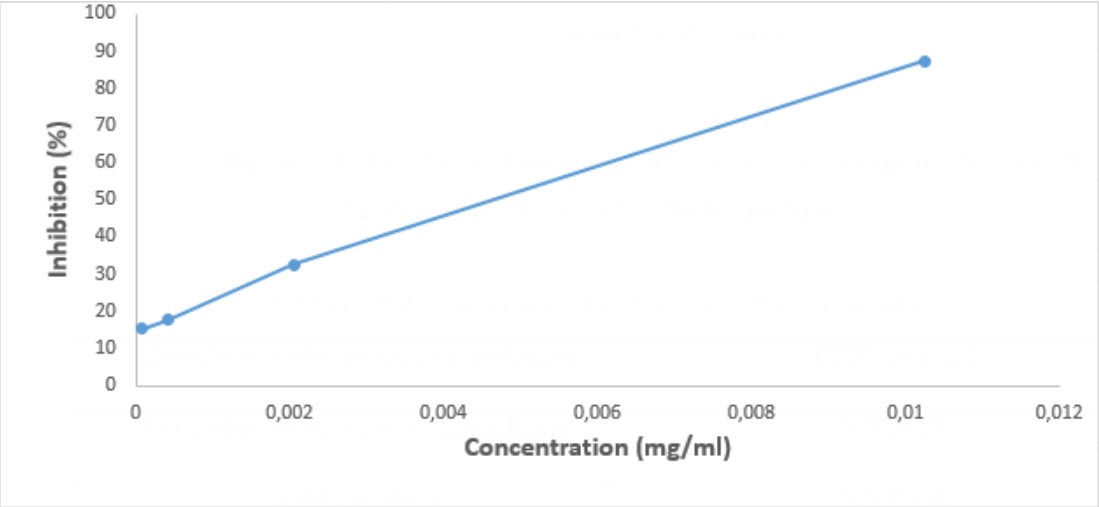


Figure V.3 : Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration d'acide gallique

Tableau V.4 : Les valeurs des EC_{50} des différents extraits

Extraits et antioxydants de référence	EC50 (mg/ml)
Les huiles essentielles d'O.basilicum	**0.005**
Acide gallique	**0,00444**

D'après les résultats obtenus **(Tableau V.1)**, nous remarquons que parmi les deux extraits, EC_{50} de référence d'acide gallique est égal 0.00444mg/ml et EC_{50} d'HE de la plante d'ocimum basilicum est égal 0.005mg/ml. Donc l'activité d'huile essentielle d'ocimum basilicum est un fort l'activité anti oxydant.

En analysant l'ensemble des résultats obtenus et sachant que la faible valeur d'EC_{50}, signifie la forte activité antioxydant. Et en se basant sur les valeurs de l'EC_{50} déterminées par le test DPPH utilisé pour l'anti oxydant de référence (Acide gallique).

Pour comparer l'activité antioxydant d'huile essentielle d'ocimum basilicum par apport d'antioxydants de référence Acide gallique (**la figure V.4)**, illustre le classement du pouvoir anti radicalaire exprimé en EC_{50} des extraits.

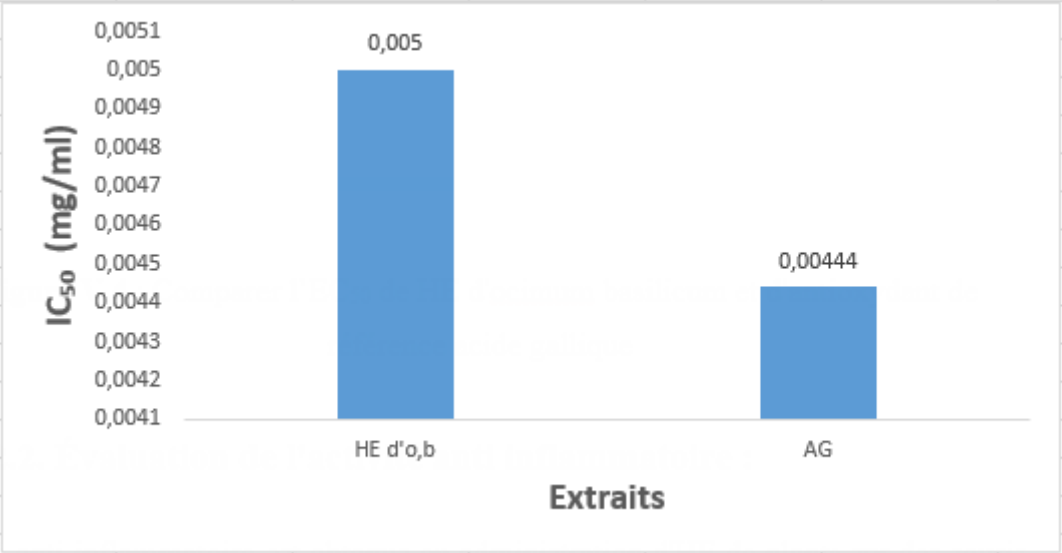


Figure V.4 : Comparer l'EC_{50} de HE d'ocimum basilicum et d'antioxydant de référence acide gallique

V.2.2.2. Évaluation de l'activité anti inflammatoire :

L'activité anti-inflammatoire est obtenue en administration d'HE de plants sur des souris. Les résultats de l'étude sont consignés dans le **tableau V.5**

TableauV.5 : Récapitulation des résultats de l'administration d'HE de la plante sur les souris.

Lot Témoin		**Lot Référence**		**Lot Dose**	
Pattes gauches (g)	Pattes droites (g)	Pattes gauches (g)	Pattes droites (g)	Pattes gauches (g)	Pattes droites (g)
0.1599	0.1592	0.2066	0.1713	0.1795	0.1542
0.2003	0.1477	0.1843	0.1728	0.1925	0.1558
0.1648	0.1157	0.1897	0.1482	0.1925	0.1561
La moyenne = 0.1750	La moyenne = 0.1408	La moyenne = 0.1935	La moyenne = 0.1641	La moyenne = 0.1881	La moyenne = 0.1553
% d'augmentation d'œdème = 24.28%		**% d'augmentation d'œdème = 17.91%**		**% d'augmentation d'œdème = 21.12%**	
		% de réduction d'œdème = 35.56%		**% de réduction d'œdème = 13.01%**	

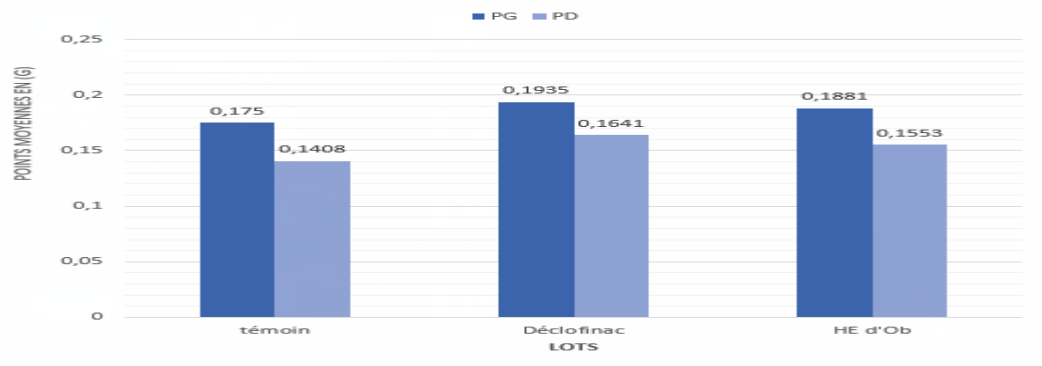


Figure V.5 : Evolution de poids moyens des pattes droites et gauches des souris des trois lots.

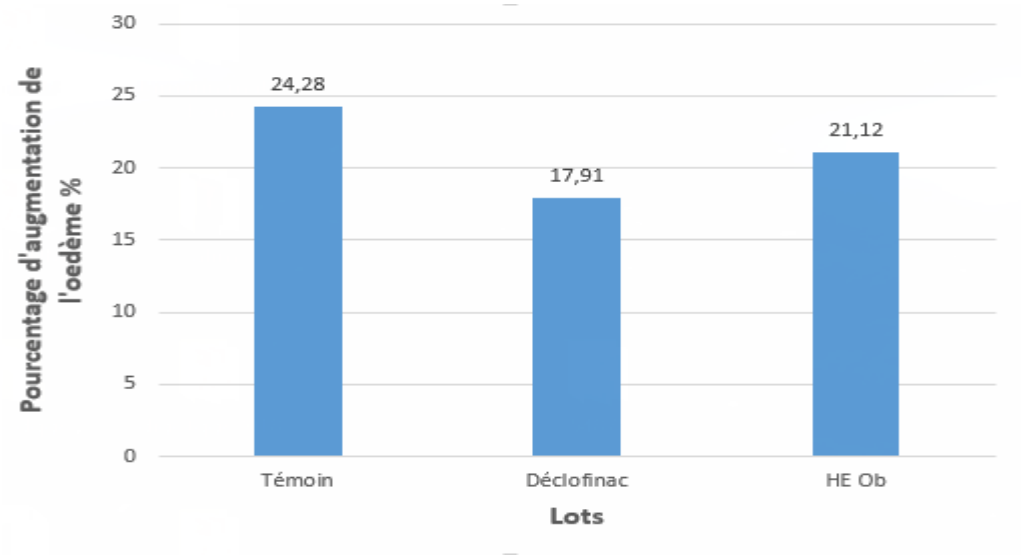


Figure V.6 : Le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites des trois lots.

Le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites du témoin est 24.28%, concernant le lot de référence nous avons remarqué que le pourcentage d'augmentation de l'œdème est 17.91%, et enfin nous signalons un pourcentage d'augmentation de l'œdème pour le lot d'essai est 21.12%.

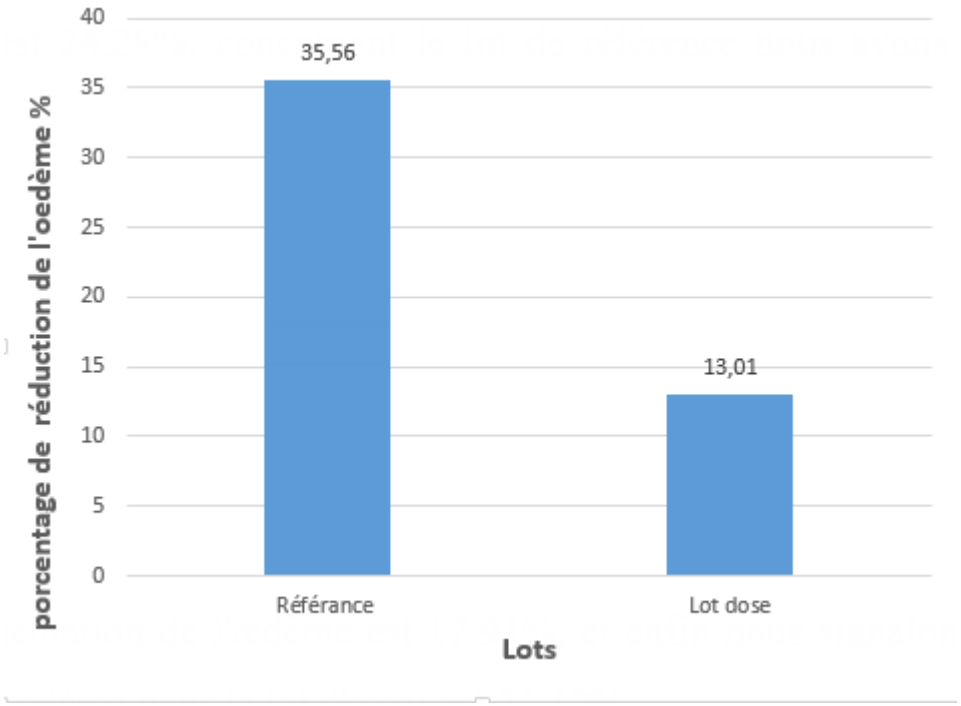


Figure V.7 : Le pourcentage de réduction de l'œdème de lot de référence et le lot d'essai par rapport ou témoin.

Nous avons constaté un pourcentage de réduction de l'œdème des souris traitées par le produit de référence le déchlofinac de sodium par rapport au témoin qui est de 35.56% et ce pourcentage est réduit dans le lot d'essai (HE de plantes d'ocimum basilicum) qui est 13.01%.

On remarque que l'huile essentielle d'ocimum basilicum a un grand pouvoir anti inflammatoire. Dans notre cas, la quantité d'HE est tellement petite que les valeurs obtenues sont plus petites que les valeurs de références.

Conclusion générale

La flore de la région l'Arabraa Wilaya Blida jouie d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources, de plante aromatique (Ocimum basilicum) ont fait l'objet d'une étude phytochimique de leurs huiles essentielles et d'une évaluation de leur potentiel antioxydant et anti inflammatoire.

D'une part l'extraction de l'HE d'O.basilicum est effectuée par hydrodistillation en utilisant l'appareil Clevenger. La détermination du rendement en huile essentielle a montré une rentabilité égale à 1,22%.

Les analyses physico-chimiques réalisées sur l'HE montrent que les deux paramètres étudiés (Densité et l'indice de réfraction).

Par la suite, les chromatographies par CPG et CPG/MS des huiles essentielles ont été réalisé, dans le but d'identifier et de quantifier les constituants chimiques des essences.

L'huile essentielle d'ocimum basilicum est constituée de 21 composants de Linalool (46%), Limonène (17.2%), 1,8-Cinéole (8.6%), Terpinèn-4-ol (3.6%) et myrcène (1.8%) les constituants majoritaires.

Les études des activités anti oxydants par la méthode du DPPH. Les valeurs d'EC_{50} obtenus expérimentalement d'HE de la plante d'ocimum basilicum est égal 5ug/ml et EC_{50} de référence d'acide gallique est égal 4.44µg/ml. Donc l'activité d HE d'ocimum basilicum est un fort l'activité anti oxydant.

Les études des activités anti inflammatoire d'HE d'ocimum basilicum montrent que :

- Le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites du témoin est de 24.28%, concernant le lot de référence nous avons remarqué que le pourcentage d'augmentation de l'œdème est de 17.91% et enfin nous signalons un pourcentage d'augmentation de l'œdème pour le lot d'HE d'ocimum basilicum est de 21.12%.
- Le pourcentage de réduction de l'œdème de la référence Dichlofénac est égal 35.56% et le pourcentage de réduction de l'œdème d'HE d'ocimum basilicum est égal de 13.01%.

Références

ADAMS R.P., 2007: Identification of essential oil components by gaschromatography / massspectrometry, 4th edition. AlluredPublishing Corporation. p804 .

Additifs alimentaires;**Microsoft® Encarta2**® 2009. © 1993-2008 Microsoft Coporation

AFNOR (Association Française de Normalisation), Huiles Essentielles, Paris, 1982, p. 330.

AFNOR., (1986). Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles;*AFNOR;* Paris. 57p.

AGENCE FRANÇAISE DE SECURITE SANITAIRE DES PRODUITS DE SANTE

Alam K, Pathak D, Ansari. S.H. (2011). Evaluation of Anti-inflammatory Activity of *Ammomumsubulatum*FruitExtract.*International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, **3**(1): 35-37.

Akerele, O., 1987, The best of both worlds: bringing traditional medicine up to date. Social Science and Medicine 24:177-81.

ALLAF K., LOUKA N., BOUVIER J.M., PARENT F. et FORGET J.M., 1994 : Procédé de traitement de produits biologiques en vue de la modification de leur texture, installations pour la mise en oeuvre d'un tel procédé et produits ainsi réalisés, French patent n° 93/09728, 1993, International extension PCT FR 94/00975, 1994.

ANKLAM E., BERG H., MATHIASSON L.SHARMAN M. et ULBERTH F., 1998 : Supercritical fluid extraction (SFE) in food analysis : a review. Food addit. Contam., 1998, Vol. 15, pp : 729 – 750.

ANTON R., LOBESTEIN. A., (2005). Plantes aromatiques, Edition Tec et Doc Paris

ARABICI O. ET BAYRAM E., (2004). The effect of nitrogen and different plant density on some agronomic and technologic characteristic of *Ocimumbasilicum L*. (Basil); *Asian Network for Scientific Information*; 3(4): 255-262.

BAJPAI V.K. ET KANG S.C., (2010). Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of Metasequoiaglyptostroboides; *Miki ex Hu. J. Am. Oil. Chem. Soc; Vol.* 87: pp. 327-336

BASER K.H.C. etBuchbauer G., (2010). Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications; Ed. Taylor and Francis Group, LLC; *United States of America*; P: 994.

Bendahou, M.; Muselli, A.; Grignon-Dubois, M.; Benyoucef, M.; Desjobert, J.M.; Bernardini, J.F.;Costa, J. 2007. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum*Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. Food Chem. 106,132-139.

BEKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK L., (2008). «*Review MI-Biological effects of essential oils A Review Food and Chemical Toxicology*»; Vol 46; p: 446-475; 2008

BEZANGER L., BEAUQUESNE L., PINKAS M. ET TORCK METOTROUTIN F., (1990). Plantes médicinales des régions tempérées ; Ed. Maloine

BHATTACHARJEE P., RANGANATHAN T.V., SINGHAL R.S. et KULKARNI P.R., 2003 : Comparative aroma profiles usingsupercriticalcarbondioxide and Likens-
Nickerson extraction from a commercial brand of Basmati rice. J. Sci. Food Agric.,
2003, Vol. 83, pp : 880 – 883.

BOTINEAU M., (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs ; Ed. TEC et DOC, Lavoisier, Paris. P : 1021-1043

BOUHDID S., IDOMAR M., ZHIRI A., BAUDOUX D., SKALI N.S., ABRINI J., (2006). Thymus essential oils : chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities; *Congrès international de biochimie*, Agadir, Maroc; P : 9-12.

BOUKHATEM M., MOHAMED N., FAIROUA S.H. ET YAHIA H., (2010). «Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargoniumgraveolens L.)* cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie) »;Univ. Saad Dahleb de Blida.

Brunneton J., 1993. Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition.
Technique et documentaire, 3eme édition. 484,489,548,555,634 p.

BRUNETON J., (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales ; Tec. Et Doc. Lavoisier. 3eme édition ; P: 484-488.

BRUNETON J., (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales ; Ed. Tec Et Doc, Ed. Lavoisier. 4eme édition. Paris; P 1292.

Bruneton J., 2008. Pharmacognosie – Phytochimie, plantes médicinales, 2eme Ed, Paris, Tec
& Doc – Edition médicales internationales. 1188p.

BURT S., (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: Rev. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253

CAILLET S. ET LACROIX M., (2007). Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire ; Ed.Laboratoire de recherche en

sciences Appliquées à l'alimentation (RESALA) de l'*INRS-Institut Armand-Frappier*, Univ. Laval (Quebec).

Chemat, F.;Lucchesi, M.E.; Smadja, J.; Favretto, L; Colnaghi, G.; Visinoni, F. 2006.Microwave
accelarated steam distillation of essential oil from lavender: A rapid, clean and environmentally friendly approach. Anal. Chim. Acta 555,157-160.

CHEMAT F., TOMAO V. et VIROT M., 2008 : Ultrasound-assisted extraction in food analysis. In Handbook of Food Analysis Instruments by Semithötles (pp. 85 – 103).
Boca Raton, Florida, USA : CRC Press.

CHEMAT S., LAGHA A., AIT AMAR H. et CHEMAT F., 2003 : Ultrasoundassisted microwave digestion. Ultrasoni. Sonochemi., Vol. 11, pp : 5-8.

CHEMAT S., LAGHA A., AIT AMAR H., BARTELS P.V. et CHEMAT F., 2004a :
Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. Flavour and Fragrance Journal, Vol. 19, pp : 188 – 195.

DUARTE C., MOLDAO-MARTINS M., GOUVEIA A.F., BEIRAO DA COSTA S.,
LEITAO A.E. et BERNARDO-GIL M.G., 2004 : Supercritical fluid extraction of red pepper (*Capsicum frutescens*L.). J. Supercrit. Fluids, 2004, vol., 30, pp : 155 – 161.

EL KALAMOUNI C., (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits aromatiques oubliées de Midi- Pyrénées ; *thèse de doctorat* ; université de Toulouse

Flamini, G.;Tebano, M.; Cioni, P.L; Ceccarini, L; Ricci, A.S.; Longo, I. 2007.Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurasnobilis*L and a novel method which uses microwaves applied *in situ,* without resorting to an oven. J.Chromatogr. A 1143, 36-40.

GULCIN I., MSHVILDADZE V. ET GEPDIREMEN A., (2003). Antioxydant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of Hederacolchica: 3-O-(b-D-glucopyranosyl)-hederagenin »; *Phytother*; *Rev* 20; pp 130-134.

HEINRICH G., SCHULTZE W., PFAB I. ET BOETTGER M., (1983). The site of essential oil biosynthesis in PoncirustrifoliataandMonardafistulosa. *PhysiologieVegetale*; P : 257-268

Highfield E. S. and Kemper K. J., (1999). White Willow Bark (Salix alba), Longwood Herbal Task Force: http://www.mcp.edu/herbal/default.htm.

HUBERT R., (2007). Les plantes aromatique et huiles essentielles à Grasse, Quatrième partie : les Lamiacée, Les basilics''*Ocimumssp*'', ''Botanique- culture-chimie-production et marché'' ; Ed. L'Harmattan, France (paris) ; P : 414

Huiles essentielles ; **Microsoft ® Encarta1** ® 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation

HURTEL M.J., « Phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles » ; Copyright 2000

J.F. Clevenger, Apparatus for volatile oil determination, Description of New Type, *American Perfumer & Essential Oil Review*, 1928, Octobre, 467-503.

Khabbal Y, Ait El Cadi M, Alaoui K, Faouzi Mg.A, Cherrah Y. (2006). Activité antiinflammatoire de *Zygophyllum goetulum*. *Phytothérapie*, **5**: 227-229.

KING J.W., 2004 : Critical fluid technology for the processing of lipid-related natural products. Comptes Rendus Chimie, Vol. 7, pp : 647 – 659.

KOTHE H.W. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales ; Ed. Terres; P : 336(220)

LAGNIKA. L : ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITE BIOLOGIQUE DE SUBSTANCES NATURELLES ISOLEES DE PLANTES BENINOISES , 2005

LAGUNEZ. R. L; ETUDE DE L'EXTRACTION DE METABOLITES SECONDAIRES DE DIFFERENTES MATIERES VEGETALES EN REACTEUR CHAUFFE PAR INDUCTION THERMOMAGNETIQUE DIRECTE ; thèse doctorat 2006

LEE S.J., UMANO K., SCHIBAMOTO T. ET LEE K.G., (2005). Identification of Volatilscomposants in basil (Ocimumbasilicum L.) And thyme Leaves (thymus vulgaris L.) and their antioxidant properties – *Food Chemistry;* Vol 91; p: 131 -137; 2005

Lucchesi, M.E.; Chemat, F.; Smadja, J. 2004.Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. J. Chromatogr. A 1043, 323-327.

Lucchesi, M.E.; Smadja, J.; Bradshaw, S.; Louw, W.; Chemat, F. 2007.Solvent free microwave extraction of *Elletariacardamomum*L: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. J. Food Engineer. 79,1079-1086.

LUQUE DE CASTRO M.D. et FRIEGO-CAPOTE F., 2007 : Ultrasound assistance to liquidliquid extraction : A debatable analytical tool. AnalyticaChimicaActa, Vol. 583, pp : 2 – 9.

MAILHEBIAU P., (1994). La nouvelle aromathérapie : biochimie aromatique et influencepsychosensorielle des odeurs. Lausanne. P : 635.

MASON T.J. et CINTAS P., 2002 : Sonochemistry, Chapitre 16, pp : 372 - 396 In CLARK J. et MACQUARRIE D., 2002 : Handbook of Green Chemistry and Technology.
Editon Blackwell Science Ltd. 540 p.

MCGRAW-HILL., (2007). Encyclopedia of Science and Technology, 10th Edition

Melero C. P., Medarde M, and Feliciano A.S, (2000). A Short Review on Cardiotonic Steroids and Their Aminoguanidine Analogues, *Molecules*, Vol5 : 51-81.

Mengel, P.; Beh, D.; Bellido, G.M.; Monpon, B. 1993. **VHMD: extraction d'huile essentielle par micro-ondes.** ParfumsCosmétiquesArômes 114, 66-67.

MOLYNEUX P., (2004). The use of stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* ,***26****(2)*, 211-219.

Mulla A.W et *al*., (2010). Evaluation of antiinflammatory and analgesic activities of ethanolic extract of roots *Adhatodavasica*Linn. *International Journal of PharmTech Research*, **2**(2):1364-1368.

MULTON J.L., (2002). Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. Ed. Lavoisier, Paris ; P : 207- 231.

Nacoulma OG, 1996. Medicinal Plants and Their Traditional Uses in Bu rkina Faso.
Ph.D.Thesis. University of Ouagadougou 328.

Noudogbessi, J.P., Alitonou, G.A., Djènontin, T., Avlessi, F., Figueredo, G., Chalard, P., Chalchat, J.C., Sohounhloue, D.C.K., 2013. Chemical Compositions and Physicochemical Properties of Three Varieties Essential oils of Cymbopogon giganteus Growing to the Spontaneous State in Benin. Orient J Chem 29, 59–67.

PELLECUER J., JACOB M., SIMEON BOUCHBERG M., (1980). Essais d'utilisation d'huiles essentielles des plantes aromatiques méditerranéennes en odontologie conservatrice ; *Plant Médicinales Phytothérapie* ; P : 83-98

PELLERIN P., 1991 : Spercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavor and perfume industry. Perfum. Flav., Vol. 16, pp : 37 – 39.

PERRUT M., **1999 :** Extraction par fluide supercritique. Les techniques de l'ingénieur. J 2 770.

POUSSET L.J., (2004). « Plantes médicinales d'Afrique : comment les reconnaitre et les utiliser ? » ; Ed. La calade, UE ; P : 287 (187-188)

RIAZ M., QAMAR S., CHOUDHARY F.M. ET PACK. J., (1999). *Sci. Ind – Res*; Vol 6; P: 332

Romanik. G, E. Gilgenast, A. Przyjazny, M. Kamiński; Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis; J. Biochem. Biophys. Methods 70 (2007) 253–261

SALISOVA M., TOMA S. et MASON T.J., 1997 : Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from Salvia officinalis. UltrasonicsSonochemistry, Vol. 4, pp : 131 – 134.

SARRAZIN C., LE QUÈRE J.-L., GRETSCH C. ET LIARDON R., 2000 :
Representativeness of coffee aroma extracts : comparison of different extraction methods. Food chem., 2000, vol. 70, pp : 99 – 106.

SCHAUENBERGE P. (2006). Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes ; Ed. Ferdinand ; Paris ; P : 396

SENORANS F.J. , RUIZ-RODRIGUEZ A., IBANEZ E., TABERA J. et REGLERO G., 2003 :
Isolation of brandy aroma by countercurrentsupercriticalfluid extraction. J.supercrit. Fluids, 2003, Vol. 26, pp : 129 – 135.

Sharma O.P etBhat T.K., 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry.* **113,** 1202–1205.

Sharma U.S, Sharma U.K, Sutar N, Singh A et Shukla D.K. (2010). Anti-inflammatory activity of *Cordiadichotomaforst f.* seeds extracts. *International Journal of Pharmaceuticals Analysis,* **2**(1): 01-04.pp 01-04

Simon, J.E., Morales, M.R., Phippen, W.B., Vieira, R.F., Hao, Z., 1999. A source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. In J. Janick (Ed.),

Perspectives on new crops and new uses (pp. 499–505). Alexandria, VA: ASHS Press.

SKOOG D.A., HOLLER F.J. et NIEMAN T.A., 2003 : Principes d'analyse instrumentale.
Edition De Boeck Diffusion s.a., 956 p.

Smallfield B., (2001.) Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research,* **45**, 4p.

Svoboda K.P etHampson J.B., (1999.) Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW,*1-17.

The Editors ofEncyclopædia Britannica; ©2016 Encyclopædia Britannica, *Inc*

TRANCHANT J., ARPINO P., PRÉVÔT A., SERPINET J., VERGNOL A. et WITIER P., 1995 : Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. 4ème édition. Edition MASSON, 700 p.

TURNER C., 2006 : Modern extraction techniques. Food and agricultural samples. ACS Symposium Series 926. Edition,, American Chemical Society, Washington, DC. 189p.

VAN DEN DOOL H. et KRATZ P.D., 1963 : A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. J. Chromato. A., Vol. 11, pp : 463-471.

VEKIARI S.A., PROTOPAPADAKIS E.F., PAPADOPOULOU P., PAPANICOLAOU D, PANOU C. ET VAMVAKIAS M., (2002). Composition and seasonal variation of the essentian oil from leaves and peel of a limon variety; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; **5(1)**, 147-153

VINATORU M., 2001 : An overview of ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. UltrasonicsSonochemistry, Vol. 8, pp : 303-313.

VINATORU M., TOMA M., RADU O., FILIP P.I., LAZURCA D. et MASON T.J., 1997 : The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. UltrasonicsSonochemistry, Vol. 4, pp : 135 – 139.

VINATORU M., TOMA M. et MASON T.J., 1999 : Ultrasound-assisted extraction of bioactive principles from plants and their constituents. Adv. Sonochem., Vol. 5, pp :209 – 247.