

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences et de la Technologie et Sciences de la matière

Département de Génie des Procédés



Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine Sciences et Techniques

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Analyse et Contrôle de la Qualité

Présenté Par : BELEMASSOUD Rekia

Thème

**Mise en valeur les huiles essentielles
du faux poivrier**

Soutenu publiquement

Le : 15/06/2013

Devant le jury :

**M. Saouli Salah
M^{elle}. Zighmi Souad
M. Laadjel Seghni**

**Président
Examinatrice
Encadreur**

**UKM Ouargla
UKM Ouargla
UKM Ouargla**

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2012/2013

DEDICACES

A celle qui m'a attendu avec patience pour les fruits de sa bonne éducation,

A ma Mère

A celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les grands Hommes.

A mes frères, A mes frères et sœurs et surtout mon grand frère MAHMOUD, et toute la famille.

A mes amis en particulier Saliha Bennadir, Safia Fentiz

A toute la promotion de master 2013

A tous ceux qu'ont crus en mes succès.

Remerciements:

Nos remerciements vont à tous ceux qu'ont contribué de près où de loin à la réalisation de ce travail en particulier

Mr. **LADJEL Segni.**, Professeur à l'université d'Ouargla pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, qu'il trouve ici l'expression de nos profonde gratitude.

Je remercie les membres du jury, pour avoir accepté de juger ce travail.

Et Remerciements distingués à **Mme NASRI Amel**, pour l'aide précieuse Qu'elle a apportée pour la réalisation de ce travail.

A biochimiste **TAIBAOUI Soumia** pour l'aide précieuse.

A L'administration de l'université d'Ouargla pour le bon accueil.

Au Département de Génie des Procédés. Université d'Ouargla

Au Laboratoire de Génie des Procédés. Université d'Ouargla

Au laboratoire de synthèse organique appliquée, de l'université d'Oran.

Sans oublier, Nous tenons a exprimé nos vifs remerciements à tous les Masters de Génie des procèdes promotion 2013.

Sommaire

Liste des tableaux.....	
Liste des figures.....	
Introduction générale.....	

Partie bibliographique

Chapitre I: systématique botanique

I.1. Introduction	02
I.2. Classification et description botanique du <i>Schinus terebinthifolius</i>	02
I.2.1. Classification taxonomique	02
I.2.2. Description botanique	02
I.2.3. Utilisation thérapeutique	03
I.2.4. Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce	03
I.2.5. Propriétés biologiques et pharmacologiques	04
I.3. Classification et description botanique du <i>Schinus molle</i>	04
I.3.1. Classification taxonomique	04
I.3.2. Description botanique	04
I.3.3. Utilisation thérapeutique	05

Partie expérimentale

Chapitre II : protocoles d'extractions

II.1. Introduction.....	06
II. 2. Extraction des huiles essentielles	06
II.2.1. Prélèvement et conservation du matériel végétal	06
II.2.2. Protocole d'extraction	07
II.2.2.1. Extraction des huiles essentielles	07
II.2.3. Résultats obtenus	09
II.2.3.1. Rendements des extractions	10
II.2.3.2. Caractéristiques organoleptiques	10
II.3. Les analyse	
II.3.1. Paramètres physico-chimiques	11
II.4. Etudes des activités biologiques des extraits des plantes	12
II.4.1. Activité antimicrobienne	12
II.4.1.1. Résultats obtenus	16
II.4.2. Détermination de l'activité antioxydant par le pouvoir réducteur total.....	19
II.4.3. L'activité anti-inflammatoire.....	19

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Rendements des extractions.....	21
III.2. Paramètres physicochimiques	22
III.3. L'activité biologique	23
III.4. Activité antioxydant	25
III.5. Activité anti-inflammatoire	26
Conclusion générale.....	27
Références bibliographique	
Annexe	
Résumé	

Liste des tableaux

II.01	: Condition opératoires de l'extraction par hydrodistillation.....	09
II.02	: Les caractéristiques organoleptique des huiles et hydrolat du <i>S. terebinthifolius</i> et <i>S. molle</i>	11
II.03	: Les valeurs expérimentales des paramètres physico-chimiques.....	12
II.04	Evaluation de l'effet antibactérien selon le diamètre d'inhibition.....	13
II.05	Tableau des résultats de l'activité biologiques	17
II.06	Valeurs des potentiels réducteurs totaux (PRT) des extraits du <i>S.molle</i> et du <i>S.terebinthifolius</i>	19
II.07	Les valeurs expérimentales des huiles et les hydrolats du <i>S. molle</i> et <i>S. terebinthifolius</i>	20
III.08	Comparaison entre les valeurs des rendements expérimentaux et ceux donnés par la littérature.....	21
III.09	Comparaison entre le pH expérimentale et pH de littérature.....	22

Liste des figures

I.1	<i>Schinus terebinthifolius</i>	02
I.2	Description botanique du <i>Schinus terebinthifolius</i>	03
I.3	<i>Schinus molle</i>	04
I.4	Description botanique de <i>Schinus molle</i>	05
II.5	Situation géographique des prélèvements des souches botaniques.....	06
II.6	La répartition des plantes <i>S. molle</i> et <i>S. terebinthifolius</i> à Ouargla.....	06
II.7	Arbres sujets des prélèvements.....	07
II.8	Montage réel d'hydrodistillation (A) <i>S. terebinthifolius</i> et (B) <i>S. molle</i> ...	08
II.9	Dispositif d'extraction Clevenger.....	08
II.10	Décantation des phases aqueuses et huileuse extraites du (A) <i>S. molle</i> (B) <i>S. terebinthifolius</i>	09
II.11	La cinétique d'extraction d'huile du <i>S. terebinthifolius</i>	10
II.12	La cinétique d'extraction d'huile du <i>S. molle</i>	10
II.13	Des boîtes pétries gélosées	14
II.14	L'écoulement des boîtes pétries des huiles essentiels et les hydrolats.....	15
II.15	Les disques de papier Whitman sur la surface de gélose	15

II.16	Etapes de réalisation du test de l'activité antibactérienne.....	16
II.17	Expression de l'activité d'huile de <i>S. terebinthifolius</i> sur quelques souches bactériennes testées (la zone inhibitrice).....	17
II.18	Expression de l'activité d'huile de <i>S. molle</i> sur quelques souches bactériennes testées (la zone inhibitrice).....	18
II.19	Expression de l'activité d'hydrolat de <i>S. terebinthifolius</i> sur quelques souches bactériennes testées (zone inhibition).....	18
II.20	Expression de l'activité d'hydrolat de <i>S. molle</i> sur quelques souches bactériennes testées (la zone inhibitrice).....	18
III.21	Comparaison les valeurs expérimentales et ceux donnes par littérature	21
III.22	Comparaison entre le pH expérimentale et pH de littérature.....	22
III.23	Les diamètres d'inhibition des huiles et les hydrolats du <i>S. molle</i> et <i>S.</i> <i>terebinthifolius</i>	25
III.24	Représentation des valeurs expérimentaux d'activité antioxydant des huiles et les hydrolats du <i>S. molle</i> et <i>S.terebinthifolius</i>	26
III.25	Représentation des valeurs expérimentaux d'activité anti-inflammatoire des huiles et les hydrolats du <i>S.molle</i> et <i>S.terebinthifolius</i>	27

Liste des Abréviations

- *S* : *Schinus*
- mm : Millimètre
- cm : Centimètre
- ml : Millilitre
- pH : Potentiel d'Hydrogène
- T°C : Température.
- % : Pourcentage
- °C : Degré Celsius.
- **G** : Gramme
- h : Heure.
- mg : Milligramme.
- µg : Microgramme
- R : Rendement
- $I_{R\text{ eau}}$: Indice de réfraction d'eau
- (CMI) : Concentration minimal inhibitrice
- PRT : Potentiels réducteurs totaux
- NDGA : Acide nordihydroguaiarétique
- (IC₅₀) : Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres
- DMSO : Diméthylsulfoxyde
- AFNOR : Association Française de normalisation
- CFU: Colony forming units
- MH: Milieu de Mueller Hinton

Introduction générale

Introduction générale

Même si pendant des millénaires, l'utilisation des plantes médicinales fut le principal recours pour guérir l'homme, cette utilisation est généralement adaptée aux pathologies légères et met en œuvre environ 500 000 plantes dont 100 000 possédant des propriétés médicinales [1], en effet, l'usage de plantes médicinales peut apporter directement des réponses à certains problèmes de santé; mais avant de pouvoir en recommander l'usage, il est nécessaire d'en valider l'usage traditionnel et d'évaluer scientifiquement l'activité pharmacologique de la plante médicinale pour confirmer sa réputation. De plus, il est impératif de vérifier également l'absence d'une toxicité éventuelle. L'usage des plantes médicinales locales, en réponse à des problèmes de santé peut-être perçu comme une alternative aux médicaments conventionnels.

Après une enquête que nous avons menée dans la ville d'Ouargla, 46 sur 100 individus préfèrent utiliser les plantes comme traitement pharmaceutique plutôt que les médicaments, et 52% de la population d'Ouargla trouvent qu'il faut coupler les deux méthodes plantes et médicaments.

En Afrique du nord, le *S. molle* et le *S. terebinthifolius* ont été introduites comme espèces ornementales à la fin des années 1900 par les colonisateurs. Leur introduction réussie dans un domaine non-natif est attribuée à leur forte sécheresse et leur tolérance à la chaleur [2] Dans leur région native (Sud d'Amérique), ces espèces très aromatiques ont fait objet de nombreuses enquêtes pour évaluer leurs activités antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, insecticides et allélopathique [3]. Cependant, la plupart des études antérieures concernant la composition de l'huile essentielle de ces espèces se sont concentrés sur les fruits, peu de travaux sont réalisés sur les feuilles. Le présent travail d'étude vise l'extraction des huiles essentielles des feuilles du *S. molle* et du *S. terebinthifolius* de la région d'Ouargla (Algérie), et l'évaluation de leurs activités antibactériennes, anti-inflammatoires, et antioxydants.

Dans ce manuscrit on trouvera une partie bibliographique détaillant la description botanique des deux espèces étudiées, ainsi que les travaux antérieurs menés sur leurs extraits, La deuxième partie présente la partie expérimentale du travail et les analyses physico-chimiques et biologiques utilisées dans le cadre de cette étude, une discussion des résultats obtenus, et une comparaison avec la littérature ont été introduites dans un troisième chapitre.

Chapitre I

Description botanique des plantes

I. Introduction :

Parmi les espèces les plus importantes du genre *Schinus* on compte [4]:

Schinus chichita var. *rhoifolius* (Aroeira Blanca)

Schinus lentiscifolius (Coroba)

Schinus longifolius (Molle—*Schinus molle*)

Schinus polygamus (Pepper Tree)

Schinus terebinthifolius (Brazilian pepper tree—*Schinus terebinthifolius*)

En Algérie, le genre *Schinus* est représenté par trois espèces, en l'occurrence *Schinus molle*, *Schinus terebinthifolius*, *Schinus longifolius* [5]

I.2. Classification et description botanique du *Schinus. Terebinthifolius* :

I.2.1. Classification taxonomique :

Le *Schinus terebinthifolius* est une espèce botanique de la famille des Anacardiaceae [6].

- Embranchement : *Spermaphytes*
- Sous embranchement : *Angiospermes*
- Classe : *Dicotylédones*
- Sous classe : *Rosidae*
- Ordre : *Spindales*
- Famille : *Anacardiacees ou Térébinthaceae*
- Genre : *Schinus*
- Espèce : *Schinus terebinthifolius*



Figure.01: *Schinus terebinthifolius*

I.2.2. Description botanique :

L'arbre atteint habituellement 2 à 6 m de hauteur et 3 à 12 cm en diamètre de tige, les feuilles ont un rachis de 3 à 14 cm long, souvent à ailes, avec cinq à neuf feuillettes. Les feuillettes sont de 1.5 à 7.5 cm long, lancéolée à elliptique, aiguës à chaque extrémité. Elles dégagent une odeur poivrée dite de térébinthe.

Les fleurs sont de couleur blanche à crème et elles sont disposées en grappes pendantes. Elles sont mellifères et permettent la production d'un miel discrètement parfumé. Les graines sont des baies roses, drupes aromatisées rouge corail en été, de 8 mm de diamètre [7].



Figure.02 : Description botanique du *Schinus terebinthifolius*

1.2.3. Utilisation thérapeutique:

Les pratiques médicinales traditionnelles utilisent assez souvent le *S. terebinthifolius* en Amérique centrale et en Amérique du Sud, ils utilisent pratiquement toutes les parties de cet arbre, les feuilles, l'écorce, les fruits, les graines, la résine et l'oléorésine (ou de sapin). Elles ont été utilisées en médecine par les peuples autochtones au Brésil et dans les régions tropicales [8] en temps qu'antibactérien, diurétique, stimulant digestif, tonique, antivirale et pour la cicatrisation des plaies [9]. Au Pérou, par exemple, la sève est utilisée comme un doux laxatif et diurétique et la plante entière est utilisée comme antiseptique topique [10]. L'oléorésine est utilisée pour la cicatrisation des plaies et pour arrêter le saignement, comme calmant dentaire et pour traiter le rhumatisme et comme purgatif. En Amazonie brésilienne, un thé d'écorce est utilisé comme laxatif et un thé d'écorce et de feuilles est utilisé comme stimulant et antidépresseur. En Argentine, une décoction est faite avec les feuilles séchées et est pris pour menstruel troubles et est également utilisé pour des voies respiratoires et des voies urinaires les infections des voies et des troubles [11].

S. terebinthifolius a également trouvé plusieurs applications en Afrique. En Afrique du Sud, les feuilles sont utilisées pour traiter le rhum, l'hypertension, la dépression et l'arythmie cardiaque. En Zimbabwe, une décoction de feuilles broyées ou d'écorce est traditionnellement prise pour soulager la bronchite et les rhumatismes [12].

1.2.4. Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce :

La chimie de ces plantes est relativement peu étudiée. La plante est connue pour contenir des huiles essentielles et des huiles lourdes [13], des flavonoïdes, des tanins condensés et hydrolysables, des Coumarines, des triterpène et des stérols [14].

I.2.5. Propriétés biologiques et pharmacologiques :

Les études expérimentales effectuées sur cette plante ont mis en évidence différentes activités biologiques et pharmacologiques ont montré que le *S.terbinthifolius* présente une activité anti-inflammatoire [15], des activités insecticide et pesticide [16], une activité antimicrobienne [17] et une activité antibactérienne (*Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus albuns*) [18].

I.3. Classification et description botanique du *Schinus molle* :**I.3.1. Classification taxonomique :**

- Embranchement : *Spermaphytes*
- Sous embranchement : *Angiospermes*
- Classe : *Dicotylédones*
- Sous classe : *Rosidae*
- Ordre : *Spindales*
- Famille : *Anacardiaceés ou Térébinthaceae*
- Genre : *Schinus*
- Espèce : *Schinus mölle* [19]



Figure. 03 : *Schinus molle*

I.3.2. Description botanique :

Le *Schinus molle* a un feuillage persistant à odeur de térébinthe qui explique son appartenance à la famille botanique des Anacardiaceés (Anacardiaceae ou Terebinthaceae). Ses feuilles sont alternes de couleurs vert sombre, composées de 15 à 20 paires de folioles étroites dentées, la foliole terminale est plus grande (4 à 9 cm de long sur 1.5 à 3.5 cm de large). Ses rameaux sont en grêles retombantes vers le sol [20]. Sa floraison est sous forme de longues grappes pendantes au printemps. Les fleurs sont petites, unisexuées, couleur Jaune verdâtre [21]. Les fruits sont de petites drupes rougeâtres qui ont une grosseur et une saveur rappelant

celles du grain de poivre, sont en grappe de 4 à 6 mm de diamètre contenant une seule graine de couleur brune [22].



Figure.04: Description botanique de *Schinus molle*

I.3.3. Utilisation thérapeutique :

Les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée utilisent les huiles essentielles du *S.molle* comme analgésique, anti inflammatoire, anti-tumoraux, antibactérien et insecticide [23].

Les études expérimentales effectuées sur le *S.molle* ont mis en évidence différentes activités biologiques et pharmacologiques de *S.molle* qui montrent que cette plante est un hypotenseur [24], anti-tumorale [25], antibactérien [26], antifongique, anti-inflammatoire[27], analgésique [28], et antidépresseur [29], mais aucune étude n'a été menée contre les agents pathogènes des plantes. Des extraits de ses feuilles ont montré un niveau élevé d'effet antimicrobien contre l'Agrobacterium, les tumefaciens et Bacillus subtilis [30]. Cet extrait est aussi utilisé pour traiter l'ophtalmie et les rhumatismes. Une perfusion de l'extrait d'écorce est utilisée contre la diarrhée. Autre effets médicaux des huiles de l'écorce sont connus pour traiter l'ulcère, l'urétrite, les verrues, les plaies et les maladies vénériennes [31].

Bien que plusieurs études aient déterminé les activités biologiques de ces plantes, toutes ont été menées en Amérique du Sud d'où elles sont originaires et aucune n'a été menée sur le continent africain. Ainsi, dans la présente étude, les huiles essentielles sont extraites à partir de feuilles fraîches recueillies de la région d'Ouargla exactement au niveau du jardin de faculté des sciences de la vie et des sciences de l'univers, afin d'évaluer leurs propriétés antibactériennes, antifongiques et leurs activités antioxydants [32].

Chapitre II

Protocoles d'extractions

II.1. Introduction :

Cette partie est consacrée à l'étude de l'extraction des huiles essentielles de deux variétés de faux poivriers provenant de la région d'Ouargla située géographiquement au Nord- Est du Sahara Algérien. A cet effet le procédé utilisé est l'hydrodistillation,



Figure.05 : Situation géographique des prélèvements des souches botaniques
 Nous avons faire une enquête ethnobotanique sur nos échantillons dans la ville d'Ouargla, nous avons obtenus les résultats qui représentent dans la figure .06.

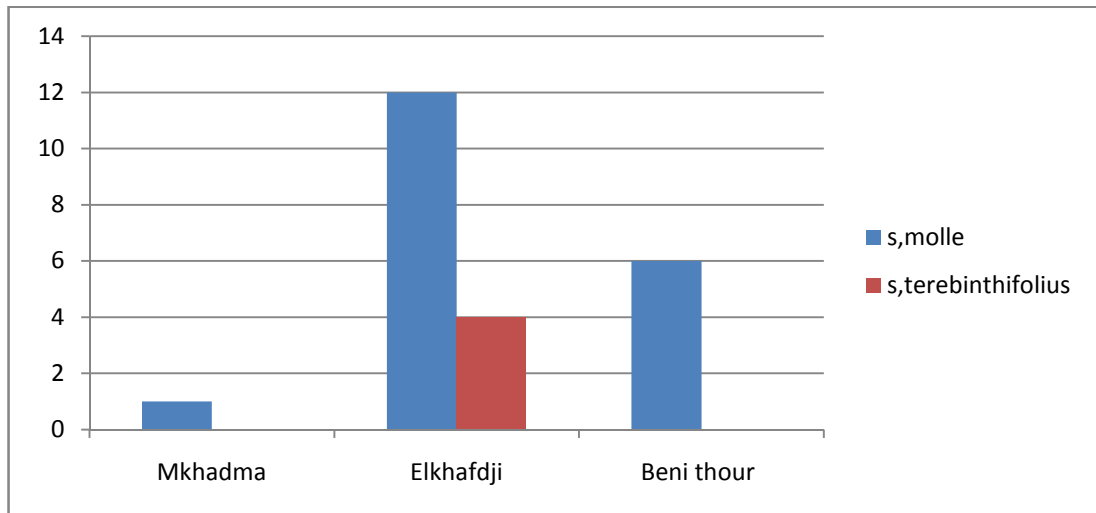


Figure. 06 : La répartition des plantes *S. molle* et *S. terebinthifolius* à Ouargla

II.2. Extraction des huiles essentielles :

II.2.1. Prélèvement et conservation du matériel végétal :

Les échantillons du *S. molle* et du *S. terebinthifolius* ont été pris selon leurs disponibilités dans la région d'Ouargla au Nord est du Sahara Algérien durant le Mois d'Avril de l'année en

cours, du jardin de la faculté des sciences naturelles et des sciences de la terre et de l'univers (ex ETAS), et ont été séchés à l'ombre sur des étoffes.



Figure.07: Arbres sujets des prélèvements

II.2.2. Protocole d'extraction :

II.2.2.1. Extraction des huiles essentielles :

A l'aide d'un dispositif d'extraction type Clevenger (fig.09), une extraction par hydrodistillation fractionnée a été menée au niveau du laboratoire de génie des procédés. Cette technique d'extraction se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les phases volatiles extraites du matériel végétal. L'opération consiste à introduire 100g de masse végétale de la plante dans un ballon en verre en y ajoutant une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant le remplir pour éviter les débordements de l'ébullition. L'appareil est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées en huiles essentielles passent à travers le tube vertical puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans une ampoule à décanter qui permettra la séparation de la phase aqueuse (Hydrolat) de celle organique (Huile) (fig.10), cette opération dure 3 heures à partir du début de l'ébullition. Les phases récupérées sont conservées dans des flacons stériles en verre à une température de (4°C). Pour une étude

approfondie l'hydrodistillation a été menée chaque jour pour optimiser le rendement de l'extraction en fonction du séchage du matériel végétal.



Figure 08 : Montage réel d'hydrodistillation (A) *S. terebinthifolius* et (B) *S. molle*

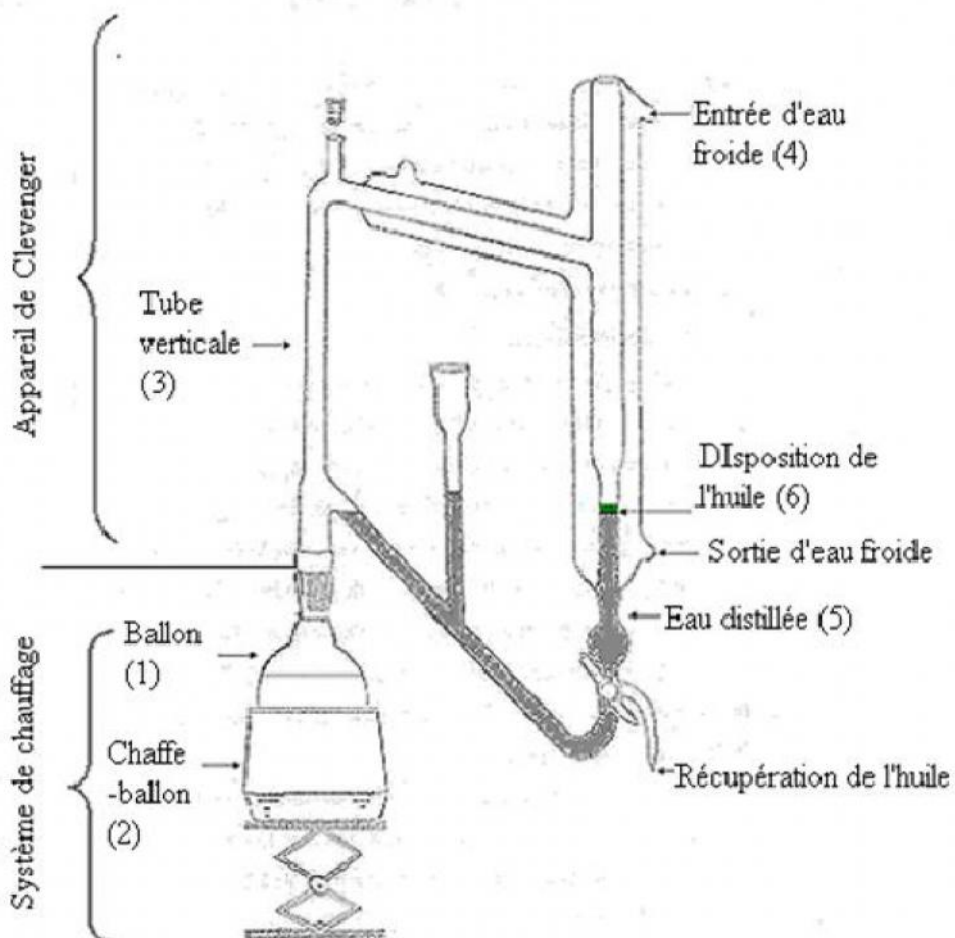


Figure.09 : Dispositif d'extraction Clevenger

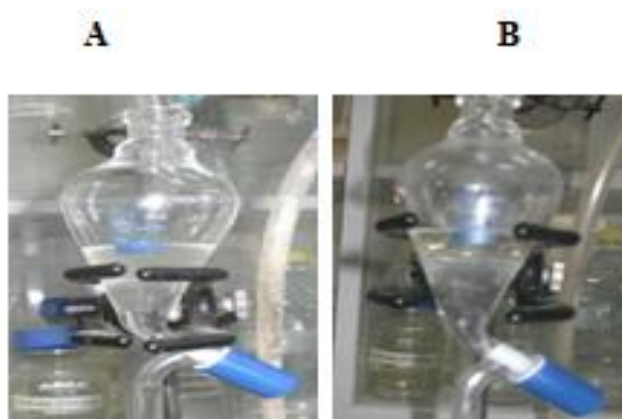


Figure.10 : Décantation des phases aqueuses et huileuse extraites du (A) *S. molle* (B) *S. terebinthifolius*.

Tableau.01 : Condition opératoires de l'extraction par hydrodistillation

Masse de la matière végétale/volume d'eau	100g/ 600ml d'eau distillée
Température	98°C
Pression	Atmosphérique
Durée d'extraction	3h

II.2.3. Résultats obtenus :

II.2.3.1. Rendements des extractions :

L'extraction par hydrodistillation des phases volatiles des parties aériennes du *S.terbinthifolius* et du *S.molle* a été menée chaque jour, pour définir la valeur maximale du rendement en fonction du temps de séchage et dans les mêmes conditions de travail (tableau.1). Ce rendement est calculé à partir du poids de l'huile essentielle par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée pour l'hydrodistillation, soit :

$$R\% = \frac{m_{\text{huile}}}{m_{\text{plante}}} \times 100$$

Où : Rdt : rendement en huile essentielle (%)

M_{huile} : Masse de l'huile essentielle extraite (g)

M_{plante} : Masse de la plante (g)

1. Pour le *S.terebinthifolius* :

Le suivi du rendement de l'hydrodistillation des parties aériennes du *S. terebinthifolius* en fonction du séchage de cette matière végétale, donne des valeurs croissantes de rendement

pendant 4 jours de séchage pour arriver à un seuil maximal de 0.4646% au bout du cinquième jour comme démontré par la figure.11

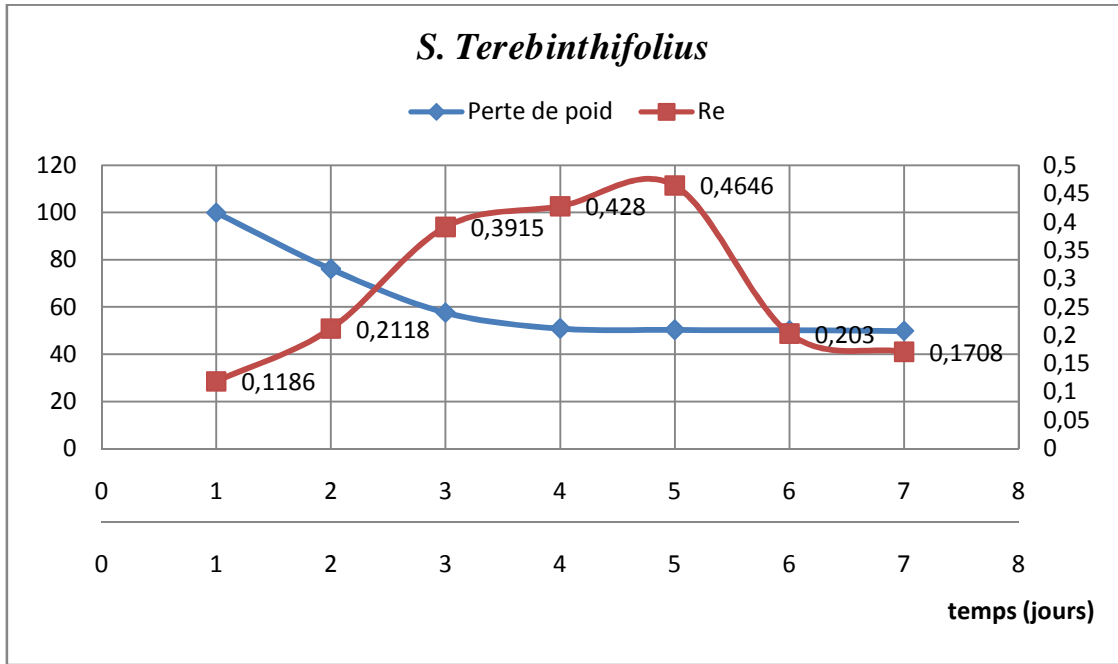


Figure .11 : La cinétique d'extraction d'huile du *S. terebinthifolius*

2. Pour le *S.molle*

Cette étude mène à un résultat maximal de 1.9996% au bout de 7 jours de séchage de la matière végétale (fig.12). Cette valeur commence à diminuer dès le huitième jour.

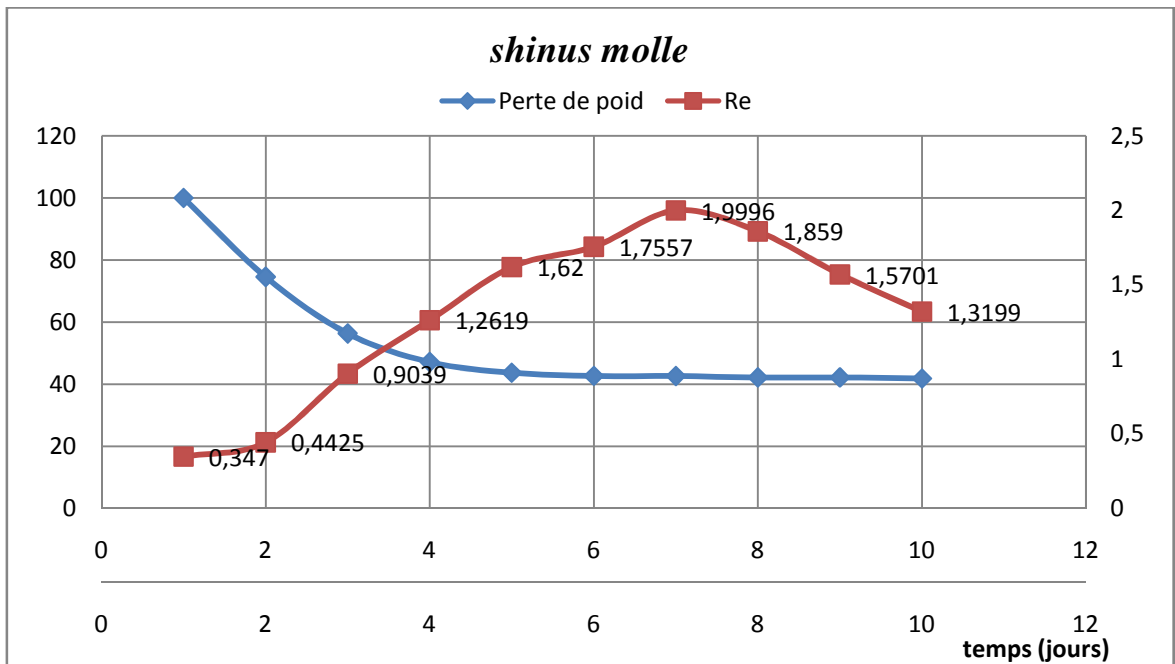


Figure .12 : La cinétique d'extraction d'huile du *S. molle*

II.2.3.2. Caractéristiques organoleptiques :

Pour une durée de 3 heures d'hydrodistillation des parties aériennes (feuilles, les écorces, et les graines) dans les conditions de travail démontrés par le tableau 01, l'huile essentielle extraite du *S. terebinthifolius* est un liquide mobile de couleur jaune pale et d'une odeur poivrée, celle extraite du *S. molle* est plus mobile que la première et d'une couleur jaune claire, et d'odeur poivrée comme démontre le tableau .02

L'hydrolat extraite du *S. terebinthifolius* est un liquide trouble de couleur blanche et d'une odeur de térébinthe, et l'hydrolat du *S. molle* est aussi liquide trouble de couleur blanche et par une odeur de térébinthe ou poivre.

Tableau .02 : Les caractéristiques organoleptique des huiles et hydrolat du *S. terebinthifolius* et *S. molle*

Caractéristiques organoleptique	<i>Schinus terebinthifolius</i>		<i>Schinus molle</i>	
	Huile	Hydrolat	Huile	Hydrolat
Aspect	Liquide mobile	Liquide trouble	Liquide mobile	Liquide trouble
Odeur	poivre	Poivre	Poivre	Poivre
Couleur	Jaune pale	Poivre	Jaune clair	Poivre

II.3. Les analyses :

II.3.1. Paramètres physico-chimiques :

Pour des études plus approfondies, les mêmes protocoles d'analyses et de caractérisation des huiles ont été pratiqués sur les hydrolats extraits du *S. molle* et du *S. terebinthifolius*. La densité a été approchée par la mesure de la masse volumique à l'aide d'un densimètre selon la norme algérienne NA.271/1992, à une température de 27°C.

$$d^{20} = d\theta_{exp} + (\theta - 20) - 0.00068$$

Selon la norme algérienne NA.278/1992, nous avons mesuré les indices de réfractions des phases extraites, à l'aide d'un réfractomètre LGP Ré (H01/037) à une température de 27°C et un calcul selon l'équation pour un rapprochement à la température de 20°C.

$$\left[\int d \right]_D^{20} = \left[\int d \right]_{D_{exp}}^T + (\theta - 20) - 0.00045$$

Pour la mesure du pH selon la norme algérienne NA.273/1992, nous avons utilisé un pH-mètre LGP pH (Hi 4221pH/0Rp)

Tableau.03 : Les valeurs expérimentales des paramètres physico-chimiques

Les paramètres physico-chimiques						
	Les huiles			Les hydrolats		
	Densité à 20°C	Indice de réfraction à 20°C	pH	Densité à 20°C	Indice de réfraction à 20°C	PH
<i>S. terebinthifolius</i>	0.8372	1.4922	6	1.00022	1.3358	6.98
<i>S.molle</i>	0.8904	1.4917	6	1.00108	1.3357	5.56

Les résultats démontrés par le tableau.03 révèlent l'acidité moyenne des huiles du *S.terebinthifolius* et *S. molle* (pH=6), ainsi que l'hydrolat du *S.molle* alors que celui du *S.terebinthifolius* a un pH neutre (6.98), les densités des hydrolats des deux plantes sont proches de celle de l'eau ainsi que leurs indices de réfractions ($I_{\text{Reau}}=1.33$) [33].

II.4. Etudes des activités biologiques des extraits des plantes :

II.4.1. Activité antimicrobienne :

- **Les souches bactériennes :**

Les huiles et les hydrolats du *S.molle* et du *S. terebinthifolius* ont été testées sur trois souches microbiennes isolées de prélèvements humains au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital –Mohamed Boudiaf d'Ouargla. Les souches microbiennes utilisées sont: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*.

- **Préparation du milieu de culture des bactéries :**

Mode opératoire : le milieu de culture choisis pour l'incubation des souches bactérienne choisis est un milieu standard Muller Hinton dit MH. Pour la préparation de ce milieu de culture nous avons opté pour la méthode détaillée par [34].

Muller Hinton agar :

- Infusion de viande de bœuf déshydraté 300 g
- Hydrolysat de caséine (peptone) 17.5 g
- Amidon de maïs 5 g
- Agar Agar 13 g
- Eau distillée 1000 ml

Les étapes de préparation

Pour préparer le milieu bactérien, il faut noter que entre chaque addition de produits il faut mettre 100 ml d'eau distillée, dans un ErlenMayer mettre sur un bec bunsen 100 ml d'eau distillée et 13 g d'agar agar attendre jusqu'à dissolution et ajouter 100 ml d'eau distillée, puis l'infusion de viande de bœuf puis ajoutez le peptone puis l'eau puis l'amidon, et enfin compléter jusqu'à 1000ml avec l'eau distillée, la solution obtenue est un gel de couleur miel que nous devons le mettre dans l'autoclave pour la stérilisation.

Mise en contact extrait/ bactérie

L'activité antibactérienne des huiles essentielles et des hydrolats du *S. molle* et *S. terebinthifolius* est réalisée par la technique du contact direct qui permet de prévoir avec certitude l'efficacité de l'extrait par diffusion en milieu gélosé, il s'agit d'une appréciation qualitative de l'activité. L'aspect quantitatif sera ensuite estimé par détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

La méthode de diffusion a été initialement conçue pour les antibiotiques (antibiogramme). Mais en remplaçant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par de l'huile essentielle les antibiogrammes par extrapolation sont nommés aromagrammes. L'aromagramme consiste à déposer des disques de papiers filtres imprégnés d'huiles essentielles sur la surface des géloses ensemencées par le germe à tester et de mesurer les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation.

La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égale à 8 mm (tableau.04). La sensibilité est limite pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. La moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible [35].

Tableau.04 : Evaluation de l'effet antibactérien selon le diamètre d'inhibition

Observation	Signe	Diamètre d'inhibition
Non sensible	(-)	>8 mm
Sensible	(+)	8 à 14mm
Très sensible	(++)	15 à 20mm
Extrêmement sensible	(+++)	<20mm

Pour préparer l'inoculum (Fig.13), une suspension bactérienne d'une opacité de 0.5 Mc Farland est préparée à partir d'une culture bactérienne pure et jeune (âgée de 18 heures). Cette

opacité est équivalente à une absorbance de 0.08 – 0.1 à 625 nm qui peut être diminuée (ou augmentée) en ajoutant plus de culture afin de l'ajuster [36]. Il est à signaler d'une part que la suspension ajustée devra contenir 108 UFC /ml (*units forming colony* /ml) et d'autre part que l'inoculum ainsi préparé ne doit pas être utilisé au delà de 15 minutes faute de quoi la concentration et donc l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne.

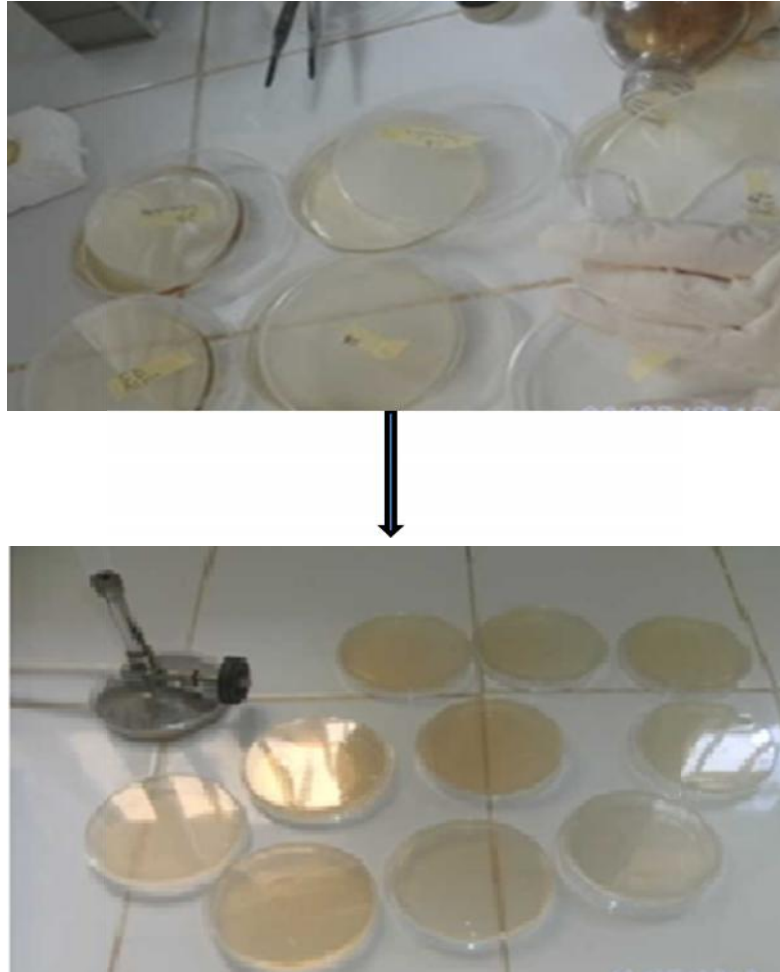


Figure .13: Des boîtes pétries gélosées

Cet inoculum sert àensemencer des géloses de Mueller Hinton coulées dans des boites de Pétri sur une épaisseur de 4 mm, puis séchées à l'étuve à 37°C avant emploi. L'ensemencement consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension puis le frotter après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, à trois reprises sur la totalité de la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. (figure.14)



Figure .14: L'écoulement des boites pétries des huiles essentiels et les hydrolats

Des disques de papiers Whitman stérilisés de 6 mm de diamètre sont déposés à la surface de géloseensemencée après avoir été chargé de quelques gouttes d'huile essentielle(figure15), et ils sont écouvillonnées par le même écouvillon à la condition d'être recharger pour chacun d'elles. Chaque quatre dépôt d'huile essentielle de concentration similaire ont été placés dans la même boite (figure 17), le test est répété deux fois pour avoir des résultats fiables. Après 24 heures d'incubation à 37°C il faut mesurer le diamètre d'inhibition (figure II.16).

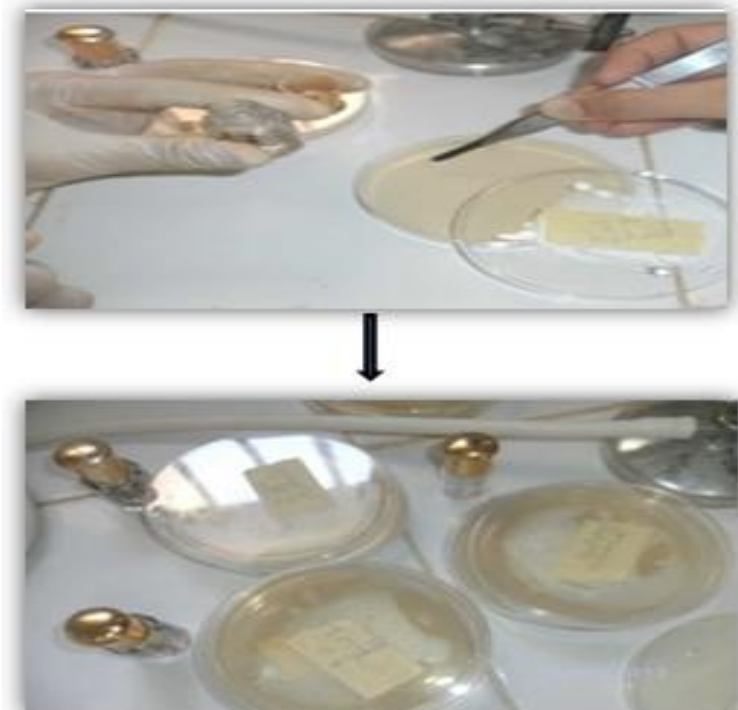


Figure .15 : Les disques de papier Whitman sur la surface de gélose

Pour savoir si l'effet des huiles est bactéricide ou bactériostatique, un prélèvement à partir de la zone d'inhibition est transféré dans un tube contenant du bouillon nutritif. Ce dernier est incubé dans une étuve à 37°C pendant 24 h puis examiné à l'œil nu. Un milieu trouble indique un effet bactériostatique, tandis qu'un milieu clair indique un effet bactéricide de l'huile testée (Figure .16)

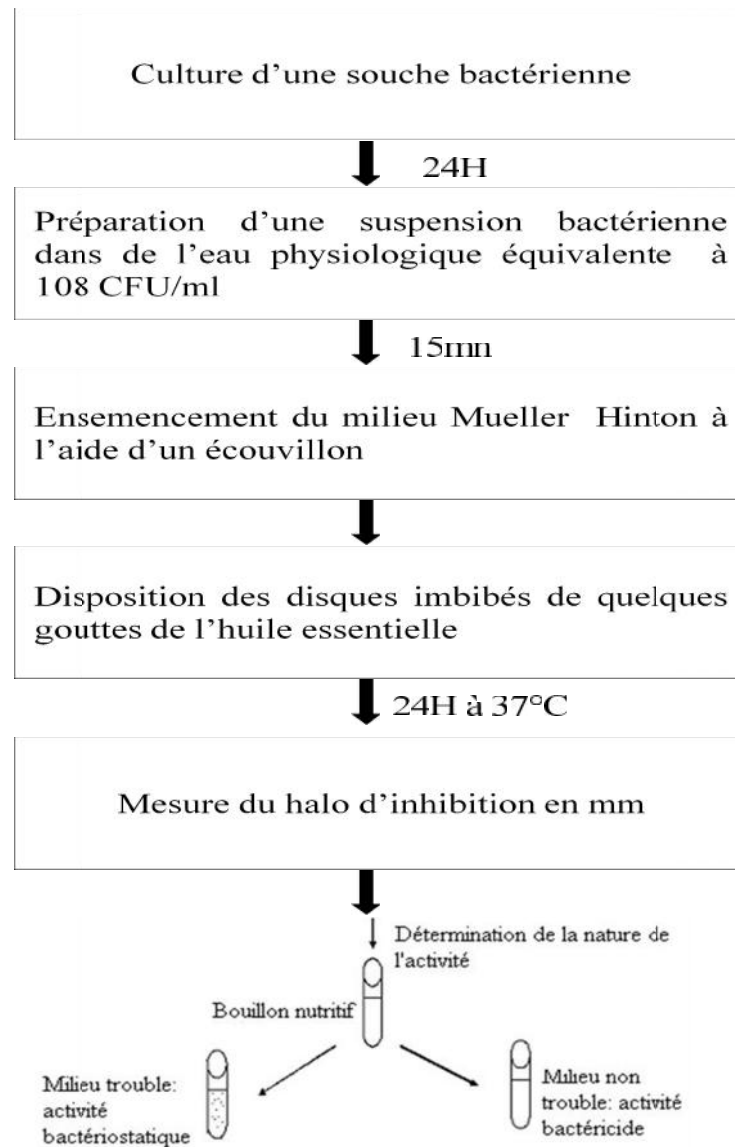


Figure .16: Etapes de réalisation du test de l'activité antibactérienne

II.4.1.1.Résultats obtenus :

L'activité biologique :

L'examen des différentes boîtes de Pétri a révélé la présence halo d'inhibition autour des disques imbibés par les différentes huiles essentielles de *S. molle* et *S. terebinthifolius* pour les diverses

souches testées, elles se sont révélés actives vis-à-vis les souches bactériennes avec des diamètres d'inhibition variant de 09.75 à 14.75 mm (tableau.05) qui sont bien apparentes sur les figure.17 et 18. Les résultats d'activité antibactérienne des hydrolats révèlent aussi des diamètres apparents sur la figure.19 et 20 variant entre 10 mm et 12.25.mm.

Tableau .05: Tableau des résultats de l'activité biologiques

	Diamètre d'inhibition (mm)		
	<i>E. coli</i>	<i>Staphylocoque</i>	<i>Streptocoque</i>
Huile de <i>S.molle</i>	13,5	12,75	12,25
Huile de <i>S.terbinthifolius</i>	09,75	14,75	11
Hydrolat de <i>S.molle</i>	13	12	11,75
Hydrolat de <i>S.terebinthifolius</i>	10	12,25	12

La sensibilité ainsi que la résistance des bactéries testées aux différents antibiotiques sont représentées dans la figure suivant

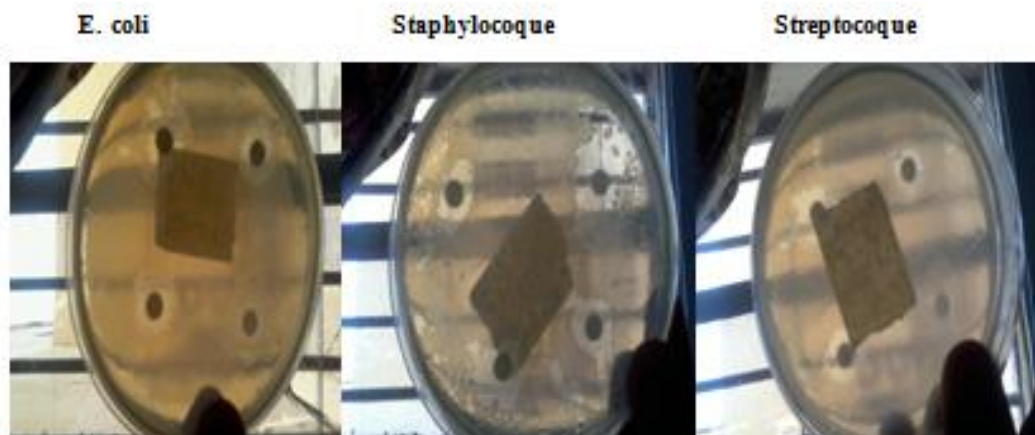


Figure.17 : Expression de l'activité d'huile de *S. terebinthifolius* sur quelques souches bactériennes testées (la zone inhibitrice)



Figure.18 : Expression de l'activité d'huile de *S. molle* sur quelques souches bactériennes testées (la zone inhibitrice)



Figure.19 : Expression de l'activité d'hydrolat de *S. terebintifolius* sur quelques souches bactériennes testées (zone inhibition)



Figure.20 : Expression de l'activité d'hydrolat de *S. molle* sur quelques souches bactériennes testées (zone inhibition)

II.4.2. Détermination de l'activité antioxydant par le pouvoir réducteur total :

Le pouvoir antioxydant des différents extraits des plantes a été évalué en déterminant leur habilité à réduire le fer (III) en fer (II) par la méthode d'Oyaizu (1986)[37]. Introduire dans un tube à essai 0.5 ml de chaque extrait et 1.75 ml d'une solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 1.75 ml de solution de $[K_3Fe(CN)_6]$ à 1%. Incuber le tout pendant 30 minutes à 50°C au bain-marie. Ajouter ensuite 1.75 ml d'acide trichloracétique 10 %, centrifuger le mélange pendant 10 minutes. Récupérer 1.75 ml du surnageant et le mélanger à 1.75 mL d'eau distillée et 0.25 ml d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ à 0,1%. Lire ensuite l'absorbance à 700 nm.

On utilise comme référence l'acide ascorbique pour tracer la courbe d'étalonnage qui servira pour déduire le pouvoir réducteur total exprimé en (mg d'acide ascorbique/g d'extrait).

Le potentiel réducteur total est considéré comme le reflet de la mesure de la capacité antioxydant. Du tableau 06, on remarque que le pouvoir réducteur des différents extraits varie entre 0.02 mg/g pour l'hydrolat du *S.molle* et 1.68 mg/g pour l'huile essentielle du *S. terebinthifolius*. Des valeurs plus grandes ont été observées par Neuza *et al* [38] dans les fruits diététiques, les légumes et les pulpes de fruits congelés avec des teneurs qui se situent entre de 0.04 mg/g et 8.85 mg/g. Ce fort pouvoir réducteur observé dans ces plantes pourrait être due au nombre élevé des groupements hydroxyles que contiennent les constituants aromatiques (Miliauskas *et al.* 2004) [39].

Tableau 06 : Valeurs des potentiels réducteurs totaux (PRT) des extraits du *S.molle* et du *S.terebinthifolius*

	<i>S. molle</i>		<i>S.terebinthifolius</i>	
	Huile	Hydrolat	Huile	Hydrolat
PRT (mg d'acide ascorbique/gr d'extrait)	1,27	0,02	1,68	0,06

II.4.3. Activité anti-inflammatoire

Le potentiel anti-inflammatoire des différents extraits du *S.molle* et du *S. terebinthifolius* est évalué par la mesure de l'inhibition du 5-lipoxygénase[40]. Dissoudre 0.5 ml d'extrait dans un mélange de diméthylsulfoxyde (DMSO) et Tween 20 (V/V=1), puis ajoutés à 1.8 ml de tampon phosphate de potassium (0,1 M, pH 6,3) et d'acide linoléique (100 UM). Commencer la réaction par ajout de 1ml du 5-lipoxygénase diluée dans un tampon phosphate et conservée à 4 °C. Suivre en continu pendant 10 minutes l'apparition du produit de la réaction par

spectrométrie UV à 234 nm. Comparer la vitesse initiale de la réaction enzymatique sans ajout et avec ajout de quantités croissantes d'extrait à évaluer. L'inhibition se traduit par une diminution de la vitesse de réaction et la concentration (en mg/ml) correspond à une inhibition de 50% de la vitesse initiale (IC₅₀). Le NDGA (Acide nordihydroguaiarétique) est utilisé comme produit de référence.

Le potentiel anti-inflammatoire des différents extraits du *S. molle* et du *S. terebinthifolius* est évalué par la méthode enzymatique de la 5-lipoxygénase. Les plantes montrent une activité anti-inflammatoire considérable avec un IC₅₀ de 17.14, 15.31 et 57.65 et 61.04 µg/ml respectivement pour les huiles du *S.terebinthifolius* et *S.molle* et pour leurs hydrolats respectivement (tableau 07), le produit de référence NDGA a un IC₅₀ de 0,7µg/ml. Ces résultats s'expliquent par la différence composant qui constitue la plante. [41,42].

Tableau 07 : Les valeurs expérimentales des huiles et les hydrolats du *S. molle* et *S. terebinthifolius*

Le potentiel anti-inflammatoire	<i>S. Terebinthifolius</i> (mg/ml)		<i>S. molle</i> (mg/ml)	
	Huile	Hydrolat	Huile	Hydrolat
	17,14	57,65	15,31	61,04

Chapitre III

Resultats et discussions

L'originalité de ce travail réside dans la première fois qu'on aborde ce genre de travaux sur *S.molle* et *S. terebinthifolius*.

III.1. Rendements des extractions :

Le rendement maximal en huile essentielle de la partie aérienne(les feuilles, fleur graines,) du *S.terebinthifolius* est de l'ordre de 0.4646%. Cependant, aucun travail antérieur n'a mentionné la valeur du rendement obtenu sauf (M. Gundidza,et al (2009))qui donne la valeur de 0.65% d'huile extraite des feuilles seulement au Zimbabwe , et (Asma Ennigrou, et al (2011)) qui révèlent un rendement de 0.75% d'huile extraite aussi des feuilles seulement en Tunisie comme présente le tableau .06.

Alors que pour le *S. molle*, nous avons obtenu un rendement maximal qui atteint les 2% en huiles essentielles extraites du global de la partie aérienne de la plante, alors que Asma Ennigrou, et al (2011) ont obtenu 1.06% extraite des feuilles des souches de Tunisie,

Tableau.08: Comparaison entre les valeurs des rendements expérimentaux et ceux donnés par la littérature

Rendement (%)	Zimbabwe [43]	Tunisie [44]	OURGLA
Huile du <i>s. terebinthifolius</i>	0,65%	0,75%	0,4646%
Huile du <i>S. molle</i>	-	1,06%	1,9996%

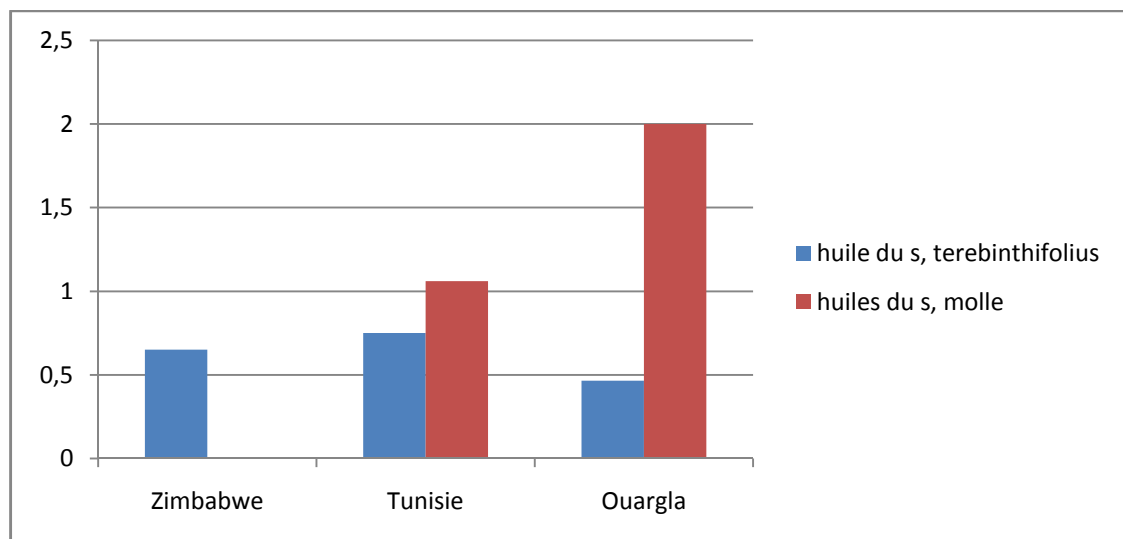


Figure.21 : Comparaison les valeurs expérimentales et ceux donnes par littérature

III.2.Paramètres physicochimiques :

Les extraits de la plante peuvent changer de composition chimique d’une géographie à une autres -phellandrene (46.64–22.16%), -phellandrene (28.53–6.49%), -pinene (4.94–5.20%)[45] , et en Brazil : *p*-Cymen-8-ol-(3.1) , b-dehydro-Eelsholtziane (4.6), *trans*-Limonene oxide (3.6),9-epi-(E)-caryophyllene (10%)[46] , et pour le *S. molle* ;]c -myrcene (5.04–0.84%) [47] qui nous mène à comparer leurs paramètres physicochimiques, mais malheureusement aucun article scientifique n’a fait mention de ces propriétés sauf Asma Ennigrou, et al (2011), qui ont obtenu un pH 5.76 pour l’huile extraite des feuilles du *S.terebinthifolius* de Tunisie, et 5.43 pour celles du *S. molle*, alors que le *S.terebinthifolius* et le *S. molle* de Ouargla ont un pH 6 pour les huiles extraites de leurs parties aériennes globales.

Tableau.09 : Comparaison entre le pH expérimentale et pH de littérature

	pH	
	Ouargla	Tunisie [48]
Huile du <i>S.molle</i>	6	5,43
Huile du <i>S.terebinthifolius</i>	6	5,76
Hydrolat du <i>S. molle</i>	-	-
Hydrolat du <i>S.terebinthifolius</i>	-	-

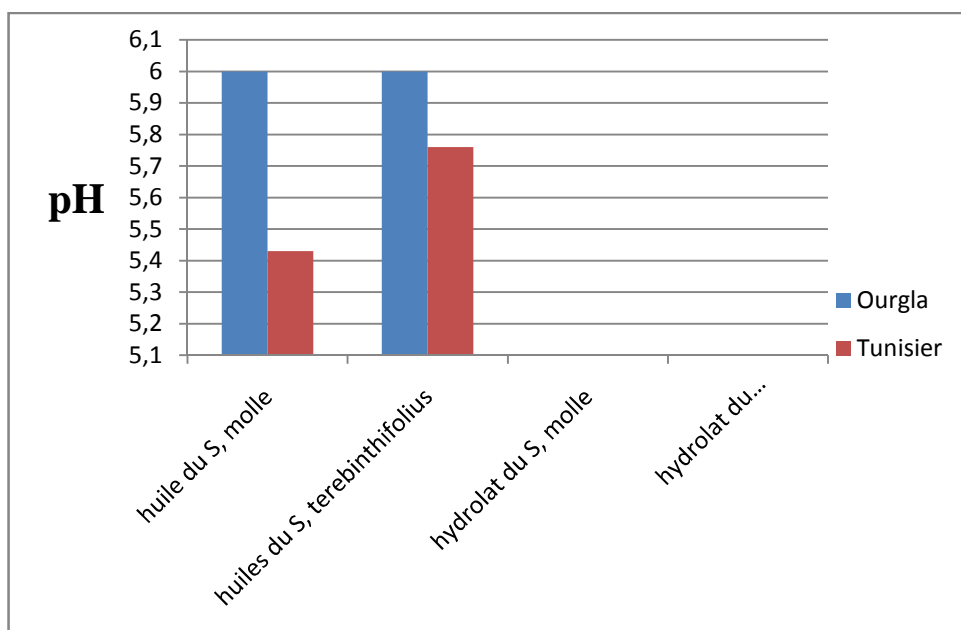


Figure.22 : Comparaison entre le pH expérimentale et pH de littérature

III.3.L'activité biologique :

65% des travaux menés sur les huiles essentielles du *S.molle* et *S.Terebinthifolius* mettent en valeur leurs activités antibactériennes, toutes ces références admettent que le *S.molle* et le *S.terebinthifolius* présentent une activité prononcée contre le à 8-14 mm [48] et alors qu'ils sont inactifs contre 5 à 6.5 mm [49]. Nos résultats expérimentaux donnent une zone d'inhibition de 9.75 mm à 14.75 mm et 12.25 mm à 13.5 mm. Pour le *S.terebinthifolius* et le *S. molle* respectivement qui on comparaison avec la littérature est considérablement moyen pour le *S.terebinthifolius* d'Ouargla, le minimum est pour le *S.molle* d'Ouargla. Alors qu'aucun travail antérieur n'a été mené pour l'activité du *S.terebinthifolius* et le *S.molle* contre la souche *streptocoque*.

Pour cette partie du travail, le pouvoir antimicrobien des hydrolats du *S. molle* et du *S.terebinthifolius* d'Ouargla a été évalué contre les souches bactériennes suivantes : *Escherichia. Coli*, *staphylocoque*, et *streptocoque*.

Le tableau .05 du chapitre II, révèle que les hydrolats présentent un effet presque égal à celui donné par les huiles, alors que les quantités extraites d'hydrolats dépassent les 100ml pour 1 ml d'huile, ce qui est une vraie révolution scientifique, car pour un rendement de 100% en hydrolat par rapport à la masse de la plante sèche, avec ces résultats il n'est plus nécessaire d'utiliser le petit rendement huileux.

L'huile essentielle de *S. terebinthifolius* étudiée ne possède pas d'activité antibactérienne du moins pour le germe *E. coli* par rapport au *S. molle*. Cependant l'huile du *S. molle* a montré une activité modérée vis-à-vis les bactéries à Gram- (*E. coli*),

L'huile du *S. terebinthifolius* Par contre a développée une résistance très apparent avec un diamètre bien défini (tableau.05). Cependant l'huile du *S. molle* aussi possède un diamètre pour le germe staphylocoque de 12.75 mm, par contre pour le germe streptocoque nous avons 12.25 mm, ces huiles ont révélés une activité significative contre *Staphylocoque* et *streptocoque* contrairement aux souches *E. coli* pour la variété *S. terebinthifolius* et qui se sont montrées résistantes.

En effet, les différences des résultats pourraient être attribuées à la nature même de la composition chimique de l'huile. Selon Oussalah et al. (2006) [50], l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, aldéhydes) et les effets synergiques

entre les composants. Ainsi les composés chimiques les plus efficaces et qui possèdent un large spectre d'action antimicrobienne sont les phénols (*thymol*, *carvacrol* et *eugénol*), les alcools (*-terpinéol*, *terpinen-4-ol*, *menthol*, *géraniol*, *linalol*), les aldéhydes (*géraniol*, *citral* et *néral*), les cétones (*carvone*, *pulégone* et *camphre*) (Moleyar et narassimham, 1992 ; Dorman et Deans, 2000; Oussalah et al., 2006)[51] .

Or l'huile essentielle du *S. molle* et *S. terebinthifolius* possède de tels constituants dans sa composition chimique, d'autant plus que son constituant majoritaire, *-Phellandrene* - *phellandrene*, *myrcene* and *-pinene* , possède une activité antibactérienne [52]. Et sur la liste des principaux constituants à activité antibactérienne établi par Duke (2009) [53] ce qui nous laisse penser que ce constituant n'est pas antibactérien.

Autre fait, l'activité antimicrobienne pourrait s'expliquer par la résistance développée par un nombre important de souches et qui réagissent différemment aux divers types d'huiles essentielles. Parmi les souches étudiées, *staphylocoque* qui s'est montrée résistante. En faite, cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe.

E. coli (bactérie Gram -) développe aussi une résistance vis-à-vis d'un certain nombre d'huiles essentielles. D'autre part, cette bactérie est très sensible vis-à-vis d'autres huiles essentielles. Comme dans notre cas d'huile de *S. molle* est très sensible contre *l'E. Coli*.

Par contre, *staphylocoque* résistante à l'action de l'huile essentielle de *S. molle* et *S. terebinthifolius* , semble être la plus sensible , et n'a développé de résistance qu'envers quelques huiles essentielles .

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *S. molle* et *S.terebinthifolius*, évaluées par la méthode de diffusion, a permis de révéler une activité moyenne sur la croissance de *staphylocoque* avec un diamètre d'inhibition 12.75 mm pour le *S. molle* et 14.75 mm pour le *S. terebinthifolius* ,alors que son activité vis-à-vis des souches de: *E. coli*, a été limitée à des diamètres d'inhibition de 13.75 mm pour *S. molle* et 9.75 mm pour *S. terebinthifolius*. Par contre des souches de *streptocoque* révéler un diamètre qui variant pour le *S. molle* 12.25mm et le *S. terebinthifolius* 11 mm.

Toutes les bactéries ont été seulement inhibées à l' exception de *staphylocoque* qui a été détruite. Ces huiles ont présentés une forte activité sur les souches bactérienne d'inhibition de 9.75 mm à 14.75 mm. Les diamètres des halos d'inhibition montrent que le pouvoir antimicrobien est inversement proportionnel à la sensibilité des espèces microbiennes enregistrée suggère la susceptibilité des différents microorganismes aux divers composants des huiles essentielles.

et selon le tableau.05, nous avons pu dire que la sensibilité des huiles de *S. molle* est plus importants que le *S. terebinthifolius* pour le *E. coli*, par rapport l'autre souche staphylocoque le diamètre d'inhibition est élevé que le diamètre de *S. molle* (figure.23). Et pour les hydrolats de *S.molle* et *S. terebinthifolius*, la sensibilité est bien apparente pour les hydrolats de deux variétés. (Figure 19 et 20)

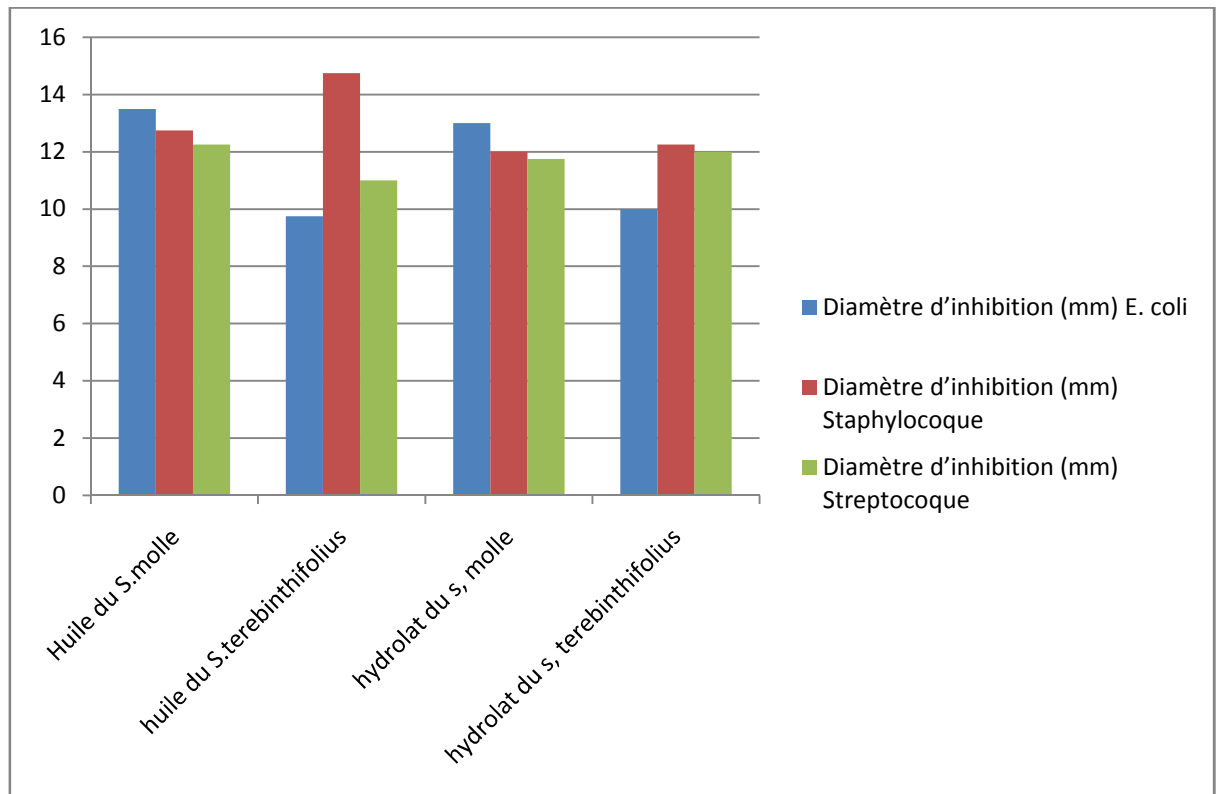


Figure .23 : Les diamètres d'inhibition des huiles et les hydrolats du *S. molle* et *S. terebinthifolius*

III.4.Activité antioxydant :

Parmi les travaux menés sur les extraits du *S.terebinthifolius* et du *S. molle*, un seul en Thaïlande Jirayus Woraratphoka, et al (2012) [53] met en évidence l'activité antioxydant du *S.terebinthifolius* , qu' on a obtenus 0.953 mg/ml. Ce qui donne une valeur inferieur aux huiles du *S.terebinthifolius* 1.68 d'Ouargla. Mais aucune publication sur l'activité antioxydant d'huile et les hydrolats du *S. molle* et *S. terebinthifolius* n'a fait sujet.

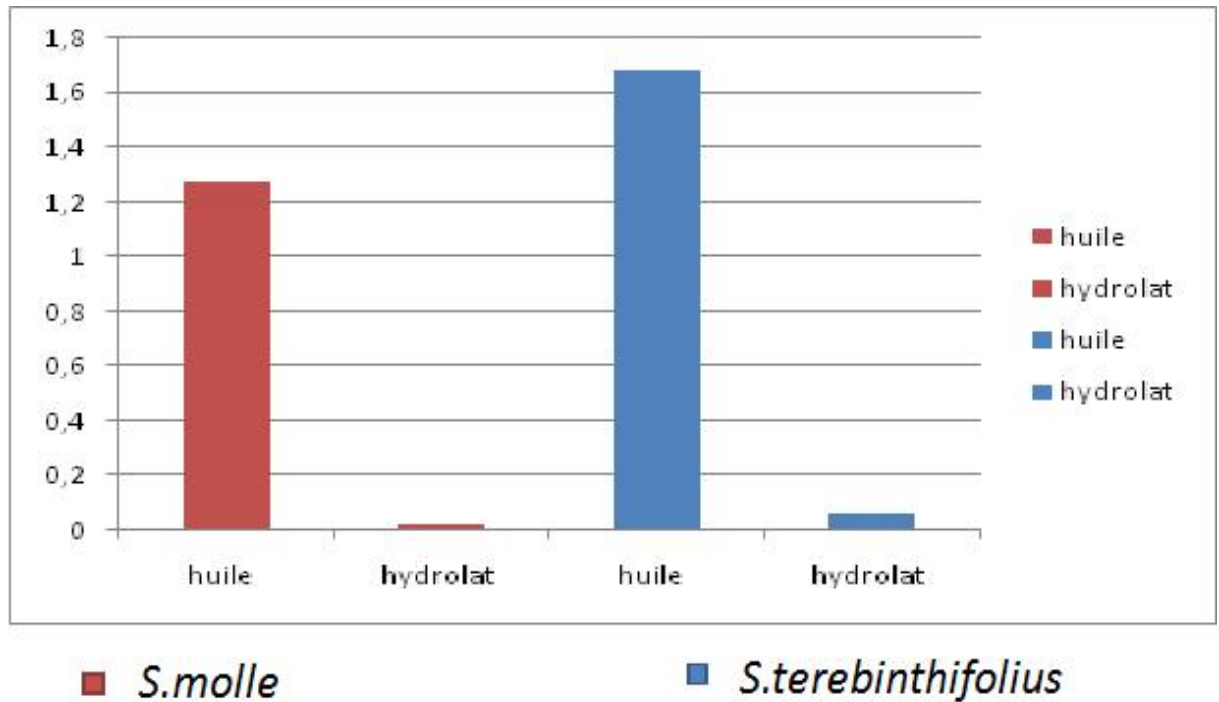


Figure .24 : Représentation des valeurs expérimentaux d'activité antioxydant des huiles et les hydrolats du *S. molle* et *S. terebinthifolius*

III.5. Activité anti-inflammatoire :

Parmi les travaux menés sur les extraits du *S. terebinthifolius* et du *S. molle*, un seul en Brazil Yuequin Z, et al (2003) [54] met en évidence l'activité anti-inflammatoire du *S. terebinthifolius*, qui a obtenus 20 mg/ml. Ce qui donne une valeur inferieur aux huiles du *S. terebinthifolius* 17.14 mg/ml d'Ouargla. Mais aucune publication sur l'activité anti-inflammatoire d'huile et les hydrolats du *S. molle* et *S. terebinthifolius*

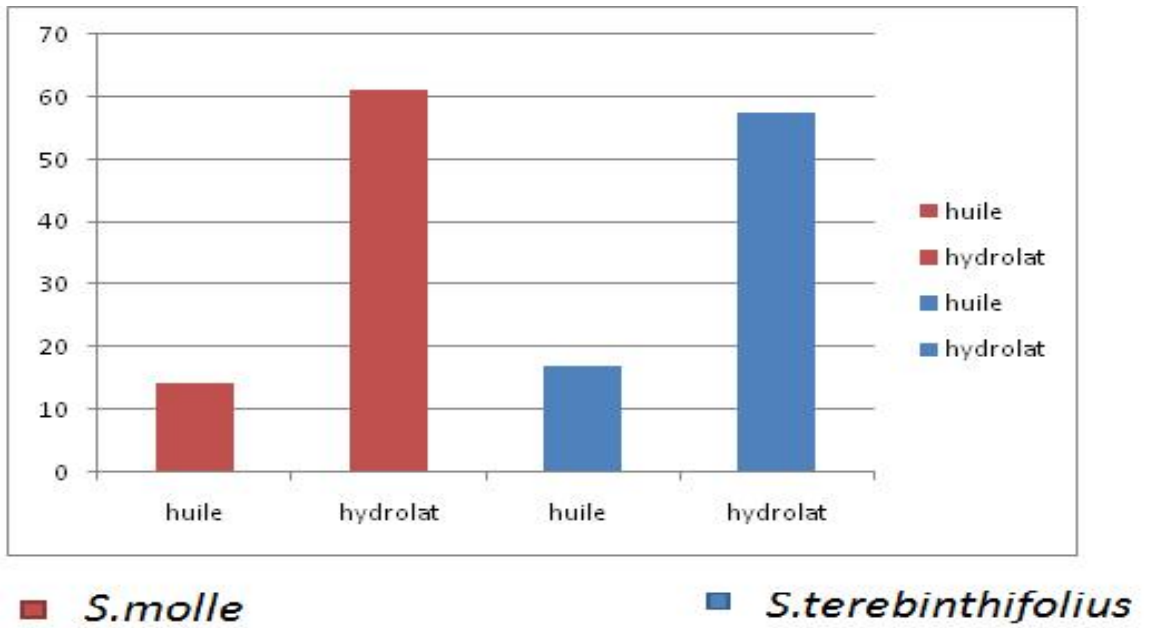


Figure .25: Représentation des valeurs expérimentaux d'activité anti-inflammatoire des huiles et les hydrolats du *S.molle* et *S.terebinthifolius*

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif majeur de ce travail est l'étude des différents extraits de deux espèces botaniques, le *S.molle* et le *S.terebinthifolius*, cette étude expérimentale mène à l'obtention de rendements optimisés de 0,4646% Et de 1.9996 % pour le *S.terebinthifolius* et le *S.molle* respectivement ce qui est conforme à la norme AFNOR-NF T75006, l'analyse des capacités antibactériennes dévoile des résultats importants, les huiles du *S.terebinthifolius* et du *S.molle* donnent des zones d'inhibition respectives de 9,75 mm à 14,75 et de 12,25 mm à 13,5, alors celles des hydrolats sont de 10 mm à 12,25 mm et de 11,75mm à 13 mm.

L'évaluation des activités anti-inflammatoires révèle que parmi les huiles, celui du s. molle (15,31) Est le plus efficace, alors que les hydrolats n'ont pas d'activité anti-inflammatoire en comparant avec l'acide nordihydroguaiarétique comme référence.

Les activités antioxydantes des extraits du *S.terebinthifolius* et du *S.molle* sont de 1,68 et 1,27, pour les huiles et de 0,06 et 0,02 pour les hydrolats, ce qui mène à conclure que l'huile du *S.terebinthifolius* (1,68) est la plus efficace.

Le pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire. Suite aux résultats intéressants obtenus peuvent être exploités pour un sujet de doctorat.

Annexe

La composition chimique des huiles essentielles du *S. molle* et *S. terebinthifolius* :

Compounds	RI	Percentage (%)	
		<i>S. molle</i>	<i>S. terebinthifolius</i>
α -Pinene	936	4.94	5.20
(+)-4-Carene	1011	–	1.77
<i>o</i> -Cymene	1025	2.92	2.30
α -Phellandrene	1032	46.64	22.16
<i>Cis</i> -ocimene	1048	–	0.90
β -Phellandrene	1050	28.53	6.49
γ -Terpinene	1057	–	1.23
β -Cubebene	1390	–	10.06
γ -elemene	1428	–	3.52
γ -Gurjunene	1432	–	0.26
(+)-Aromadendrene	1440	–	1.18
<i>allo</i> -aromadendrene	1462	–	1.20
bicyclogermacrene	1496	6.42	27.11
elemol	1540	2.38	–
δ -cadinene	1578	1.64	2.04
Camphene	955	1.49	–
β -caryophyllene	1420	–	3.19
β -myrcene	992	5.04	0.84
γ -E-Bisabolene	1509	–	3.89
(-)-Globulol	–	–	2.24
<i>o</i> -Menth-8-ene	–	–	1.74
Spathulenol	1578	–	1.85

Préparation de l'inoculum

L'étalon 0.5Mc Farland se prépare en versant 0.5ml d'une solution de BaCl₂ dihydraté à 1% (10g/l) dans une éprouvette de 100ml. Compléter à 100ml avec du H₂ SO₄ à 1% (10ml/l). ainsi préparé, l'étalon doit présenter une densité optique de 0.08 à 0.1 lue à 625nm (~108 UFC /ml).

Les milieux de culture

MH agar additionné de sang (gélose au sang)

- Infusion de viande de bœuf déshydraté 300 g
- Hydrolysate de caséine 17.5 g
- Amidon de maïs 1.5 g
- Sang de cheval lysé 2 à 5%
- Agar Agar 13 g
- Eau distillée 1000 ml

Bouillon nutritif

- Peptone 5 g
- Extrait de viande 1 g
- Extrait de levure 2 g
- Chlorure de Sodium 5 g
- Eau distillée 1000 ml

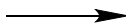
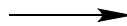
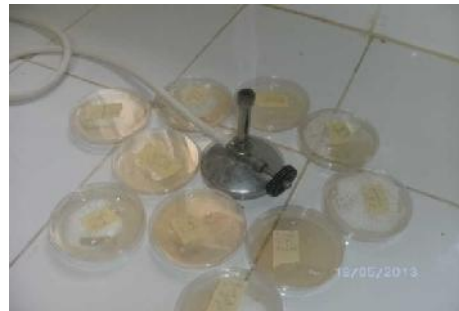
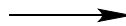
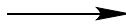
Sabouraud simple

- Peptone 10 g
- Gélose 20 g
- Glucose 20 g
- Eau distillée 1000 ml

Extrait de malt agar

- extrait de malt 30 g
- agar agar 15 g

Les étapes de réalisation d'activité antibactérienne :





Les résultats sont suivant :



:

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- [1] : **Iserin P.**, (2001), encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins 2^{ème} édition Ed Larousse/VUEF, pp13-16, p 250, pp291-296,
- [2] : **Iponga, D.M.**, Cuda, J.P., Milton, S.J. Richardson, D.M. (2008) Insect seed predation in *Schinus molle* (Peruvian pepper tree) differs with rainfall seasonality in South Africa: implications for invasiveness. *African Entomology*, 16, pp.127–131.
- [3] : **Yuequin Z**, Recio MC, Manez S, Giner RM, Cerda-Nicolas M, Rios JL(2003). Isolation of terpenoids and a biflavanone with anti-inflammatory activity from *Schinus molle* fruits. *Planta. Med.*, 69(10): 893-898.
- [4] : **Robert D. Raabe**, (2011) Plants Resistant or Susceptible to *Armillaria mellea*, The Oak Root Fungus Department of Environmental Science and Management University of California, Berkeley.
- [5] : **Quezel P.** et Santa S., (1962), nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Tome I, Centre Nationale de la Recherche Scientifique, p266-295.
- [6]-[14]-[16]: **Amel M. Kamal**, (2008), Mohamed I.S. Abdelhady, Rabab A. El Dib, E.G. Haggag, Mona E. El-Tantawy, Amany A. Sleem³ and Rasha M. Lithy , Polyphenolic contents and biological activity of leaves of *Schinus terebinthifolius* grown in Egypt.
- [7] : **Mohamed S.** Karawya, Mohamed S. Afifi, Ahmed F. Halim and Saleh H. El-Sharkawy (macro and micromorphology of *Schinus terebinthifolius* radd. growing in Egypt part 1: leaves and stems)
- [8] : **Exell AW**, Fernandez A, Wild H (eds.) (1963). Flora zambesiaca. Part 1. London, U.K.: Crown Agents for Overseas Governments and Administrations. 351: 2.
- [9] : **De Lima MRF**, de Souza LJ, dos Santos AF, de Andrade MCC, Sant'Ana AEG, Genet JP, Marquez B, Neuville L, and Moreau N (2006). Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants *J. Ethnopharmacol.* 105 (1-2): 137-147
- [10] : **Molina-Salinas GM**, Pérez-López A, Becerril-Montes P, Salazar-Aranda R, Said-Fernández S,(2006), de Torres NW (200). Evaluation of the flora of northern Mexico for *in vitro* antimicrobial and antituberculosis activity. *J. Ethnopharmacol.* 109(3): 435-41.
- [11] : **Schmourlo G**, Mendonça-Filho RR, Alviano CS, Costa SS (2005). Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *J. Ethnopharmacol.* 96(3): 563-8.

- [12] : **Wild H**, Reviewed by Biegel HM. and Mavi S (1972). A Rhodesian botanical dictionary of African and English plant names. 2nd Ed. National Herbarium, Department of research and special services, Ministry of Agriculture, Harare: 232-233.
- [13] : **Grosjean N.**, (2007) L'Aromathérapie, édition Eyrolles, p 163
- [15]-[27]-[54] : **Yuequin Z**, Recio MC, Manez S, Giner RM, Cerda-Nicolas M, Rios JL(2003). Isolation of two terpenoids and a biflavanone with anti-Inflammatory activity from *Schinus molle* fruits. *Planta. Med.*, 69(10): 893-898.
- [17] : **Jaqueline A.** machado,1marcia a.rebelo,laura i.l. favaro, marta m.d.c. vila, and marli gerenutti,(2012),*in vitro* evaluation of the antimicrobial potential association of *schinus terebinthifolius* raddi and *syzygium aromaticum*.
- [18] –[49]: **A.B. Silva**¹, t. silva, e.s. franco, s.a. rabelo², e.r. lima, r.a. mota², c.a.g. da câmara³, n.t. pontes-filho, j.v. lima-filho,(2009), antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from brazilian pepper tree (*schinus terebinthifolius*, raddi).
- [19]- [20] : **Madhu Babu Kasimala**, bikshal babu kasimala(2010), a review on brazilian pepper plant: *schinus molle*, journal of atoms and molecules an international online journal issn – 2277 – 1247
- [21]: **Patrick Anderson** ,(1992), anacardiaceae (cashew family) *Schinus huingan* Mol., *Schinus molle* L. var. *Huingan* (Mol.), *Schinus molle* var. *areira* (L.) DC, Peace Corps, Bolivia.
- [22] : **Leslie Taylor,2002**, Brazilian Peppertree, from *Herbal Secrets of the Rainforest*, Published and copyrighted by Sage Press, Preprinted 2nd edition © 2002-2003.
- [23] : **Dikshit A**, Naqvi AA, Husain A (1986). *Schinus molle*: a new source of natural fungitoxicant. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51(5): 1085 – 88.
- [24] : **Marongiu, B.**, Porcedda, A.P.S., Casu, R., Pierucci, P. (2004) Chemical composition of the oil and supercritical CO₂ extract of *Schinus molle* L. *Flavour and Fragrance Journal*, 19, pp.554–558.
- [25] : **Diaz C**, Quesada S, Brenes O, Aguilar G, Ciccio JF (2008). Chemical composition of *Schinus mole* essential oil and its cytotoxic activity on tumour cell lines. *Nat.Prod.Res.*, 22(17): 1521-1534
- [26] : **Erazo S**, Delporte C, Negrete R, Garcia R, Zaldivar M, Ittura G, Caballero E, Lopez JL, Backhouse N (2006). Constituents and biological activities of *Schinus polugamus*. *J. Ethnopharmacol.*, 107(3):395-400.

- [28] : **Abdel-Sattar**, E., Zaitoun, A.A., Farag, M.A., El Gayed, S.H., Harraz, F.M. (2010) Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Nat. Prod. Res*, 3, pp. 226–235.
- [29] : **Machado D.G.**, Kaster M.P., Binfaré R., Dias M., Santos A.R.S., Pizzolatti M.G., Brighente I.M.C., Rodrigues A.L.S., 2007. Antidepressant-like effect of the extract from leaves of *Schinus molle* L. in mice: Evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 31: 421-428.
- [30] : **Rhouma A**, Ben Daoud H, Ghanmi S, Ben Salah H, Romdhane M, Demak M(2009). Antimicrobial activity of leaf extracts of *Pistacia* and *Schinus* species against some plant pathogenic fungi and bacteria. *J. Of Plant Pathol.*, 91(2): 339 – 345.
- [31] : **Orwa et** ,2007, Mutua A, Kindy R, Jamnadass R, Simons A (2009). Agroforestry, Database: a tree reference and selection guide version 4.0.
- [32]-[43]-[46]-[47] : **M. Gundidza**1, N. Gweru1, M. L. Magwa, and V. Mmbengwa and A. Samie, The chemical composition and biological activities of essential oil from the fresh leaves of *Schinus terebinthifolius* from Zimbabwe . *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (24), pp. 7164-7169, 15 December, 2009
- [33] : **Ch. Saubade.**, (1981). Indice de réfraction de l'eau pure aux basses températures, pour la longueur d'onde de 5 893 Å. *J. Physique* 42 (1981) 359-366, p 360.
- [34] : Mueller, J.H., and Hinton, J. 1941, *Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture*
- [36]: **Lamamra Mebarka**, 2007, Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb, p57-58.
- [37] : **Neuza Mariko** AymotoHassimotto, Maria Ineä S Genovese et Franco Maria Lajolo. (2005). Antioxidant Activity of Dietary Fruits, Vegetables, and Commercial Frozen Fruit Pulps. *J. Agric. Food Chem*, 53, 2928-2935.
- [38] : **Miliauskas G**, Venskutonis P.R, Beek Van T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85, 231–237.
- [39] : **Oyaizu, M.** (1986). Studies on products of browning reaction: antioxidative activity of products of browning reaction. *Japanese Journal of Nutrition*, 40, 307–315.

- [40] : **Shinde, U.A.**, K.R. Kulkarni, A.S. Phadke, A.M. Nair Dikshit V.J. Mungantiwar and M.N. Saraf, 1999. Mast cell stabilizing and lipoxygenase inhibitory activity of *Cedrus deodara* (Roxb.) Loud. Wood Oil. Indian J. Exp. Biol., 37(3): 258-261
- [41] : SOSA S., TUBARO A., KASTNER U., GLASL S., JURENITSCH J., and DELLA LOGGIA R., (2001), Topical anti-inflammatory activity of a new germacrane derivative from *Achillea pannonica*, *Planta Med.* **67**, 654D-658.
- [42] : **DANG N.H.**, ZHANG X., ZHENG M., SON K.H., CHANG H.W., KIM H.P., BAE K., and KANG S.S., (2005), Inhibitory Constituents against Cyclooxygenases from *Aralia*, *Arch. Pharm. Res.*, **28**, 28-33.
- [44]-[45] : **Asma Ennigroul**, Karim Hosni, Herve Casabianca, Emmanuelle Vulliet, Samira Smiti, (2011), leaf volatile oil constituents of *schinus terebinthifolius* and *schinus molle* from Tunisia.
- [48] : **Onder Deveci**, Artun Sukan, Nedim Tuzun and E. Esin Hames Kocabas, (2010), Chemical composition, repellent and antimicrobial activity of *Schinus molle* L, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(21), pp. 2211-2216, 4 November, 2010
- [50] : **Oussalah M.**, Caillet S., Saucier L. and Lacroix M. (2006) – Antimicrobial activity of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Science* 73: 236-244.
- [51] : **Moleyar V.** and Narassimham P. (1992) – Antibacterial activity of essential oil components. *International Journal of Food Microbiology*, 16: 337-342.
- [52] : **Duke J.** (2009) – Phytochemical and ethnobotanical database. USDA- ARS- NGRI, Beltsville Agricultural research center (<http://www.Ars-grin.gov/duke/>)
- [53] : **Jirayus Woraratphoka**, Kanok-Orn Intarapichet, and Korakod Indrapichate, (2012), Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Six Selected, Regional, Thai Vegetables, *Journal of Toxicological Sciences* 4 (2): 108-117, 2012 ISSN 2079-2050.

Introduction générale

Chapitre I

Description botanique des plantes

Chapitre II

Protocoles d'extractions

Chapitre III

Resultats et discussions

Conclusion générale

Annexe

Références bibliographiques

Résumé :

Le Schinus molle et le schinus terebinthifolius sont des espèces (*Anacardiaceae*), qui contiennent à maturité des huiles essentielles très utilisées en médecine traditionnelle. Pour ce, nous avons mené ce travail expérimental afin d'optimiser leurs rendements d'extraction par hydrodistillation, et afin de savoir leurs efficacité contre l'*Escherichia .coli*, le *staphylocoque*, et le *streptocoque* comme antibactérien, et de savoir son pouvoir anti-inflammatoire, et son pouvoir antioxydant.

A la lumière des résultats obtenus on peut conclure que le *Shinus molle* et le *schinus terebinthifolius* présentent des activités biologiques très important sur les souches étudiées. Comme on peut conclure aussi que le pouvoir antibactériens des hydrolats des plantes est admirable ce qui est original. Les paramètres physicochimiques obtenus sont conforme à normes internationales. De même les huiles et hydrolats obtenus présentent des activités antioxydants de l'ordre de 0.02 à 1.68 mg d'acide ascorbique/g et Les potentiels anti-inflammatoires de 15.31 à 61.04 mg/ml.

Mots clés : *S. molle*, *S. terebinthifolius*, huiles essentielles, activité antibactérienne, activité antioxydant, activité anti-inflammatoire.

Abstract:

The *Schinus molle* and *Schinus terebinthifolius* are species (*Anacardiaceae*), which contain mature essential oil, is widely used in traditional medicine. For this, we conducted the experimental work to optimize their extraction by steam distillation yields and to determine their efficiency against *Escherichia. Coli*, *staphylococcus*, and *streptococcus* as an antibacterial and anti-namely its power inflammatory, and antioxidant.

In light of the results obtained it can be concluded that the *Schinus molle* and *Schinus terebinthifolius* have important biological activities of the strains studied. As we can also conclude that the antibacterial power plant hydrosols is admirable what is original.

Physicochemical parameters obtained are consistent with international standards. Also oils and hydrosols obtained have antioxidant activities around 0.02-1.68 mg ascorbic acid / g and anti-Inflammatory 15.31 to 61.04 mg / ml potential.

Keywords: *Schinus molle* , *Schinus terebinthifolius*, essential oils, antibacterial, antioxidant, anti inflammatory activity.

المخلص:

Schinus molle , *Schinus terebinthifolius* هي (*Anacardiaceae*) هذه العظرية المستخدمة في الطب التقليدي. لهذا أجرينا العمل التجريبي لتحسين التقطير بالبخار. الزيوت و الماء المعطر عن طريق

في ضوء النتائج يمكننا أن نستنتج أن *schinus molle* , *schinus terebinthifolius* لها نشاط بيولوجي هام في السلالات البكتيرية: *Escherichia Coli*, *staphylocoque*, *streptocoque* باعتبارها مضادة للجراثيم لالتهابات،

الفيزيائية التي تم الحصول عليها تتماشى مع المعايير الدولية. كما يمكننا أيضا أن نستنتج أن

للجراثيم لأنها المرة الأولى نؤكد هذا النشاط. أيضا هذه زيوت و التي حصل عليها لها

0.02-1.68 ملغ حمض الاسكوريك / وكذا مضاد لالتهابات 15 31 - 61 04 / .

كلمات المفتاحية: *Schinus molle* : *Schinus terebinthifolius* الزيوت العظرية، مضاد للجراثيم، المضادة لالتهابات.