

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE KASDI MERBAH - OUARGLA
FACULTÉ DES MATHÉMATIQUES ET SCIENCES DE LA MATIÈRE
DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE

Pour obtention du diplôme de Master en Chimie

Spécialité : Chimie organique

Présenté par

GHERIANI Fadwa & KHEMIS Safa

Valorisation de deux plantes médicinales algériennes

Soutenu le 01/07/2019, devant le Jury composé de

Président	ZENKHRI Louiza	MCA	Université KASDI Merbah- Ouargla
Examineur	MEKHELFI Tarak	MCA	Université KASDI Merbah- Ouargla
Invitée	BENAMOR Loubna	MCB	Université KASDI Merbah- Ouargla
Promotrice	ZAOUI Manel	MCA	Université KASDI Merbah- Ouargla
Co-encadreur	KHELASSI Asma	MCB	Centre universitaire de Maghnia

Année universitaire

2018/2019

Sommaire

Liste des abréviations		
Liste des figures		
Liste des tableaux		
Introduction		
Chapitre I : <i>La synthèse bibliographique</i>		
I.1	Généralité sur les plants médicinales.....	1
I.1.1.	Les plants médicinales aromatiques.....	1
I.1.2.	Mode d'obtention et récolte	1
I.1.3.	Utilisation des plants en médecine traditionnelle	1
I.2.	Description des plantes	2
I.2.1.	Lavandula stoechas (L.stoechas)	2
I.2.1.1.	Description botanique	2
I.2.1.2.	Classification de (L.stoechas)	3
I.2.1.3.	Utilisations traditionnelle	3
I.2.2.	Traganum nudatum	4
I.2.2.1.	Description botanique	4
I.2.2.2.	Classification de traganum nudatum	4
I.2.2.3.	Les utilisations curatives du traganum nudatum	5
I.3.	Les travaux intérieurs	6
I.4.	Les huiles essentielles	7
I.4.1.	Définition	7
I.4.2.	La composition des huiles essentielles	7
I.4.2.1.	Les terpènes	8
I.4.2.2.	Les composés aromatiques	8
I.4.2.3.	Les composés d'origine diverse	8
I.4.3.	Les propriétés physiques et chimiques	8
I.4.3.1.	Les propriétés physiques	8
I.4.3.2.	Les propriétés chimiques	9
I.4.4.	Valorisation des Hes	9
I.4.5.	Toxicité de Hes	10
I.5.	L'hydrolat	11
I.5.1.	Considérations générales	11
I.5.2.	Composition de l'hydrolat	11
I.6	Extraction et analyse	12
I.6.1.	Procédés d'extractions de l'huile essentielle	12
I.6.1.1.	Hydrodistillation	12
I.6.1.2.	Entraînement à la vapeur d'eau	13
I.6.1.3.	Hydrodiffusion	15
I.6.1.4.	Extraction par du CO ₂ supercritique	15
I.6.1.5.	Extraction assistée par micro- onde	15
I.6.1.6.	Extraction par solvants volatiles	16
I.6.2.	Méthodes d'analyses	17
I.6.2.1.	Le couplage chromatographie- spectrométrie de masse	17
I.6.2.2.	Spectroscopie infra- rouge (IR)	19
I.6.2.3.	La spectrophotométrie UV-visible	19
I.6.2.3.1.	Définition	19

I.6.2.3.2.	Principe de la spectrophotométrie UV- visible	19
I.7.	Les activités biologiques	20
I.7.1.	L'activité antioxydante	20
I.7.1.1.	Radicaux libres et stress oxydatif	20
I.7.1.2.	Antioxydants	20
I.7.1.3.	Mode d'action d'un antioxydant	21
I.7.2.	L'activité antibactérienne	21
I.7.2.1.	Méthode de diffusion ou des aromagrammes	22
I.7.2.2.	Technique en milieu liquide (méthode de dilution)	23
I.7.2.3.	Technique de diffusion en puits	23
Chapitre II : Matériel et méthodes		
II.1.	Matériels et méthodes	25
II.1.1.	Récolte et identification des plantes	25
II.1.2.	L'extraction de l'huile essentielle	26
II.1.3.	Le rendement	26
II.1.4.	L'extraction d'hydrolat	27
II.1.5.	Les tests physico-chimiques	27
II.1.5.1.	La densité	27
II.1.5.2.	Indice de réfraction	27
II.1.5.3.	Indice d'acide	27
II.1.5.4.	Mesure du Ph	28
II.1.6.	Les tests biologiques	28
II.1.6.1.	L'activité antioxydante	28
II.1.6.1.1.	Effet scavenger du radicale DPPH	28
II.1.6.2.	Effet antibactérien	28
II.1.6.2.1.	Souches bactériennes	30
II.1.6.2.2.	Détermination de l'activité antibactérienne par la technique de contact direct.	31
II.1.6.2.3.	Préparation des dilutions des huiles essentielle	31
II.1.6.2.4.	Préparation de l'inoculum et des suspensions bactériennes	32
II.1.6.2.5.	Ensemencement et incubation	32
Chapitre III : Résultat et discussions		
III.1.	Résultat et discussion	34
III.1.1.	Rendement en l'huile essentielle	34
III.1.2.	L'hydrolat	35
III.1.3.	Les tests physico-chimiques	36
III.1.3.1.	L'indice d'acide	36
III.1.3.2.	Indice de réfraction	37
III.1.3.3.	Densité relative	38
III.1.3.4.	Mesure de Ph	38
III.1.4.	Les tests biologiques	39
III.1.4.1.	Activité antioxydante	39
III.1.4.2.	L'activité antibactérienne	43
Conclusion générale		

Liste des abréviations

HE	Huile essentielle
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
MS	Spectrophotométrie de masse
DPPH	2.2.diphenyl-1-picryl-hydrazyl
DMSO	Diméthyle sulfure
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance

Listes des figures

Figure 1 :	Une photo de la plante : Lavandula stoechas (L.stoechas)	
Figure 2 :	Traganum nudatum	
Figure 3 :	Extraction de l'huile par hydrodistillation	
Figure 4 :	Extraction de l'huile par entraînement à la vapeur d'eau.	
Figure 5 :	Extraction de l'huile par hydrodiffusion	
Figure 6 :	Extraction par micro-onde	
Figure 7 :	L'extraction par solvants volatils	
Figure 8 :	Le couplage chromatographie - spectrométrie de masse	
Figure 9 :	Méthode des aromagrammes	
Figure 10 :	La région de la plante T.nudatum	
Figure 11 :	La région de la plante L.stoechas	
Figure 12 :	L'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation	
Figure 13 :	Diagramme du rendement de l'huile essentielle	
Figure 14 :	Diagramme du rendement de l'huile d'hydrolat	
Figure 15 :	La mesure de ph	
Figure 16 :	Diagramme du ph	
Figure 17 :	La courbe anti-radicalaire du lavandula stoechas.	
Figure 18 :	La courbe anti-radicalaire du traganum nudatum.	
Figure 19 :	Activité anti-radicalaire d'acide ascorbique.	
Figure 20 :	Diagramme de valeur de IC50	
Figure 21 :	Le résultat de l'activité antibactérienne	

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Les différents composés présents dans l'HE de chaque pays	
Tableau 2 :	Les valeurs de rendement de l'huile essentielle	
Tableau 3 :	Les valeurs de rendement de l'huile d'hydrolat	
Tableau 4 :	Indices de réfraction des plantes.	
Tableau 5 :	les valeurs de ph	
Tableau 6 :	Les valeurs de IC ₅₀ .	

Introduction

Depuis longtemps, la recherche de nouvelles molécules médicamenteuses d'origine naturelle repose sur les plantes médicinales et sur les études ethnobotaniques qui permettent de réaliser des inventaires de plantes d'une région, en déterminant leur qualités par des études phytochimiques et pharmacologiques.

De ce fait, la valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays (**Aboughe Angone et al, 2015**).

L'Algérie, pays connu pour ses ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. Environ 3 000 espèces de plantes dont 15% endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques.

Ce qui le rend un chapitre intéressant d'expériences pour extraire les substances biologiquement actives.

Les différentes substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples dans le système de soins traditionnels et dans les différentes industries comme l'alimentation, la cosmétologie et en dermopharmacie.

Parmi ces substances, les métabolites secondaires comme les huiles essentielles qui se sont surtout illustrées en thérapeutique.

Dans ce contexte et le cadre de notre travail relatif aux plantes médicinales et les huiles essentielles, nous nous sommes intéressés à extraire et traiter l'huile essentielle de deux plantes médicinales l'une récolté de la zone saharienne et l'autre du nord algérien.

Les principaux chapitres de notre travail sont traités selon le plan suivant:

- Le premier chapitre sera consacré à la synthèse bibliographique.
- le second chapitre sera consacré au travail personnel consistant en l'extraction et l'analyse des huiles et les différentes activités.
- le troisième chapitre contient les résultats et discussions.
- on termine notre travaille par une conclusion générale qui résume nos résultat obtenus.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. Généralité sur les plantes médicinales.***1.1.1. Les plantes médicinale aromatiques***

« Une plante » est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elle est présentée via ces propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales.

Les plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (Moreau, 2003).

Les plants aromatiques médicinaux contiennent des molécules à haute valeur ajoutée, parmi lesquelles on trouve des composés ayant une activité olfactive. Ils représentent ce que l'on appelle huile essentielle HE et sont très convoités par les industries pharmaceutiques et cosmétiques (Sanago, 2006).

1.1.2. Mode d'obtention et récolte

Des études scientifiques ont permis de définir le moment optimal de la récolte. Ainsi, sont récoltées de préférence:

- les racines au moment du repos végétatif (automne, hiver).
- les parties aériennes, le plus souvent au moment de la floraison.
- les feuilles, juste avant la floraison.
- les fleurs à leur plein épanouissement, voir en bouton (aubépine).
- les graines, lorsqu'elles auront perdu la majeure partie de leur humidité naturelle (R.Anton1999).

1.1.3. Utilisation des plantes en médecine traditionnelle

Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont

souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité.

L'ethnopharmacologie et l'ethnobotanique ont pour finalité à la fois la compréhension des pratiques et des représentations relatives à la santé et la maladie ainsi qu'à la description, et l'évaluation thérapeutique des plantes utilisées dans les pharmacopées traditionnelles. L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles plantes est donc extrêmement important pour une sélection efficace de plantes puisque la plupart des métabolites secondaires de plantes employées en médecine moderne ont été découverts par l'intermédiaire d'investigations ethnobotaniques (A.Lhuillier 2007, A. Gurib2006)

Notre travail a été sur 2 plantes médicinales aromatique, l'une récolté du nord Algérien (lavandula stoechas) et l'autre récolté du Sahara algérienne (Traganum nudatum).

I.2. Description des plantes

I.2.1. Lavandula stoechas (L.stoechas)

I.2.1.1. Description botanique

L.stoechas est de la famille des Labiées (Lamiacées). Elle appelée Amezzir en kabyle et Djaïda en arabe. C'est un sous-arbrisseau à tiges et feuilles persistantes, atteignant jusqu'à 1 mètre de longueur, de couleur vert pâle, avec des fleurs bleu-violet.

L. stoechas est une plante tendre, qui préfère les endroits ensoleillés et les sols riches. Ses tiges étroites sont quadrangulaires à feuilles opposées, tendant à être plus vertes que grises, à leur extrémité se trouve une inflorescence terminée par un toupet et de longues bractées violettes.

Elle est largement distribuée dans les Iles canaries, l'Islande et à travers tout le tell méditerranéen, l'Afrique du Nord ainsi que le Sud-ouest de l'Asie. (Quezel et all,

1962).

1.2.1.2. Classification de (L.stoechas)

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Sous-famille : Nepetoideae

Genre : Lavandula

Non botanique : Lavandula stoechas

Nom commun : Lavande stoechade (Quezel et all, 1962).



Figure1 : une photo de la plante : Lavandula stoechas (L.stoechas)

1.2.1.3. Utilisations traditionnelle

L.stoechas (Lamiacée) est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle comme :

- Anticonvulsivant et antispasmodique.
- Comme traitement pour diverses maladies du centre du système nerveux, comme l'épilepsie et la migraine.

- L'huile essentielle de la lavande est utilisée en parfumerie et la cosmétique, (**Gilani et al. 2000**).

1.2.2. Traganum nudatum (T.nugatum)

1.2.2.1. Description botanique

Le *T.nudatum* est un feuillu vivace de la famille Chénopodiacées, sa hauteur est de 15-40 cm mais elle peut atteindre 1 m, des tiges dérivantes, les branches de couleur blanches, les feuilles ovales en alternation, leur dimensions (1.5 – 3 x 8 – 4), la plante présente des chardons jaunes courbées vers le bas et se terminent par une chevelure en coton qui couvrent les fleurons et les nouvelles tiges après la disparition des feuilles.

La floraison se produit durant le printemps en formant de modestes fleurs qui se regroupent en deux à trois fleurs. Cette plante garde sa forme durant l'été avec jaunissement des feuilles.

La plante recouvre une grande surface des wilayas d'Ouargla, El-Oued, Ghardaïa et Tébessa

Au nord centre du Sahara, elle pousse dans l'erg et dans les régions sableuses (**Boumlik Messaili, 1995**).

1.2.2.2. Classification de *traganum nudatum*

- **Nom usuel (courant):** Tragam Dénudé
- **Nom usuel en arabe:** Edh- dhamrane
- **Nom scientifique:** *Traganum nudatum*
- **Règne:** Végétal
- **Embranchement:** spermaphytes
- **Sous embranchement:** angiospermes
- **Classe:** Dicotylédones
- **Sous classe:** Apétales
- **Série:** Apétales unisexuées
- **Ordre:** Centrospermales

- **Famille:** Chénopodiacées
- **Genre:** Traganum
- **Espèce :** nudatum (**Z.Zerrouki, 1996**)



Figure2 : traganum nudatum

1.2.2.3 Les utilisations curatives du T.nudatum

Le Tnudatum très mentionné dans la littérature arabe, notamment dans la poésie. Il est utilisé comme matière curative sous forme de tisane, de poudre ou même sous forme de baume. De diverses maladies sont traitées par cette plante; citons:

- Traitement des plaies et les maladies cutanées
- Traitement des hémorroïdes
- Traitement des différentes formes du rhumatisme.
- Traitement des maux du dos particulièrement les lombalgies.
- Traitement des diarrhées et les exténuations.
- Traitement des otites.
- Le mélange de la plante avec le henné et une matière savonneuse est utilisé

pour le traitement des blessures et les tuméfactions cutanés (Querts Santa, 1963)

I.3. Les travaux antérieurs

Les recherches portant sur les huiles essentielles ont été accrues depuis des décennies de leur importance dans les différents domaines cités précédemment. Concernant nos 2 plantes étudiées beaucoup de travaux ont été menés visant l'axe phyto-chimique.

L'HE du *L. stoechas* a été déjà extraite et traitée d'une plante provenant de la Tunisie par Dop Tahar et al (Dop et al ;2005), d'Italie par Alberto Angioni et al (Angioni et al ;2006) et de la graine par Chedly Abidi et al (Chedly et al ;1978).

Le tableau ci-dessous récapitule les différents composés présents dans l'HEs provenant de chaque pays.

Malgré que c'est la même plante qui a été étudiée mais d'après le tableau on remarque que plusieurs facteurs influencent sur la composition de l'HE, tel que : la nature du sol, le climat, l'eauect. C'est sur ce contexte, qu'on a eu le courage d'étudier *L. stoechas* cultivé au nord algérien.

ce qui nous offre une originalité pour les deux plantes puisqu'aucun travail n'a été publié jusqu'à l'heure actuelle sur le *T. nudatum*.

Tableau 1 : Les différents composés présents dans l'HE de chaque pays

Composés	Dob <i>et al.</i> (Dob <i>et al.</i> , 2005)	Angioni <i>et al.</i> (Angioni <i>et al.</i> , 2006)	Chedly <i>et al.</i> (Chedly <i>et al.</i> ,1978)
Tricyclène	+	-	+
α -pinène	+	+	+
Camphre	-	+	+
β -phellandrene	-	+	+
β -pinène	+	+	+
Delta 3-carene	-	-	+
Limonène	-	+	+
Eucapur	-	-	+
Camphor	+	+	+
Myrteno	+	-	+
Endobornyl acétate	-	-	+
Aromad endrene	-	+	+
α -copaene	-	+	+
Caryophyllène	-	+	+
β -selinène	+	+	+
Sabinene	+	+	-

Delta-cadinène	-	-	+
R-thujène	-	+	-
c-cadinène	+	-	-
Piperitone	+	-	-
b-cubébène	+	-	-
a-cedrene	+	-	-
Cymène	-	-	+

I.4. Les huiles essentielles

I.4.1. Définition

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques (**Roulier, 1990 ; Wegrzyn., 2005**). Elle concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs.

Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles.

Une huile essentielle (HE) est un mélange très complexe de substances chimiques, liquide à température ambiante, la volatilité de ses composants lui confère souvent un parfum très odorant. Les composés constitutifs se forment dans un grand nombre de plantes comme produits du métabolisme secondaire.

Elles se différencient des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leur composition, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que leurs taches sur le papier sont passagères.

Les huiles essentielles ont, à toute époque, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme qui les utilisait autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. (**Nogaret, 2008**).

I.4.2. La composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles, dans des poils sécréteurs, dans des poches sécrétrices ou dans des canaux sécréteurs.

Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétales: les fleurs, les feuilles, les racines, les rhizomes, les fruits, le bois et/ou les graines.

Les HEs sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés terpéniques, aromatiques et diverses (**Lagunez Carole, 2013**).

1.4.2.1. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute (C₅H₈). Les huiles essentielles contiennent particulièrement des monoterpènes, des sesquiterpènes et peu souvent de diterpènes.

Les terpènes sont de structures très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques,...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques (**Finar, 1994**).

1.4.2.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane. Ils sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole. Ils sont fréquemment rencontrés dans les HEs d'Apiacées (cumin, fenouil, persil, etc...) et sont caractéristiques de celles de la vanille, de l'estragon, du basilic, du clou de girofle (**Chemat et al, 2012**).

1.4.2.3. Les composés d'origine diverse

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînaibles lors de l'hydro distillation carbure, acide (C₃ à C₁₀), alcools, aldéhydes (octanal, décanal ...), esters, lactones, produits azotés ou soufrés (**Lagunez Carole, 2013**).

1.4.3. Les propriétés physiques et chimiques

1.4.3.1. Les propriétés physique

Les huiles essentielles possèdent un certain nombre des propriétés physiques très connus, qui sont les suivants:

- Pouvoir intense de diffusion et de pénétration.
- Pouvoir rotatoire dû à la présence des molécules asymétriques.
- Généralement liquide à la température ambiante alors qu'elles sont volatiles à température élevée.
- Elles sont peu solubles dans l'eau.
- Elles sont solubles dans les solvants organiques usuels dans les graisses (liposolubles).
- Elles sont solubles dans les huiles végétales minérales.
- Elles ont généralement une densité inférieure de celle de l'eau ($d < 1$) (les huiles essentielles des girofles ou des cannelles constituent des exceptions).
- Elles sont incolores à jaune pâle mais il existe toutefois des exceptions (**Duraffourd et al. 1997**).

1.4.3.2. Les propriétés chimiques

Les huiles essentielles possèdent certaines propriétés communes:

- Chaque classe chimique est étroitement liée à une réponse thérapeutique précise.
- Les composés aromatiques ne sont pas immuables pour une même plante.
- Différents facteurs tels: l'ensoleillement l'atmosphère et la composition du sol peuvent influencer sur la biosynthèse végétale.
- Les huiles essentielles peuvent s'altérer à l'air et à la lumière (**Duraffourd et al, 1997**).

1.4.4. Valorisations des HEs

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que:

a- En pharmacie :

Les huiles essentielles peuvent être utilisées comme:

- Aromatisant des médicaments destinés à la voie orale.
- Pour leurs actions physiologiques (Menthes, Verveine, Camomille).

b- Dans l'industrie :

- Parfumerie et cosmétologie.

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles

Essentielles constituent des bases de parfums.

- - Alimentation:

Les huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie) (**M. Hurabielle; 1980**)

1.4.5. Toxicité des HEs

Comme pour un médicament, il existe pour chaque huile essentielle un équilibre entre le bénéfique et le risque qui doit aussi être envisagé en fonction du sujet. L'application cutanée, des HEs contenant des furocoumarines et pyrocoumarines (huile de Citrus) ou même leur prise par voie orale, peut provoquer sous l'effet prolongé du soleil, des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la carcinogénèse.

Aussi, l'absorption orale des HEs riches en monoterpènes sur de longues périodes peut enflammer et détériorer à terme, les néphrons (les unités fonctionnelles du rein). C'est ce que l'on nomme une néphrotoxicité.

De plus l'usage des HEs en application locale, en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des irritations, allergies voir photosensibilisation. C'est le cas de l'huile essentielle de Thym, d'Origan, de la Sarriette (huiles riches en thymol ou en carvacrol) qui sont connues pour leur pouvoir irritant et agressif (**Bakkali et al, 2008**).

1.5. L'hydrolat

1.5.1. Considérations générales

A l'issue de la distillation à la vapeur d'eau des différentes parties de plantes aromatiques, on obtient de l'huile essentielle dense en principes actifs (non hydrosolubles) au-dessus dans le vase florentin, et la vapeur d'eau redevenue liquide après refroidissement se concentre en bas. Cette vapeur d'eau redevenue liquide est chargée de composés aromatiques de l'huile essentielle environ 2 à 3 %, et d'autres principes actifs hydrosolubles que l'on ne retrouve pas dans l'huile essentielle, ce qui lui confère des propriétés propres.

C'est donc l'eau utilisée pour la distillation de plantes aromatiques qui se sépare de l'huile essentielle à la sortie de l'alambic que l'on appelle hydrolat, eau florale ou hydrosol en

Anglais.

Il est important de noter que chaque goutte d'hydrolat contient toutes les informations de la plante, et que l'hydrolat est plus riche en principes actifs volatils que l'infusé de la même plante. L'hydrolat a un parfum et un goût plus ou moins prononcé mais beaucoup moins concentré qu'une huile essentielle. Certaines eaux florales sont d'usage courant en cuisine et en soins externes, comme l'eau de fleurs d'oranger, l'eau de rose et l'eau de bleuet. Les hydrolats sont extrêmement sensibles aux développements des bactéries à cause de leur faible teneur en huile essentielle et à la présence de particules végétales, raisons pour lesquelles, ils ne se conservent pas longtemps, (de 12 à 24 mois). Il faut donc impérativement les conserver à l'abri de la lumière dans des flacons opaques, à l'abri de la chaleur, et à l'abri des variations de température.

Certaines plantes ou fleurs ne donnent pas ou très peu d'huile essentielle, elles sont distillées surtout pour leur hydrolat aux propriétés cosmétiques et médicinales comme la mauve, le bleuet, le tilleul, l'hamamélis... Alors que les huiles essentielles sont largement étudiées, les hydrolats restent bien souvent peu exploités. Ces "eaux magiques" ont pourtant, elles aussi, des vertus thérapeutiques.

La thérapie par les eaux florales, l'hydrolathérapie, est une branche de l'aromathérapie. Malgré sa faible concentration en principes actifs, l'hydrolat présente donc certaines activités pharmacologiques intéressantes. Certains sont utilisés depuis des siècles dans des préparations cosmétiques, thérapeutiques et culinaires mais leur intérêt principal, c'est qu'ils sont toujours beaucoup mieux tolérés que les huiles essentielles. **(Sifi Mohamed, 2018)**.

1.5.2. Composition de l'hydrolat

En règle générale, les hydrolats sont riches en composés oxygénés hydrophiles alors que les composés lipophiles comme les hydrocarbures terpéniques sont la plupart du temps absents. On y trouve souvent de petits acides organiques volatiles, ce qui implique que les hydrolats sont habituellement à pH acide.

La composition de l'hydrolat est différente de celle de l'huile essentielle: il contient une infime portion des composants de l'huile essentielle et surtout tous les composés hydrosolubles de la plante (qui ne se retrouvent pas ou peu dans l'huile essentielle).

Un hydrolat d'une plante donné n'aura donc pas nécessairement les mêmes propriétés que les huiles essentielles. Par exemple l'hydrolat de Cannelle contient en dissolution 92% d'aldéhyde cinnamique, l'huile essentielle n'en contient que 75-76%.

L'hydrolat de thym renferme 46% de phénols (surtout du carvacrol) alors que l'huile essentielle n'en contient que 32%. L'un et l'autre sont donc souvent complémentaires. Mais l'intérêt principal des hydrolats sur le plan thérapeutique, c'est qu'ils sont beaucoup mieux tolérés que les huiles essentielles (par les enfants et les animaux en particulier).

Pour pouvoir analyser la composition chimique des hydrolats par CPG-SM, il faut procéder à une extraction liquide-liquide avec un solvant organique tel que l'éther di éthylique ou chloroforme afin de concentrer l'hydrolat avant l'injection. (**Sifi Mohamed, 2018**).

I.6. Extraction et analyse

I.6.1. Procédés d'extractions de l'huile essentielle

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes. Une forte demande toujours plus exigeante basée sur différents phénomènes physiques : la distillation, l'extraction ou la séparation, ces techniques d'extraction seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées et classées en deux catégories distinctes selon le produit final obtenu : une huile essentielle ou un extrait aromatique (**R.Gerhard, 1993**)

I.6.1.1. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult). Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger (**D.L.Pavida, 1976**).

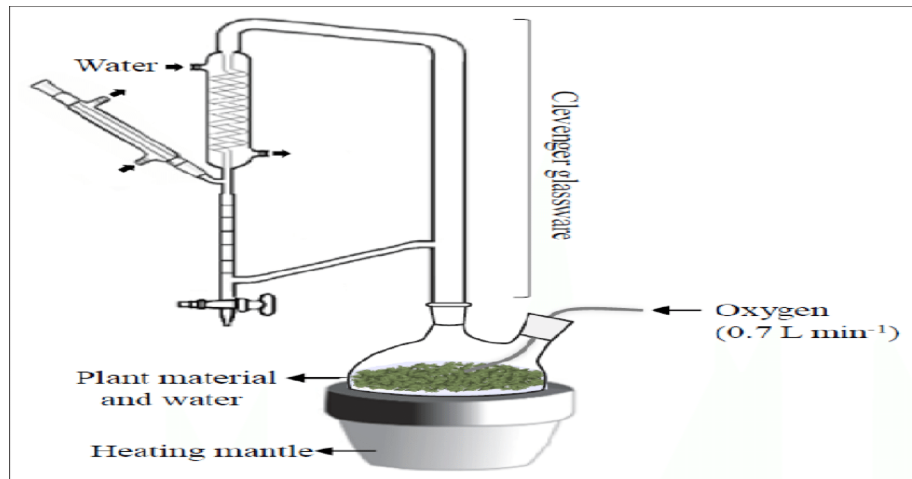


Figure3 : extraction de l'huile par hydrodistillation

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter

1.6.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (M.C.Martini, 1999).

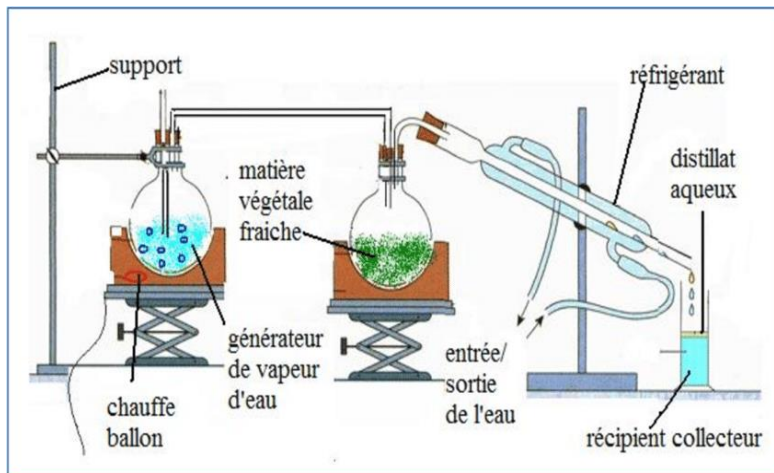


Figure 4 : extraction de l'huile par entraînement à la vapeur d'eau.

1.6.1.3. Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. 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 (**Z.Wang, 2006**).

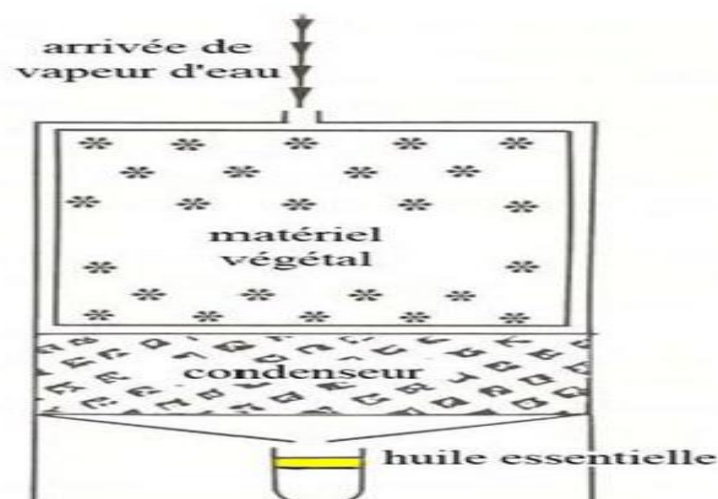


Figure 5 : extraction de l'huile par hydrodiffusion

1.6.1.4. Extraction par du CO₂ supercritique

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant.

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles

. Cette technique est utilisable pour les essences difficilement distillables (**N.S Kim et al, 2002**).

1.6.1.5. Extraction assistée par micro-onde

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement.

L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extrait (**R.Hubert, 1992**).

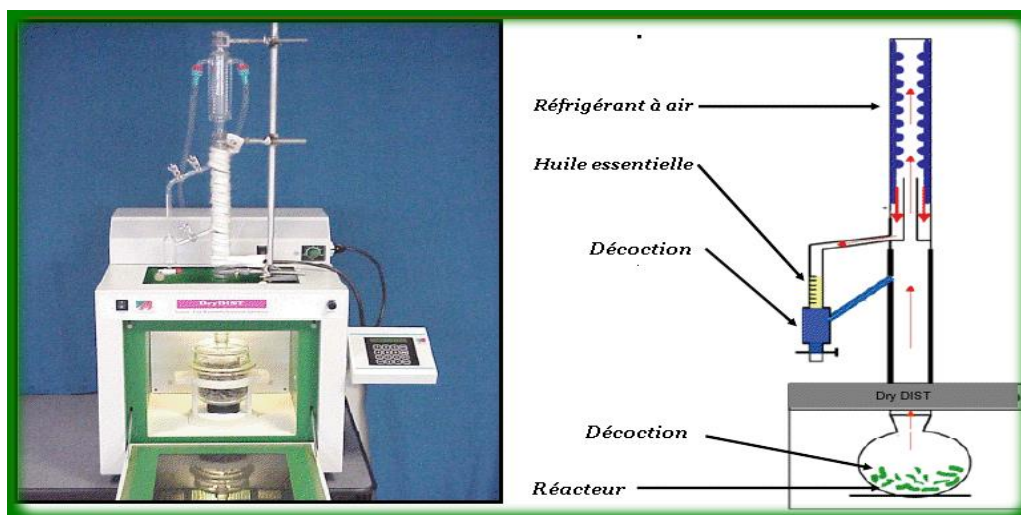


Figure 6 : extraction par micro-onde.

1.6.1.6. Extraction par solvants volatils

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique.

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. 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. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson.

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances **(R.Gerhard, 1993)**.

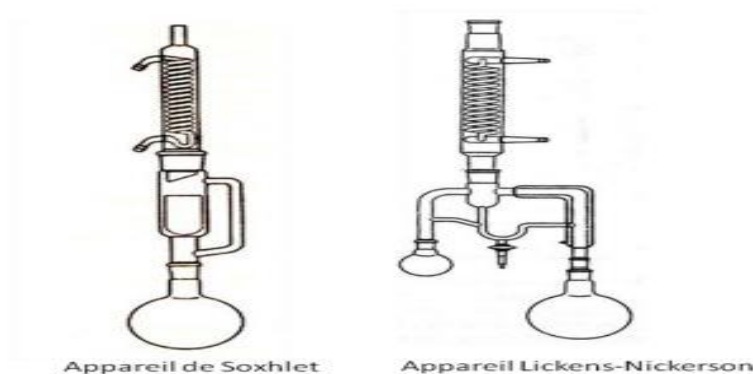


Figure7 : L'extraction par solvants volatils.

I.6.2. Méthodes d'analyses

I.6.2.1. Le couplage chromatographie - spectrométrie de masse

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) en mode impact électronique (SM-IE) est la technique la plus utilisée pour l'analyse des huiles essentielles à cause de leur faible volatilité.

Il permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation.

Les techniques de couplage sont plébiscitées car ne nécessitant pas d'étapes de purification préalable des composés, elles représentent un gain de temps important surtout lorsque les quantités d'échantillons disponibles sont faibles.

Il existe de nombreux exemples de l'application de cette technique pour l'analyse de mélanges de produits naturels complexes et, en particulier, de mélanges de flavonoïdes (**F. Cuyckens, 2004**).

Le couplage LC-MS fournit, en fonction du type de technique de masse employée, divers éléments relatifs à la masse moléculaire de chaque constituant d'un mélange mais également des informations découlant du comportement en LC (temps de rétention en fonction du type de colonne), de l'absorbance UV et permet des comparaisons avec des standards ou des données préalablement acquises. C'est la technique de choix pour caractériser rapidement sans séparation chimique les éléments d'un mélange de composés naturels pour savoir s'ils sont, ou non, déjà connus et s'ils méritent les ressources requises pour leur isolement et leur détermination structurale (étape connue sous le terme anglais de dereplication).

Dans la source d'ionisation les molécules sont bombardées à l'aide d'électrons, conduisant ainsi à la formation des ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Il existe plusieurs analyseurs de masse mais les plus utilisés pour l'analyse des huiles essentielles sont le "quadripôle" et le "piège à ion" ou "ion trap". Le quadripôle ainsi que l'"ion trap" utilisent la stabilité des trajectoires pour séparer les ions selon le rapport masse sur charge (m/z) (F. Cuyckens, 2004)

Les spectres de masse ainsi obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles, commerciales (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, Wiley Registry of Mass Spectral Data, contenant plusieurs milliers de spectres, König-Joulain, intitulée « Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils » contenant plus de 1200 composés) ou construite au laboratoire.

Si, dans la grande majorité des cas le couplage CPG/SM fonctionne correctement, certains auteurs ont souligné les difficultés rencontrées lors de l'identification de molécules possédant des spectres de masse insuffisamment différenciés, voire superposables, comme pour le 1-endo-bourbonanol (sesquiterpène tricyclique) et le 1,6-germacradien-5-ol (monocyclique).

C'est donc le cas de certains sesquiterpènes et diterpènes, puisque ces molécules sont construites à partir des mêmes entités isopréniques (R.Colombo, 2006).

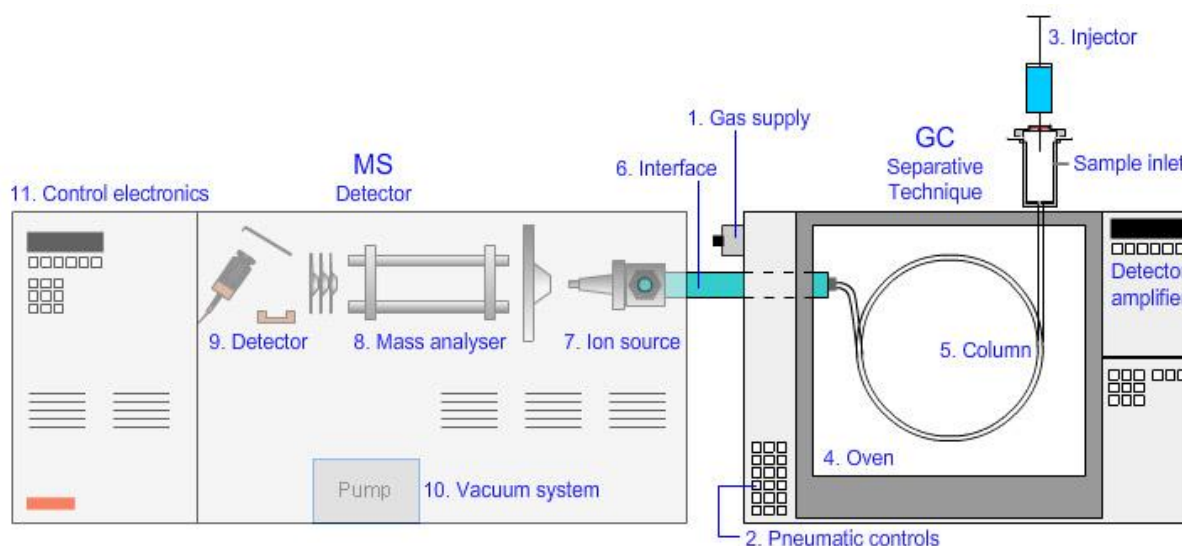


Figure 8 : Le couplage chromatographie - spectrométrie de masse

1.6.2.2. Spectroscopie Infra-Rouge (IR)

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed Infra Red spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet, via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau. Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise est enregistrée. Le domaine infrarouge entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} (2,5–25 μm) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée, les modes de vibration actifs en infrarouge peuvent être déterminés grâce à la théorie des groupes. La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par conséquent, à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau (L.Chebil, 2006).

1.6.2.3. La spectrophotométrie UV-Visible

1.6.2.3.1. Définition

La spectrophotométrie UV-visible est une technique analytique fondée sur l'étude du changement de l'intensité de la lumière traversant une solution colorée, dans un domaine d'application comprise entre 200 et 800 nm, en effet pour pouvoir déterminer les concentrations des substances absorbantes.

Le résultat correspond à des spectres d'émission ou d'absorption, qui ressemble à des courbes de variation d'absorption en fonction de la longueur d'ondes, il est obtenu par un spectrophotomètre à une lumière sensiblement monochromatique, ou le chromophore est le site dont la structure de l'élément à étudier possède l'aptitude à absorber les photons UV ou visible. Il est caractérisé par la longueur d'onde la plus absorbée (λ_{max}), et l'aptitude la plus importante à absorber les photons à cette longueur d'onde (ξ_{max}) (Yahiaoui, 2012).

1.6.2.3.2. Principe de la spectrophotométrie UV-visible

Le spectrophotomètre est un appareil permettant de mesurer l'absorbance d'une solution, pour différentes longueurs d'ondes. Pour cela, il fait passer un rayon d'une longueur d'onde choisie

à travers une cuve contenant la solution à étudier (**figure I.16**). Les molécules de la solution absorbent plus ou moins le rayon lumineux, on définit alors l'absorbance pour cette longueur d'onde.

Les molécules qui présentent un spectre d'absorption UV-visible sont celles qui absorbent des photons dont l'énergie correspond à des longueurs d'onde se situant dans le domaine 190 nm – 800 nm. Lorsque des molécules absorbent des photons de l'UV-Visible, l'énergie des électrons de valence augmentent. Le phénomène d'absorption dans le domaine UV-Visible est lié aux variations de l'énergie moléculaire de transitions électroniques (**Benaissa , 2011**)

I.7. Les Activités biologiques

I.7.1. L'activité antioxydante

I.7.1.1. Radicaux libres et stress oxydatif

Plusieurs réactions biologiques, requises pour le fonctionnement normal de l'organisme, se déroulent dans les cellules et les tissus du corps. Ces réactions provoquent souvent la génération d'espèces avec des électrons non appariés appelés radicaux libres. Ces radicaux libres comprennent les espèces réactives oxygénées (ERO), les espèces réactives d'azote (ERN) et les espèces réactives de soufre (ERS).

Le corps a généralement des mécanismes pour équilibrer la production des ROS et la neutralisation au moyen de son pool antioxydant intrinsèque, mais la plupart du temps, elle peut s'affaiblir en raison de la production excessive des ROS, induisant le stress oxydatif.

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses antioxydante.

Autrement dit, Si la capacité de l'organisme à neutraliser les radicaux libres s'excède, ils peuvent conduire à l'apparition de plusieurs maladies, dont les maladies cardiovasculaires, certains types de cancers et d'autres maladies associées au vieillissement.

I.7.1.2. Antioxydants

Les antioxydants (AO) sont des composés qui peuvent inhiber ou retarder l'oxydation des lipides et d'autres biomolécules, en bloquant l'initiation ou la propagation des réactions en chaîne oxydante.

Ces réactions peuvent causer des dommages fonctionnels au corps humain, comme le cancer ou les maladies cardiovasculaires. Les antioxydants peuvent empêcher ce processus en raison de leurs propriétés redox comme le comportement réducteur, le don d'hydrogène.

Ils peuvent être classés en deux groupes selon le niveau de leur action : les antioxydants primaires et les antioxydants secondaires.

1.7.1.3. Mode d'action d'un antioxydant

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés de phénols.

En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de position appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire.

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras .tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur. **(Butz Marney; 2002)**

1.7.2. L'activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est connue de façon empirique depuis l'Antiquité. Elle est à mettre en relation avec sa composition chimique, et les possibles effets synergétiques. Les huiles essentielles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire.

Cependant, en raison du souci majeur des consommateurs de denrées sans additifs chimiques, la recherche d'additifs naturels, notamment d'origine végétale, s'est développée particulièrement ces dernières années. Par conséquent, l'utilisation de produits naturels possédant une activité antibactérienne s'avère nécessaire.

La détermination du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles fait appel à plusieurs techniques expérimentales. Cependant, des difficultés pratiques liées à l'insolubilité des constituants des huiles essentielles dans l'eau, de leur volatilité, de la nécessité de les tester à de faibles concentrations et des problèmes de standardisation des méthodes, peuvent avoir une influence sur les résultats.

1.7.2.1. Méthode de diffusion ou des aromatoigrammes

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles est réalisée d'abord par la méthode de diffusion sur disques, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries. Différents types d'aromatoigrammes, en milieu solide, liquide, sont exploitables. Cependant, en pratique quotidienne, c'est le milieu solide qui est le plus simple et le plus facilement reproductible.

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. Cet examen est équivalent à un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences préalablement sélectionnées et reconnues. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier (de cellulose) de 6 mm sur lequel on dispose une quantité donnée d'huile essentielle (10 μ l). Après ensemencement et incubation, on mesure le diamètre des zones d'inhibition. **(Bondi et al, 1993).**

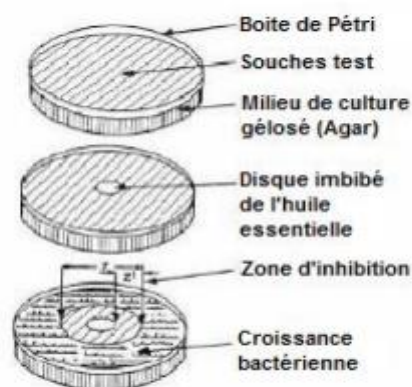


Figure 9 : Méthode des aromatoigrammes

1.7.2.2. Technique en milieu liquide (méthode de dilution)

La technique de dilution en milieu liquide est utilisée aussi pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices. Une gamme de dilution de l'huile essentielle est additionnée à une série de tubes contenant un milieu de culture liquide, de composition convenable. Après inoculation des espèces microbiennes étudiées et incubation dans les mêmes conditions, la concentration minimale inhibitrice est indiquée par le tube de la dilution à partir de laquelle aucune croissance microbienne n'est constatée. C'est-à-dire, qu'aucune turbidité ou trouble n'est observé dans le milieu (**kechkar, 2008**).

1.7.2.3. Technique de diffusion en puits

Une autre technique de diffusion sans disque, où un puits (d'environ 6mm) est creusé dans la gélose dans lequel sera coulée une quantité d'huile essentielle brute ou diluée. Après incubation, des zones d'inhibition de croissance bactérienne sont obtenues (pour les huiles actives) et mesurées (**Girault et Bougeon, 1971**)

CHAPITRE II

Matériels et méthodes

II.1 Matériels et méthodes

II.1.1 Récolte et identification des plantes

Les plantes étudiées dans ce travail sont : *L.stoechas* et *T.nudatum* La première a été récolté de la région Tamrijte (wilaya de Bejaïa) en mois de mars 2019 par contre la deuxième a été récolté du Sahara algérien de la région de «chat » (Wilaya d’Ouargla).



Figure10 : la région de la plante *T.nudatum*

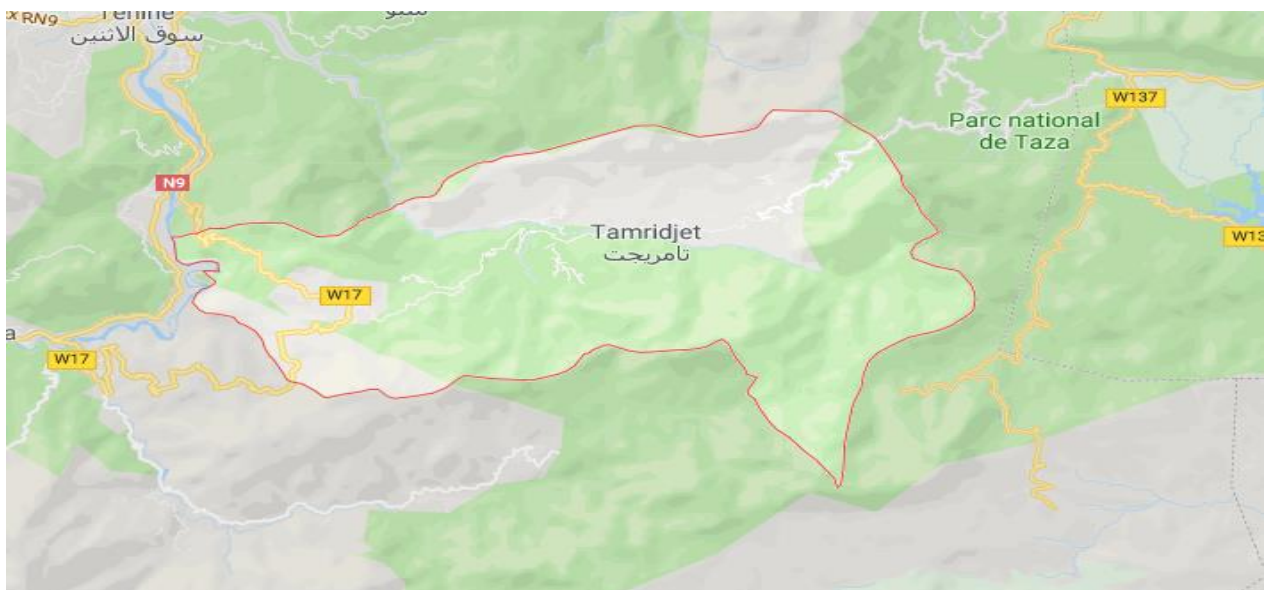


Figure 11 : la région de *L.stoechas*

II.1.2 Extraction de l'huile essentielle

L'obtention des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. La distillation a été effectuée pour 1 kg pour les deux plantes pendant 2 heures via un montage composé d'un ballon de deux litres (60 cm de longueur) relié à un réfrigérant. L'opération a été refaite 30 fois.

L'huile essentielle a été conservée dans des tubes en verre fumé à l'abri de la lumière et à une température de 16c° afin de préserver au maximum l'intégrité de ces molécules.

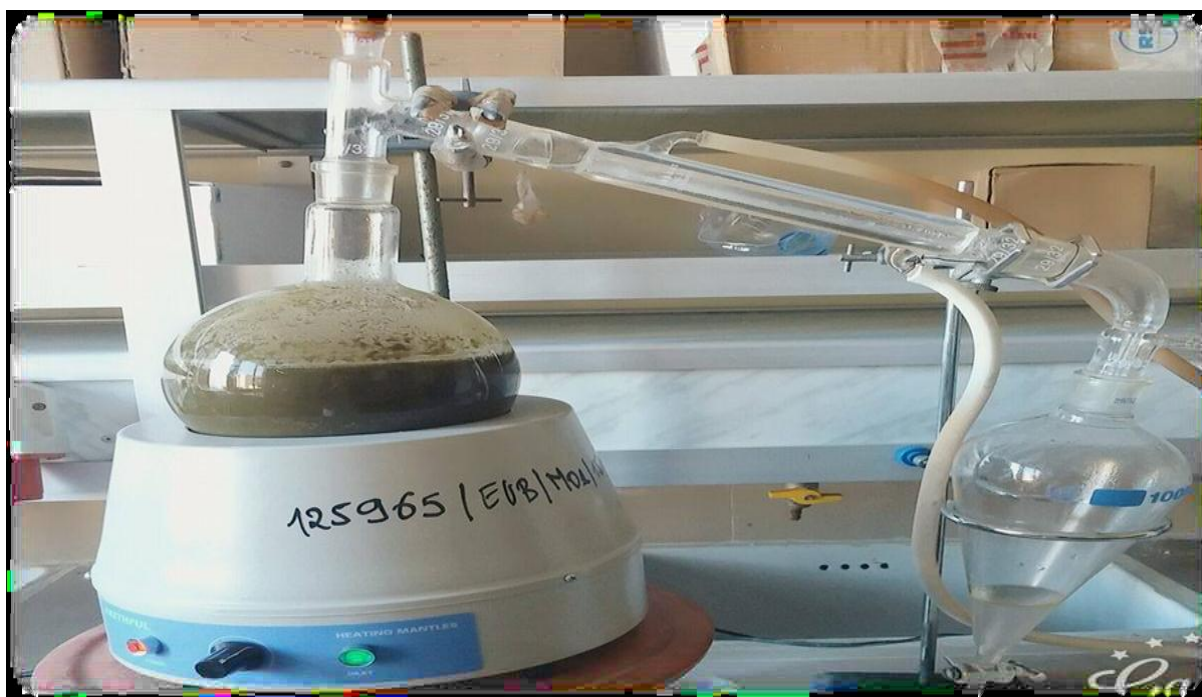


Figure 12 : l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

II.1.3 Le rendement

Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé selon la relation mentionnée ci-dessous :

$$R = P_a / P_b \cdot 100 \dots\dots\dots(1)$$

Où :

R : rendement en huile essentielle (%).

P_a : poids de l'huile essentielle extraite en g.

P_b : poids de la plante en g.

II.1.4 Extraction d'hydrolat

Les premiers litres d'eau obtenus de l'hydrodistillation ont été traités par l'éther diéthylique.

Chaque 1 litre d'hydrolat est traité par 200 ml d'éther diéthylique suivi d'une évaporation et un séchage de l'extrait d'hydrolat obtenu par du Na₂SO₄.

II.1.5 Tests physico-chimiques

Les HEs sont caractérisées par leurs propriétés physiques (densité relative, indice de réfraction) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide).

II.1.5.1 Densité

La masse des huiles essentielles a été déterminée en utilisant une balance électronique avec une précision de ±0.1 g. Le volume a été déterminé via un cylindre gradué.

La masse volumique est le rapport de la masse par le volume ; et étant donné que la masse volumique de l'eau est approximativement égale à 1 d'où la densité est égale à la masse volumique.

$$d_{\text{Huile}} = \rho_{\text{Huile}}$$

II.1.5.2 Indice de réfraction

La mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre. Après nettoyage de l'appareil, on place 2 ou 3 gouttes d'huile essentielle au centre du prisme ; la lecture du résultat se fait comme suit :

*En fixant l'œil sur l'oculaire, on fait tourner les boutons du réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule, en ce moment on note la valeur indiquée.

II.1.5.3 Indice d'acide

Du fait que les huiles essentielles contiennent des acides gras donc l'indice d'acide sera un simple titrage par KOH.

*Procédure :

1g d'huile essentielle est introduit dans un erlenmeyer de 25ml ; on ajoute 5ml d'éthanol absolue à 99,8% et 3 gouttes d'indicateur coloré : Phénolphtaléine à 0,2%. Puis on neutralise la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium (0,1 N). La fin de la neutralisation se traduit par un changement de couleur, cependant on note le volume de KOH consommé avec exactitude. L'indice d'acide sera calculé alors suivant la relation suivante :

$$I_a = (5,61 \cdot V_{\text{KOH}}) / m_h$$

Où :

I_a : Indice d'acide

V_{KOH} : Volume d'hydroxyde de potassium en (ml).

m_h : Masse d'huile essentielle en gramme.

II.1.5.4 mesure du Ph

C'est tremper le bout de papier du ph près le changement de la couleur du papier on la compare avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH.

II.1.6 Tests biologiques

II.1.6.1 Activité antioxydante

II.1.6.1.1 Effet scavenger du radical DPPH

Le pouvoir réducteur des radicaux libres DPPH des huiles essentielles des plantes étudiées est effectué selon la méthode rapportée par (Wu et Ng, 2008) avec une légère modification.

- **Mode opératoire**

- A- Préparation de la solution DPPH**

La solution de DPPH 0.3 mM a été préparée par solubilisation de 3 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol, puis conservé à l'abri de la lumière dans un flacon opaque pour empêcher sa dégradation (Wu et Ng, 2008).

Une solution méthanolique de DPPH à 0.3 mM est mélangée avec différentes concentrations croissantes de l'HE des deux plantes. Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante, les absorbances sont ensuite mesurées à 517 nm.

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif ; et le méthanol comme contrôle négatif pour la préparation des différentes dilutions des HEs.

B- Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé comme suit :

$$\text{pourcentage d' inhibition \%} = \frac{Abs_c - Abs_T}{Abs_c} \times 100$$

Où :

Abs_T : Absorbance de test.

Abs_C : Absorbance de contrôle.

Remarque : Le contrôle négatif contient le méthanol à la place d'HE.

C- Courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage est très importante dans le dosage des différentes solutions, ainsi que pour examiner la fiabilité des instruments de mesure. En effet, la fiabilité du spectrophotomètre utilisé a été vérifiée en traçant la courbe d'étalonnage se traduisant par le traçage de l'absorbance de la solution éthanolique du DPPH mesurée à 517nm en fonction des différentes concentrations (0.015, 0.01, 0.0095, 0.009) M pour les deux plantes.

La linéarité de la courbe d'étalonnage ($y=ax$).

D- Estimation d'IC50

La grandeur IC50 est défini comme étant la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH•, nommé aussi EC50 (Concentration équivalente à 50% de DPPH réduit). Les IC50 sont déterminées graphiquement par régressions linéaires des graphes tracés (taux d'inhibition en fonction des différentes concentrations des fractions testées).

II.1.6.2 Effet antibactérien

II.1.6.2.1 Souches Bactériennes

Le pouvoir antibactérien de LUE des deux plantes a été testé sur trois souches :

- 1- Staphylococcus aureus.
- 2- Pseudomonas aeruginosa.
- 3- Escherichia coli

•Définition

A- Staphylococcus aureus

Faisant partie de la famille des micrococcaceae, ce sont des germe à Gram +, non sporulés, immobiles, de 0.5 à 2.5 pm de diamètre (moyenne : 0,8 à 1 itm). Se divisant en plusieurs plans en formant des amas irréguliers , ils sont habituellement immobiles. Ils sont catalase +, la majorité des souches sont coagulase + leur paroi est principalement constituée de peptidoglycane dans lequel se trouve l'acide aminé : L-lysine. Ce sont des bactéries aéroanaérobies facultatives (**Delarras, 2007**).

B- Pseudomonas aeruginos

Les souches de cette espèce sont constituées de bacilles de 0,5 à 0,8 uni de diamètre sur 1,5 à 3,0 uni de longueur, se présentant de manière isolée ou groupée par deux ou en courtes chaînes, mobiles grâce à une ciliature monotriche (quelques rares cellules portent cependant plusieurs flagelles polaires). P. aeruginosa ou bacille pyocyanique exprime un pigment vertnommé pyocyanine (**Euzeby, 2008**).

C-Escherichia coli

Escherichia coli, également appelée colibacille et abrégée en E. coli, est une bactérie intestinale (Gram négatif) des mammifères, très commune chez l'être humain. En effet, elle compose environ 80 % de notre flore intestinale aérobie. Découverte en 1885 par Theodor Escherich, dans des selles de chèvres, c'est un coliforme fécal généralement

commensal. Cependant, certaines souches d'E. coli peuvent être pathogènes, entraînant alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites, ou sepsis.

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude, nous ont été fournies par le laboratoire d'Alamal- Ouargla.

II.1.6.2.2 Détermination de l'activité antibactérienne par la technique de contact direct (Méthode de diffusion)

La technique utilisée est le test par la méthode de Vincent (Aromatogramme) qui permet d'étudier d'une manière fiable et reproductible la sensibilité et la résistance des germes aux huiles essentielles (Haddouchi et Benmansour, 2008).

La mise en évidence de la sensibilité et de la résistance des agents microbiens consiste à les mettre sur un milieu de culture solide (dans notre cas milieu Mueller-Hinton) au contact d'huiles essentielles, dans le but d'apprécier leur effet antibactérien.

Placés dans une étuve à 37°C, dans des conditions optimales de culture, les germes pathogènes se développent rapidement sur le milieu nutritif. Sur ces colonies microbiennes, plusieurs séries (5 à 8 par boîte) de petits disques de papier filtre imprégnés d'huiles essentielles à tester sont ensuite disposées. Après un temps de latence à 37.5°C le diamètre du halo d'inhibition entourant les disques est alors mesuré. Chaque halo, une zone claire, montre la destruction des germes pathogènes et donne une indication précise de l'activité antibactérienne des huiles essentielles utilisées.

II.1.6.2.3 Préparation des dilutions des HEs

Les huiles essentielles sont diluées dans le Diméthyle Sulfoxide connu communément sous le nom du TWEEN 80 dont la formule chimique est le C₂ H₆ OS. Pour cela, 0.1ml d'huile sont dilués dans 0.9ml de TWEEN 80 la solution obtenue est dite solution mère, d'abord 0.1 a été prise de la solution mère et dilué par DMSO jusqu'à 1 ml, cette dernière est la première solution diluée. Ensuite 0.2 ml a été prise de la première solution et cette dernière dite solution deuxième. Cette opération a été continuée au point où on a arrivé à la cinquième solution.

II.1.6.2.4 Préparation de l'inoculum et des suspensions bactériennes

En premier on a le remplissage des boîtes pétries avec le milieu de culture gélosé (Mueller-Hinton) puis ces boîtes avec les souches ont été incubées pendant 18h à une température de 37°C.

II.1.6.2.5 Ensemencement et incubation

En papier filtre stérilisé, imprégnés d'huiles essentielles à différentes concentrations sont déposés à la surface du milieu de culture gélosé (Mueller-Hinton) ensemencés avec la technique d'écouvillonnage par les souches bactériennes. L'incubation est effectuée à 37°C pendant 24h.

Par la suite, l'activité antibactérienne est mise en évidence par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques.

CHAPITRE III

Résultats et discussions

III.1 Résultats et discussion

III.1.1 Rendement en HE

L'extraction par hydro-distillation (Clevenger) des deux plantes étudiées fournit deux huiles essentielles avec une coloration jaune pour *L.Stoechas* par contre pour *T.nudatum*, elle est transparente ayant toutes les deux une forte odeur.

Le rendement en HE des deux plantes est exprimé en pourcentage :

• *L. Stoechas*

$$R = \frac{1.793}{360.36} * 100 = 0.497\%$$

• *T.nudatum*

$$R = \frac{0.3}{496.25} * 100 = 0.0604\%$$

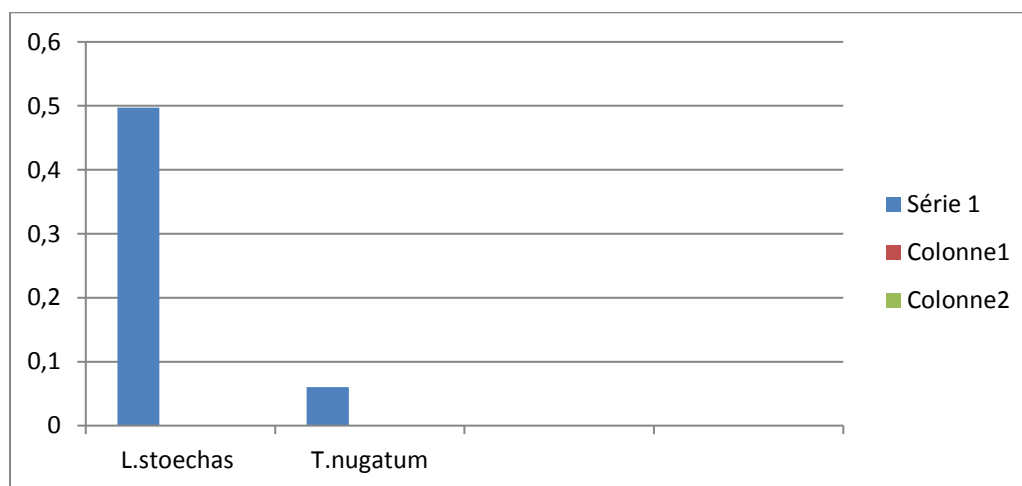


Figure13 : diagramme du rendement

Tableau2 : les valeurs de rendement

	Rendement :
L.stoechas	0.497
T.nudatum	0.0604

Le rendement en HE extraite est calculé selon la relation (1).

D'après les résultats obtenus, on remarque que le rendement en HE de *L. Stoeshas* est supérieur par rapport à celui du *T.nudatum*.

En comparant séparément les rendements en HES obtenus au cours de cette étude, avec ceux rapportés dans la littérature ; les constats suivants ont été révélés :

- Le rendement en HE pour *L. Stoeshas* obtenu dans cette étude, est un peu inférieur à celui rapporté par Tahar Dob et al. (Dob *et al*, 2005) en 2005 pour la même espèce, récoltée de la région nord-ouest de l'Algérie (Cherchel), celui-ci est de 0.79%. Par contre notre rendement est presque 10 fois plus supérieur que celui rapporté par Sebai *et al*. (Sebai *et al*, 2011) qui est de 0.05%.

- Le faible rendement de notre plante c peut être cause de l'hydro-distillation car l'eau influence sur quelque composé comme terpinèn-4-ol, l' α - terpinéol et le cinéol qui sont peu soluble dans l'eau.

En ce qui concerne l'HE extraite du *T.nudatum*, aucune donnée bibliographique n'a été retrouvée afin de comparer nos résultats.

III.1.2 Hydrolat

On a pu extraire une très bonne quantité d'huile à partir de l'hydrolat des deux plantes.

La même relation (1) a été utilisée pour calculer le rendement en hydrolat.

• *L.stoechas*

$$R = \frac{4.721}{360.36} * 100 = 1.310\%$$

• *T.nudatum*

$$R = \frac{9.5823}{496.25} * 100 = 1.93042\%$$

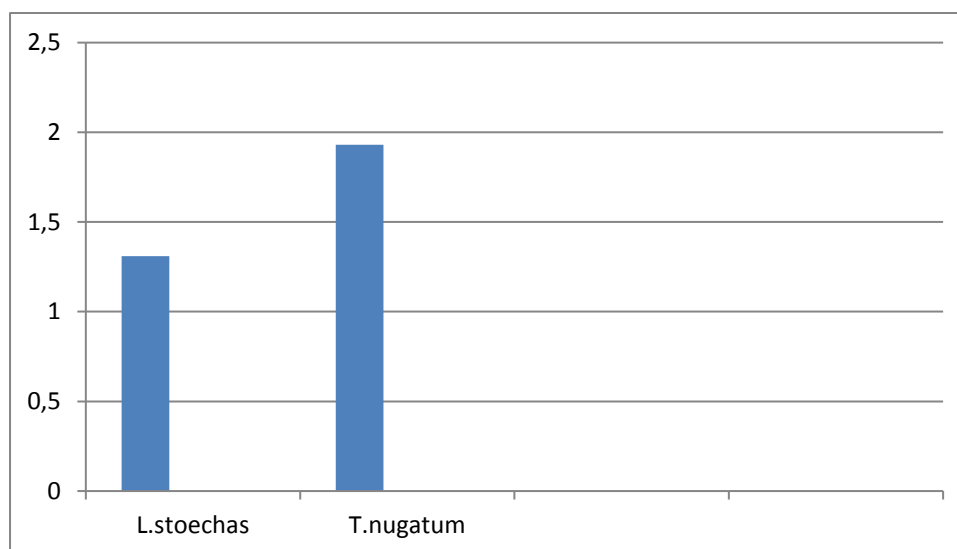


Figure 14 : diagramme de rendement de l'huile d'hydrolat

Tableau3 : les valeurs de rendement de l'huile d'hydrolat

Plante	Rendement
L.stoechas	1.310
T.nudatum	1.93042

- A part la comparaison entre les deux plantes vis-à-vis le rendement en extrait d'hydrolat, on ne peut faire aucune autre comparaison avec la littérature car aucune donnée n'est disponible à propos des hydrolats des deux plantes.

III.1.3 Tests physico-chimiques

III.1.3.1 Indice d'acide

L'indice d'acide indique le comportement et la quantité des acides libres présents dans nos huiles essentielles. Il peut aussi nous renseigner sur la susceptibilité des huiles à subir des altérations, notamment l'oxydation. Donc il indique d'une part le degré de conservation des huiles extraites et d'autre part leur qualité.

En utilisant la relation (yy), l'indice d'acide est calculé.

- T. nudatum : (Extrait d'hydrolat)

$$I_a = \frac{5.61 \cdot 2}{0.15} = 74.8$$

- L. Stoechas : (l'huile essentielle)

$$I_a = \frac{5.61 \cdot 0.3}{0.122} = 13.79$$

- D'après les résultats obtenus, l'HE du L. Stoeshas est inférieure à celle de Traganum nutadum.

- La valeur élevée

- la faible valeur d'indice d'acide de lavandulastoechas nous laisse penser qu'elle ne contient pas beaucoup d'acides libres et ne sont pas altérées, donc un indice d'acide faible indique que les huiles essentielles sont stables et ne provoquent pas d'oxydation car l'huile, en s'oxydant, se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acide.

III.1.3.2 Indice de réfraction

L'indice de réfraction est un paramètre d'identification qualitative et une manière de vérifier le degré de pureté des huiles essentielles (Hellal, 2011). Chaque substance a son indice de réfraction spécifique.

Nous avons utilisé un réfractomètre pour savoir l'indice de réfraction, les résultats sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : les valeurs d'indice de réfraction

Plante	Indice de réfraction
Lavandulastoechas	1.3447
Traganum nutadum	1.3724

On note que l'huile essentielle de lavandulastoechas révèle une valeur d'indice de réfraction plus faible que celle de T. nudatum.

On veut comparer ces résultats avec d'autres travaux mais aucun de ces travaux n'a cité l'indice de réfraction.

III.1.3.3 Densité relative

La densité relative constitue un critère très important pour évaluer la qualité d'une huile essentielle dans différents domaines (cosmétique, pharmacie, agroalimentaire, etc...). Elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité des produits ainsi que les tentatives de fraudes et d'altération.

Les valeurs de densité pour les deux plantes étudiées sont les suivant :

$$d_{L. Stoecha} = 0.705$$

$$d_{T. nudatum} = 0.8353$$

III.1.3.4 mesure de Ph

Le pH joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et biochimiques et peut influencer les propriétés stabilisatrices d'une huile essentielle.

L'huile essentielle de T.nudatum est acide $pH < 7$, cette valeur peu amener à un bon caractère stabilisateur contre les microorganismes ce qui permettra ce l'huile à jouer le rôle d'un conservateur alimentaire.

Par contre l'huile de L.stoechas donne une valeur de $pH > 7$ qui montre que ce l'huile est basique



Figure15 : la mesure du ph

Tableau5: les valeurs de ph

Plante	Ph
L.stoechas	5
T.nudatum	8

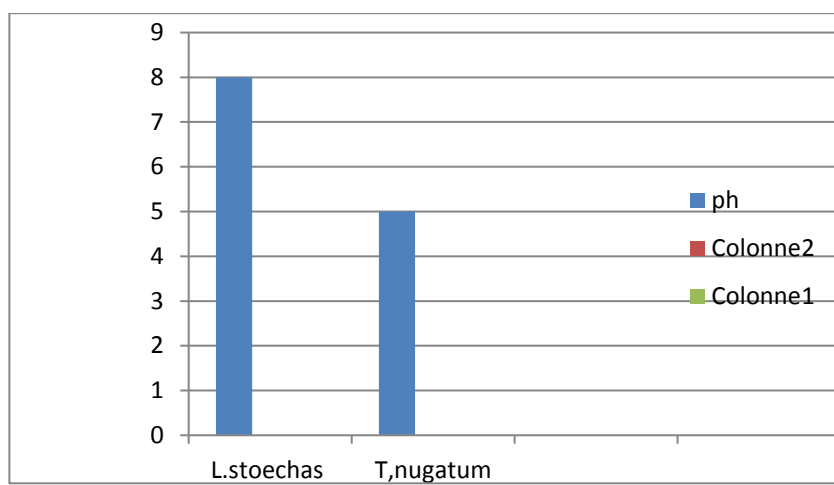


Figure 16 : diagramme de ph

III.1.4 Tests biologiques

III.1.4.1 Activité antioxydante

- **Activité scavenger du radical DPPH**

Le pouvoir antioxydant des HEs étudiées a été testé par la méthode qui utilise le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) comme un radical libre relativement stable (Wollinger et al, 2016). Dans ce test, le DPPH de couleur violette a été réduit en un composé jaune, le diphénylpicrylhydrazine dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans le milieu (Mechergui et al., 2016).(2)

Le DPPH est un radical libre nous permettant de déterminer le potentiel de piégeage de nos huiles essentielles grâce à sa sensibilité à détecter les composants actifs à des basses concentrations (Yi et al, 2008). L'activité antiradicalaire a été estimée spectrophotométriquement en suivant la réduction du DPPH à 517nm (Maisuthiaskul, 2007).

(3)

Les figures expriment les courbes de piégeage du DPPH de nos huiles essentielles des deux plates, traduite par le taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations.

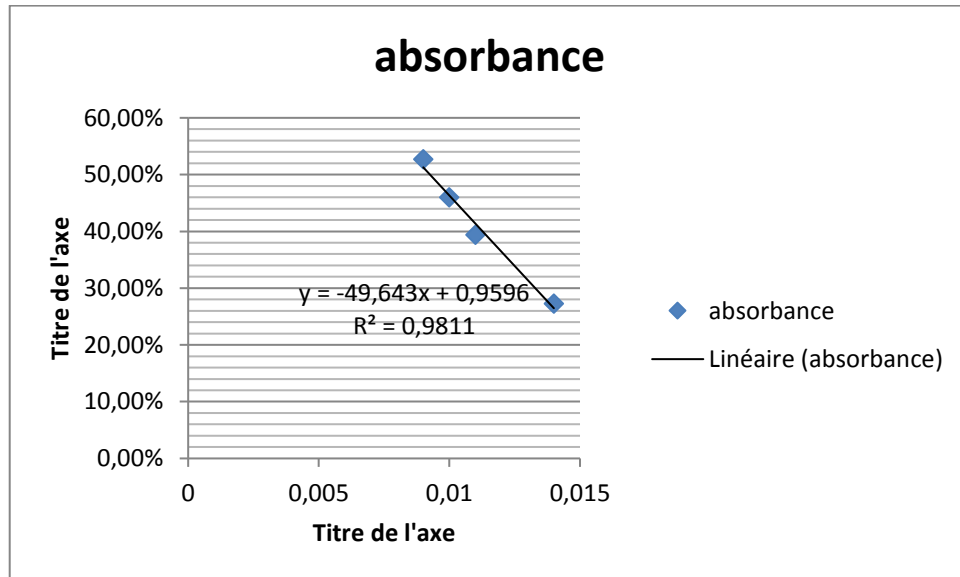


Figure17 : La courbe anti-radicalaire du lavandula stoechas.

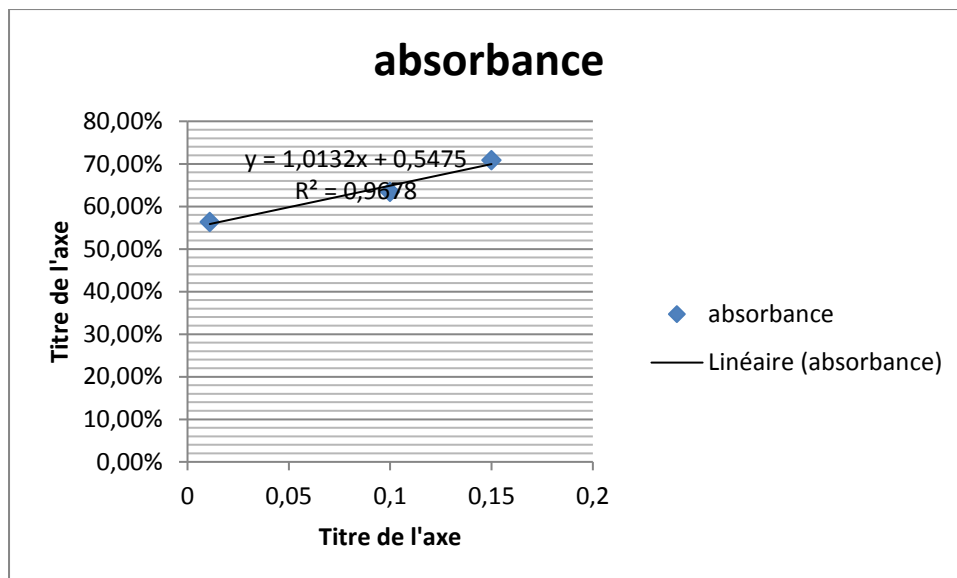


Figure18 : La courbe anti-radicalaire du T. nudatum.

On a aussi une troisième courbe qui est celle de contrôle positif, celle-ci elle va nous aider a savoir l'efficacité anti-oxydante des deux l'huiles et ça par calculer la valeur du IC₅₀ des huile et la comparais avec le IC₅₀ d'acide ascorbique .si elles sont inferieur de celle de l'ascorbique

on dit que l'activité antioxydante est forte si elles sont supérieur on constate que l'activité est faible par rapport au celle de l'acide ascorbique.

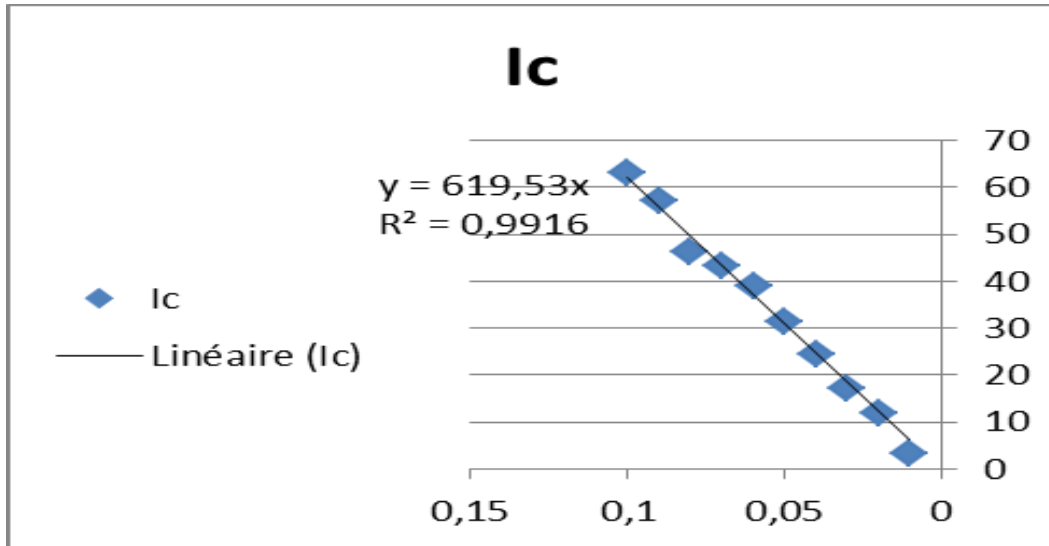


Figure19 : Activité anti-radicalaire d'acide ascorbique.

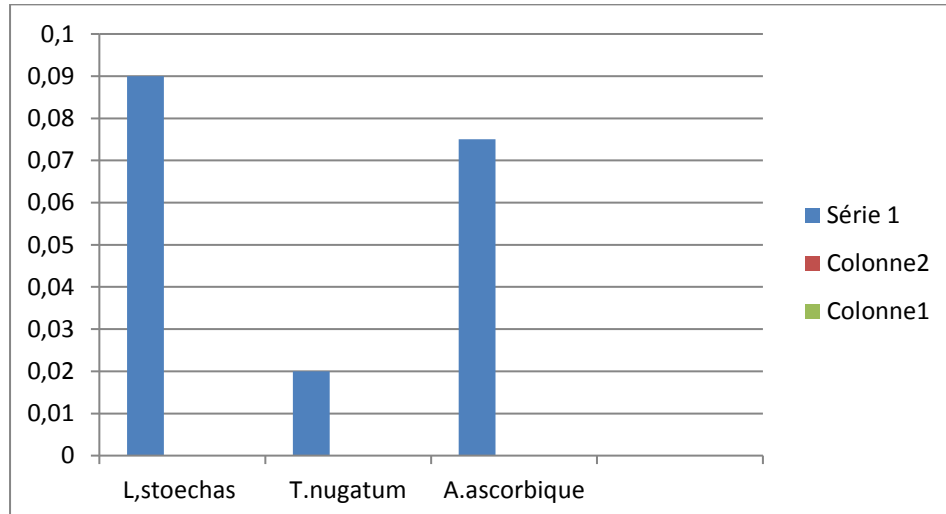


Figure20 : diagramme des valeurs de IC50

Tableau 6 : les valeurs de IC50

	IC ₅₀
Lavandulastoeschas	0.09mg/l
Traganumnudatum	0.02 mg/ml
Acide ascorbique	0.04 mg/ml

D'après les valeurs du IC50 on remarque que L.stoechas a une valeur supérieure à celle d'acide ascorbique qu'importe la valeur 0.04 mg/ml qui reflète sa grande capacité antioxydante dans ce cas-là on a une très faible activité antioxydante pour l'extrait de L.stoechas. Par contre T.nudatum a une valeur inférieure à celle d'acide ascorbique donc on a une très bonne capacité antioxydante pour l'extrait de cette plante.

D'autre part une étude faite par C.Messaoud confirme notre résultat sur lavandula stoechas de Tunisie (le sud de Tunisie) qui montre que la valeur d'IC50 a été 2.32mg/ml donc l'activité antioxydante a été faible aussi dans ce travail.

Par contre une autre étude réalisée par Hichem Sebai sur la même plante mais du nord de Tunisie illustre un bon effet antioxydant avec une valeur d'IC₅₀= 0.02 mg/ml.

On remarque qu'on a une différence au niveau des résultats qui est expliquée par la grande variabilité des huiles essentielles en termes de qualité. En effet, la relation entre l'activité antioxydante et le profil chimique des huiles essentielles est bien reconnue. D'ailleurs l'activité antioxydante dépend également de la structure et la nature des antioxydants.

III.1.4.2 Activité antibactérienne

Le test antibactérien permet de juger qualitativement l'activité antibactérienne de nos huiles essentielles à partir de la mesure des diamètres de zones d'inhibition apparues autour des disques qui contiennent les différentes huiles essentielles.

Malheureusement dans notre cas l'activité antibactérienne a été négative mais par rapport à la souche choisie, donc on a laissé le travail ouvert pour d'autres souches bactériennes.



Figure 21 : le résultat de l'activité antibactérienne

CONCLUSION GENERALE

Conclusion Générale

Les Hés extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Ayant de multiples propriétés, elles sont largement employées en aromathérapie (Art de se soigner par les HEs) et en parfumerie. Dans ce contexte s'est situé ce mémoire. L'objectif de ce travail était donc l'évaluation des HEs extraites des deux plantes algériennes : « *L. Stoechas* » et « *Traganum nudatum* », qui ont un intérêt médicale surtout en médecine traditionnelle.

Les HEs sont extraites par hydrodistillation qui est une méthode très simple et efficace. L'analyse quantitative a permis d'avoir le rendement des deux plantes, celle de *L.stoechas* était environ 0.5% par contre on a obtenu un très faible rendement pour *T.nudatum* qui était environ 0.06%.

en revanche on a traité l'hydrolat qui nous a donné une bonne quantité d'huiles par rapport à l'huile essentielle et qu'on a utilisé presque dans tous les analyses surtout pour *T.nudatum* à cause du rendement faible de l'huile essentielle.

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par méthodes de piégeage de radical libre DPPH les résultats ont montré que *L.stoechas* a une activité antioxydante très faible, or la plante saharienne *T.nudatum* a une très bonne activité antioxydante dans ce cas-là on ouvre la porte pour d'autres recherches pour l'utiliser dans plusieurs domaines tel que le domaine médical.

L'activité antibactérienne a été déterminée sur 3 souches bactériennes, selon la méthode de diffusion de disque des 3 souches étudiées ont donné un résultat négatif pour les deux plantes dans ce cas-là on va laisser le travail ouvert pour d'autres souches.

On a pu aussi déterminer les propriétés physico-chimiques tel que la densité l'indice de réfraction et l'indice d'acidité et mesure de pH lesquelles nous ont donné beaucoup d'informations sur ces deux huiles.

Enfin le but de ce travail c'est avoir des informations sur les huiles des deux plantes, et on a pu les obtenir.

Le rendement des deux plantes était un peu faible surtout pour *T.nudatum* mais malgré ça on a concentré sur l'huile d'hydrolat qui nous a aidé à faire ces analyses, et de là on ouvre une grande porte pour profiter le maximum de cette huile qui a presque le même caractère de l'huile essentielle.

Conclusion Générale

Donc, il serait intéressant également de réaliser des analyses plus poussées sur les huiles essentielles en utilisant d'autres techniques plus performantes tel que HPLC ou par couplage CPG-SAA, et ce dans le but d'identifier et de caractériser leurs dérivé

Références :

A :

-A.guribEl Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A., Khia, A., Guedira, A., Rahouti, M., et Chaouch, A. (2006).

Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9: 149–157.

-A.lhuillierJerribi, C., and Abderrebba, M. (2007). Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie. *J Soc Alger Chim*, 21(1) : 25–33.

B :

-Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils. *Rev. Food Chem. Toxicol*, 46: 446–475.

-Benaissa A., thèse doctorat « Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant synthétique et d'un tensioactif », Université Mentouri Constantine, 2011.

-BoumlikMessaili ; (1995), *Systématique des spermaphytes*, Botanique, office des publications universitaires, pp. 11 – 42.

C :

-chemat et Maisuthisakul P., Suttajit M., Pongsawatmanit R. Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chem* (2012). 100:1409-1418.

D :

-D.L. Pavia. G.M. Lampman. G.S. Kriz, *Introduction to organic laboratory techniques*, W.B. Saunders Co. Philadelphia, USA. 1976, 567.

-Duraffourd C. Lapraz J.C. et Chemti R. (1997). *la plante médicinale de la tradition à la science*. Ed. Crancher, Paris, 538p.

F :

-F. Cuyckens, M. Claeys; (2004), *Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids*, *Journal of Mass Spectrometry* 39 (4), 1-15.

-finarCliff S et Harerimana P.C. Extraction de l'huile essentielle complète de fleurs De canangeodorata de la plaine de l'Imbo : vers la vulgarisation d'une nouvelle filière de plantesindustrielles au Burundi.Revue de l'université de Burundi, Série Sciences Exactes.(2013) Vol: 28:1-17.

G :

-Gilani, A., Aziz, N., Khan, M., Shaheen, F., Jabeen, Q., Siddiqui, B., &Herzig,J. (2000). Ethnopharmacologicalevaluation of the anticonvulsant, sedative andantispasmodicactivities of Lavandulastoechas L. Journal of Ethnopharmacology,71(1), 161-167.

L:

-Lagunez carole Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matièresvégétales en réacteur chauffent par induction thermomagnétique directe. Thèse dedoctorat N 2360. Institut National polytechnique de Toulouse (2013), 64p.

- L. Chebil, thèse « acylation des flavonoïdes par les lipases de candida antarctica et de pseudomonascepacia: études cinétique, structurale et conformationnelle », institut national polytechnique de lorraine, 2006.

M :

-M. Bouheroum ; (2007), Etude phytochimique des plantes médicinalesalgériennes : Ranthériumadperssum et Ononisangustissima, Thèse de doctoratd'état à l'université de constantine.

-M. C. Martini, M. Seiller, Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales Paris. Lavoisier, 1999, 563.

-moreau , 2003. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèsede doctorat en pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy1 (France): 165.

-- M. Hurabielle; (1980), Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie), Tome 1 Paris.

N :

-N.S. Kim, D.S. Lee. J. Chrom. A. 2002, 982, 31.

-nagaretMoghaddam M., KhaleghiMiran S. N., Pirbalouti A. G., Mehdizadeh L., Ghaderi Y b.Variation in essential oil composition and antioxidantactivity of cumin (Cuminumcuminum L.) fruits during stages of maturity. IndustrialCrops and Products 70 (2008).

163–169.

Q :

-Quezel, P., Santa, S., & Schotter, O. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales-v. 1-2.

R :

-R. Amton Santoro, G.F., das Graças Cardoso, M., Guimarães, L.G.L., Salgado, A.P.S.P., Menna-Barreto, R.F.S., and Soares, M.J. (2007). Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitol. Res*, 100: 783–790.

-R. Colombo, F.M. Lancas, J.H. Yariwake; (2006), Determination of flavonoids in cultivated sugarcane leaves, bagasse, juice and in transgenic sugarcane by liquid chromatography-UV detection, *Journal of Chromatography A* 1103, 118-124.

-R. Gerhard, Press polytechnique et universitaire romandes, Diffusion, Tec et Doc, France, 1993, 291.

-R. Hubert, Epices et aromates, Tec et Doc – Lavoisier, APRIA., Paris, 1992.

-roulier Ruberto G., Baratta M.T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem* 69 (1990) 167–174.

S :

-SANAGO R., 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako (Mali): 53.

W :

-wegrzy Yi Z., Yu Y., Liang Y., and Zeng B. In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids. *LWT* (2008). 41, 597-603.

Y :

-Yahiaoui N., Mémoire de magister « Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxyapatite et charbon actif », Université Mouloud Mammerim Tizi Ouzou, 2012.

Z :

-Z. Wang, L. Li, T. Ding, X. Zhou, L. Wang, H. Zhang, L. Liu, Y. Li, Z. Liu, H. Wang, H. Zeng, H. He, *J. Chrom. A*, 2006, 1102.

-Z. Zerrouki; (1996), Contribution à l'inventaire des plantes spontanées et leur utilisation éventuelle en médecines traditionnelles par la population d'Ouargla, Mémoire d'ingénieur. INFS/AS Ouargla, p

Résumé

la variété en molécules biochimiques donne une grande importance pour les huiles essentielles surtout dans le domaine thérapeutique, l'objectif de ce travail est de démontrer l'efficacité d'une l'huile essentielle fraîchement extraite d'une plante algérienne appartenant à la famille des *Lamiaceae* et une autre du Sud Algérien . L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée via Clevenger. L'analyse physico-chimique telle que l'indice d'acide, l'indice de refraction et la densité ont été effectués au niveau de notre laboratoire. L'activité biologique a été effectuée. L'effet antioxydant montre une faible activité et l'activité antibactérienne a donné un résultat négatif par rapport aux souches utilisées.

Mots clés: les huiles essentielles, thérapeutique, extraction, Clevenger, analyse physico-chimique, activité biologique.

Summary

the variety in biochemical molecules gives a great importance for the essential oils especially in the therapeutic field, the aim of this work is to demonstrate the effectiveness of an essential oil freshly extracted from an Algerian plant belong to the family of *Lamiaceae* and another one of southern Algeria. The extraction of the essential oil was done via Clevenger. Physico-chemical analysis such as acid number, refractive index and density were carried out at the faculty laboratory level. The antioxidant activity has show a weak effect. However, the antibacterial activity gave a negative result compared to the strains used.

keywords: essential oils, therapeutic, extraction, Clevenger, physico-chemical analysis, biological activity.

ملخص

يعطي التنوع في الجزيئات الكيميائية الحيوية أهمية كبيرة للزيوت الأساسية و خاصة في المجال العلاجي، والهدف من هذا العمل هو إثبات فعالية الزيوت الأساسية المستخرجة حديثاً من نبات ماخوذ من شمال الجزائر و آخر من من جنوبها حيث تم استخلاص الزيوت منهما بالاعتماد على جهاز كليفانجر .

تم إجراء التحليل الفيزيائي الكيميائي مثل رقم الحمض ومؤشر الانكسار و الكثافة على مستوى مختبر الكلية. و اقيمت دراسة النشاط البيولوجي و التي تمثلت في النشاط المضاد للاكسدة و التي اعطت نشاط ضعيف و اجري ايضا الاختبار المضاد للبكتيريا و الذي اعطانا نتيجة سلبية بالنسبة للعينات المجربة .

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية،العلاجية، الاستخلاص، التحليل الفيزيائي الكيميائي،النشاط البيولوجي.