

**Ministère de l'Enseignement Supérieure de la Recherche Scientifique**  
**Université Kasdi Merbah-Ouargla-**  
**Faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière**  
**Département de Chimie**



## **Mémoire**

Préparé pour l'Obtention du diplôme de  
**Master Académique Chimie des Produits Naturels**  
Présenté par :

**BENNANA SAOUSSEN**

**Thème :**

**Contribution à l'étude des huiles essentielles issues  
des plantes aromatiques :  
Production, Analyse et Application**

**Soutenu le : 07 / 06 / 2021 devant le jury :**

<b>HADJ MAHAMMED Mahfoud</b>	<b>Pr</b>	<b>Univ. K M-Ouargla</b>	<b>Président</b>
<b>HAMMOUDI Roukia</b>	<b>MCA</b>	<b>Univ. K M-Ouargla</b>	<b>Examineur</b>
<b>BOUZIANE Mebarka</b>	<b>MCA</b>	<b>Univ. K M-Ouargla</b>	<b>Encadreur</b>
<b>BELLAOUAR Nacira</b>	<b>Doctrante</b>	<b>Univ. K M-Ouargla</b>	<b>Co-Encadreur</b>

**Année Universitaire : 2020 / 2021**



## الإهداء

**الحمد لله** وكفى والصلاة على الحبيب  
المصطفى وأهله ومن وفى أما بعد الحمد  
لله الذي وفقني لتثمين هذه الخطوة في  
مسيرتي الدراسية بمذكرتي هذه ثمرة  
الجهد والنجاح بفضلته تعالى.

أهديها و أهدي تخرجي

**إلى** من حصد الأشواك عن دربي ليمهد

طريق العلم لي والدي العزيز

و **إلى** التي جعل الله الجنة تحت

أقدامها إلى التي غمرتني بفيض حنانها

إلى التي احترقت لكي تثير لي دربي إلى

التي جاعت لأشبع وسهرت لأنام وتعبت

لأرتاح وبكت لأضحك وسقتني من نبع رقتها

وصدقتها أمي الغالية أطال الله في عمرها

وجعلها تاج فوق رؤوسنا

**إلى** من قاسموني أفراحي وأحزاني

أخوتي، أخواتي: الخير، حسين، عائشة ،

# REMERCIEMENTS

Avant tout, Je remercie Dieu tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail.

En premier lieu, je tiens à remercier et à exprimer ma profonde gratitude au **Dr. Mebarka BOUZIANE** de m'avoir encadré, pour ses caractères personnels et scientifiques exceptionnels, sa patience que j'estime beaucoup, son soutien et surtout pour les conseils et l'encadrement de ce travail, votre grande expérience et votre encouragement ont permis la réalisation de ce mémoire.

Je remercie également le Co-encadreur m<sup>elle</sup> **Nacira BELLAOUAR** de ce mémoire, je suis très sensibles à votre grande disponibilité, à vos encouragements, à la confiance que vous avez bien voulu placer en moi et à toutes vos initiatives à trouver les accompagnements nécessaires à la réalisation de ce mémoire. Merci pour votre soutien inconditionné.

Un grand merci au **Dr BORICHA M'HAMMED**. Je tiens à vous exprimer mes profondes reconnaissances et respect.

Je remercie vivement **Pr Mahfoud HADJ MAHAMMED** et **Dr Roukia HAMMOUDI**, membres du jury de nous avoir honoré de juger ce travail.

J'exprime mes vifs remerciements au **Pr Aissa HADJ HAMD** de m'avoir accueillie dans le laboratoire "*Biogéochimie Des milieux Désertiques*" à l'université Kasdi Merbah-Ouargla. Encore merci pour vos précieux conseils, pour m'avoir facilité l'intégration dans le milieu de la pratique.

Je remercie également le directeur du CRAPC-Ouargla, **Dr Belkhalfa Hakim** de m'avoir permis l'accès aux laboratoires de la plate forme et de réaliser une partie du travail expérimentale. Et bien sûr à tous les chercheurs des équipes du Labo BMD et CRAPC pour leurs gentillesse, leurs conseils précieux et leurs discussions fructueuses.

*Mes remerciements s'adresseront avec respect à tous mes enseignements, mes collègues de promotion 2020-2021 et tous et toutes personnes qui a participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail....*

## *Liste des abréviations*

<b>CG/SM :</b>	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
<b>d</b>	Densité.
<b>R% :</b>	Rendement exprimé en pourcentage (%).
<b>HEs :</b>	Huiles essentielles.
<b>tr :</b>	Temps de rétention.
<b>Tr (n):</b>	Temps de rétention des ces alcanes.
<b>Tr(i) :</b>	Temps de rétention du produit considéré.
<b>Ir</b>	Indice de rétention.
<b>DMSO</b>	Diméthyle sulfoxyde

## *Liste des Schéma*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Schéma de l'appareillage d'extraction sous micro-ondes.	<b>20</b>
<b>02</b>	Schéma simplifié d'un extracteur au CO <sub>2</sub> .	<b>20</b>
<b>03</b>	Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse.	<b>22</b>
<b>04</b>	Schéma du système de couplage GC-MS	<b>24</b>
<b>05</b>	Schéma du Protocole expérimental	<b>29</b>

## *Liste des figures*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Représentation de la croissance des racines de <i>Cyperus rotundus</i> .L	<b>04</b>
<b>02</b>	Représentation des racines de <i>Cyperus rotundus</i> .L	<b>05</b>
<b>03</b>	Cycle de développement de <i>C. rotundus</i> .L	<b>06</b>
<b>04</b>	Distribution géographique de <i>C.rotundus</i> .	<b>07</b>
<b>05</b>	Quelque composé chimique caractérisé dans la plante	<b>09</b>
<b>06</b>	Activités pharmacologiques de <i>C.rotundus</i> .L	<b>10</b>
<b>07</b>	Exemples de structures chimiques de quelques monoterpènes	<b>13</b>
<b>08</b>	Exemples de structure chimique de quelques sesquiterpènes.	<b>14</b>
<b>09</b>	Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane.	<b>14</b>
<b>10</b>	Montage type clevenger utilisé par l'hydrodistillation des HEs.	<b>18</b>
<b>11</b>	Principe de la séparation ionique par spectromètre de masse quadripolaire.	<b>23</b>
<b>12</b>	Exemple d'un chromatogramme de la série des n- alcanes.	<b>25</b>
<b>13</b>	Méthodes de diffusion sur disque.	<b>27</b>
<b>19</b>	Chromatogramme d'analyse par GC-MS (échantillon HEs2).	<b>42</b>

## *Liste des photos*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Photo de la plante <i>Cyperus rotundus</i> .L.	<b>04</b>
<b>02</b>	Photo du dispositif de l'entraînement à la vapeur.	<b>18</b>
<b>03</b>	Photo du dispositif de l'expression à froid.	<b>19</b>
<b>04</b>	Séchage du matériel végétal.	<b>31</b>
<b>05</b>	Extraction des HE par Clevenger.	<b>34</b>
<b>06</b>	Photo représentant les couleurs des 3 extraits obtenus.	<b>40</b>
<b>07</b>	Appareil GC-MS (TQ 8040 NX) utilisé.	<b>42</b>
<b>08</b>	Résultats de l'activité antibactérienne.	<b>46</b>

## *Liste des Tableaux*

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Classification systématique de la plante	<b>05</b>
<b>03</b>	L'organe de stockage dans quelque famille végétale.	<b>12</b>
<b>04</b>	Les souches bactéries et certaines maladies qu'elles provoquent.	<b>28</b>
<b>05</b>	Les effets secondaires de la plante	<b>39</b>
<b>06</b>	Screening chimique sur la plante	<b>40</b>
<b>07</b>	caractéristiques organoleptiques des HEs1 et HEs2.	<b>41</b>
<b>08</b>	Les rendements et de densité de HEs1 et HEs2.	<b>41</b>
<b>09</b>	Caractérisation de quelque composé dans HEs1.	<b>43</b>
<b>10</b>	Evaluation de l'efficacité antibactérienne de HEs1 et HEs2.	<b>46</b>

# Sommaire

	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
	Dédicaces.	<b>I</b>
	Remerciements.	<b>II</b>
	Liste des abréviations.	<b>III</b>
	Liste des schémas	<b>III</b>
	Liste des figures.	<b>IV</b>
	Liste des tableaux.	<b>V</b>
	Liste des photos.	<b>V</b>
	Introduction.	<b>1</b>
<b><i>Partie théorique</i></b>		
<b><i>Chapitre I: Généralités botaniques</i></b>		
<b>I.1</b>	L'espèce étudiée	<b>03</b>
<b>I.1.1</b>	La famille Botanique	<b>03</b>
<b>I.1.3</b>	Description Botanique.	<b>04</b>
<b>I.1.4</b>	La systématique botanique.	<b>05</b>
<b>I.1.5</b>	Physiologie de la croissance et du développement.	<b>05</b>
<b>I.2</b>	La répartition géographique.	<b>06</b>
<b>I.3</b>	Utilisations traditionnelles.	<b>07</b>
<b><i>Chapitre II: Généralités sur les huiles essentielles (HEs)</i></b>		
<b>II.1</b>	Définition.	<b>11</b>
<b>II.2</b>	Le rôle écologique des HEs.	<b>11</b>
<b>II.3</b>	Localisation des HEs dans les plantes.	<b>12</b>
<b>II.4</b>	Composition chimique des HEs.	<b>12</b>
<b>II.5</b>	Utilisation des huiles essentielles.	<b>15</b>
<b>II.6</b>	Propriétés physico-chimiques des HEs.	<b>16</b>
<b>II.7</b>	Toxicité des huiles essentielles.	<b>16</b>
<b>II.8</b>	Extraction des HEs.	<b>17</b>
<b>II.8.1</b>	Choix de la méthode d'extraction.	<b>17</b>



<b>II.8.2</b>	Méthodes conventionnelles d'extraction.	<b>17</b>
<b>II.8.2.1</b>	Hydrodistillation.	<b>17</b>
<b>II.8.2.2</b>	Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.	<b>18</b>
<b>II.8.2.3</b>	Expression à froid.	<b>18</b>
<b>II.8.2.4</b>	Extraction par solvant organique.	<b>19</b>
<b>II.8.3</b>	Méthodes innovantes d'extraction.	<b>19</b>
<b>II.8.3.1</b>	Extraction assistée par micro-ondes.	<b>19</b>
<b>II.8.3.2</b>	Extraction par fluide à l'état supercritique.	<b>20</b>
<b>II.9</b>	Conditions de conservation et de stockage.	<b>21</b>
<b>II.10</b>	L'analyse des HEs par la chromatographie en phase gazeuse.	<b>21</b>
<b>II.10.1</b>	Définition.	<b>21</b>
<b>II.10.2</b>	Appareillage.	<b>21</b>
<b>II.10.3</b>	Procédure de caractérisation par GC-MS.	<b>24</b>
<b>II.11</b>	Tests antimicrobiens.	<b>26</b>
<b>II.11.1</b>	La méthode de tests antibactériens.	<b>26</b>
<b><i>Partie Expérimentale</i></b>		
<b><i>Chapitre I : Méthodes et matériel</i></b>		
<b>I-1</b>	Méthodes et matériel.	<b>28</b>
<b>I-2</b>	Protocol expérimental.	<b>28</b>
<b>I-5</b>	Préparation du matériel végétal.	<b>31</b>
<b>I-6</b>	Tests phytochimiques préliminaires.	<b>32</b>
<b>I-7</b>	Extraction des HEs.	<b>33</b>
<b><i>Chapitre II : Résultats et discussion</i></b>		
<b>II-1</b>	Enquête ethno-pharmacologique.	<b>36</b>
<b>II-2</b>	Tests phyto-chimique préliminaires.	<b>40</b>
<b>II-3</b>	Extraction des HEs.	<b>41</b>
<b>II-4</b>	Analyse de HEs1 et HEs2 par GC-MS.	<b>42</b>
<b>II-5</b>	Activités antibactérienne des HEs.	<b>46</b>
	Conclusion.	<b>49</b>
	Références bibliographiques.	<b>50</b>
	<b>Annexes.</b>	<b>57</b>



# INTRODUCTION

## Introduction

Durant des siècles et même des millénaires, nos ancêtres ont utilisé les plantes pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. De génération en génération, ils ont transmis leur savoir et leurs expériences en s'efforçant quand ils le pouvaient de les consigner par écrit. Ainsi, même actuellement, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne.[1]

L'utilisation des plantes médicinales sous différentes formes brutes ou préparées s'est considérablement élargie. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que 80% de la population africaine ont toujours recours à la médecine traditionnelle pour les soins sanitaires.[2]

L'Algérie, pays connu par ses ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte, environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques. [3]

Le Sahara Algérien qui s'étend sur les 2/3 de la superficie du pays avec plus de deux millions de Km<sup>2</sup> recèle des ressources naturelles qui méritent une grande attention. La préservation de cet écosystème passe par l'amélioration des connaissances et la conservation de la diversité biologique comprenant la flore. Celle-ci regroupe particulièrement les plantes spontanées qui ont développé sur des milliers d'années des qualités et des adaptations qui s'harmonisent parfaitement avec les conditions déjà extrêmes de ces milieux. [4]

Notre étude est échelonnée à travers le mémoire sur trois parties:

- Le premier chapitre consiste en une synthèse bibliographique dans laquelle est présentée l'aspect botanique et phytochimique de la plante et leur utilisations traditionnelles et médicinales ainsi que quelques études antérieures sur cette plante comme les activités biologiques (antimicrobienne, antioxydant, antidiabétique ... etc).
- Le deuxième chapitre consiste à un aperçu général sur les huiles essentielles telle que : définition, propriété physico-chimique, toxicité, et aussi l'intérêt des huiles essentielle industriel et le type d'analyse (GC-MS)
- Le troisième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :
  - Une enquête ethnobotanique, en vue d'évaluer l'intérêt et l'usage de cette plante
  - Des tests phytochimiques préliminaires mettant en évidence la présence de familles de métabolites secondaires.
  - L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation avec Clevenger.

## *Introduction*

- L'analyse des extraits par GC-MS.
- Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles par la méthode diffusion sur disque.
- Dans le dernier chapitre, nous présenterons les résultats obtenus et leur discussion.

A la fin le travail est achevé par une conclusion générale.

**PARTIE**

**THEORIQUE**

# CHAPITRE II

## DESCRIPTION BOTANIQUE

### **Introduction**

Les plantes ont toujours été une source commune de médicaments, que ce soit dans leurs formes de préparation traditionnelles ou de principes actifs purs. C'est bien avant que les plantes médicinales traditionnelles existaient avant l'application des méthodes scientifiques modernes aux soins de santé; et même aujourd'hui la majorité de la population mondiale dépend des soins de santé à base de plantes. [5]

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. [6]

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur.

Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide. [7]

### **I-1- *Cyperus rotundus***

#### **I-1-1-La famille Cyperaceae:**

Les Cyperaceae regroupent une famille de plantes à fleurs graminoides monocotylédones reconnues comme carex, elles ressemblent superficiellement à des herbes. La famille est très riche avec environ 5500 espèces décrites et vers 109 genres dans le monde. [8]

#### **I-1-2-Nom vernaculaire:[9,10]**

A travers le monde, la plante est nommée par une variété de noms, à titre d'exemples nous citons:

- **Arabique:** Sa'ed
- **Inde:** Nagarmotha, Motha
- **English:** Coco-grass, Ground-almond, Nut-grass
- **Italien:** Zigolo infestante
- **Français:** Souchet rond
- **Japonais:** Hamasuge
- **Espagnol:** Castañuela, Cipero, Coquito, Juncia real



**I-1-3-Description botanique:**

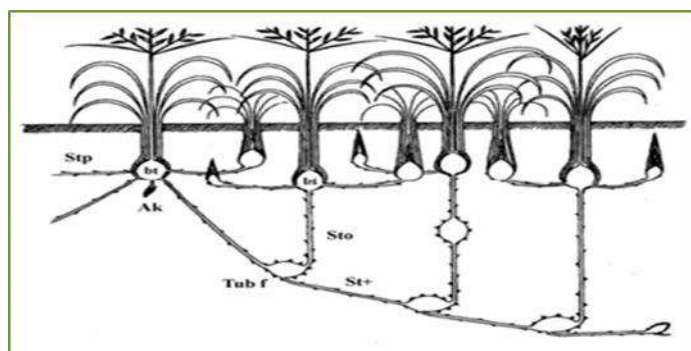
*Cyperus rotundus* est une vivace qui peut atteindre une hauteur de 40 cm. La plante est constituée d'une tige fine verte foncée portant des feuilles longues et pointues, d'une largeur de 1/6 à 1/3 de pouce. Alors que la tige de la fleur a un triangle en coupe transversale, la fleur mesure 2 à 8 pouces de longueur. [9]



**Photo 01:**Photo de la plante *Cyperus rotundus.L* (Region de Ouargla, 2021)

En atteignant la surface, un rhizome peut regonfler en une petite structure arrondie appelée (bulbe basal), à partir de laquelle naissent des pousses, des racines et d'autres rhizomes. [11]

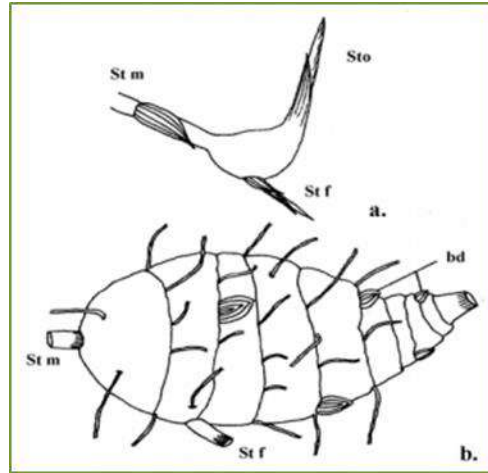
Les racines sont fasciculées, simples, filiformes, fibreuses et peuvent pénétrer à plus d'un mètre de profondeur. Elles prennent naissance dans les tissus endodermiques du tubercule et du bulbe tubérisé. [12]



**Figure 01:** Représentation de la croissance des racines de *Cyperus rotundus .L* [12]

## Chapitre I Description Botanique

Les tubercules mesurent environ 1 à 3,5 cm de long et sont blancs et succulents lorsqu'ils sont jeunes, devenant ensuite bruns et durs. La forme des tubercules donne à l'herbe à noix son nom scientifique « rotundus » ce qui signifie rond. [11]



**Figure 02:** Représentation des racines de *C. rotundus* .L [12]

### **I-1-4-La systématique botanique:[10]**

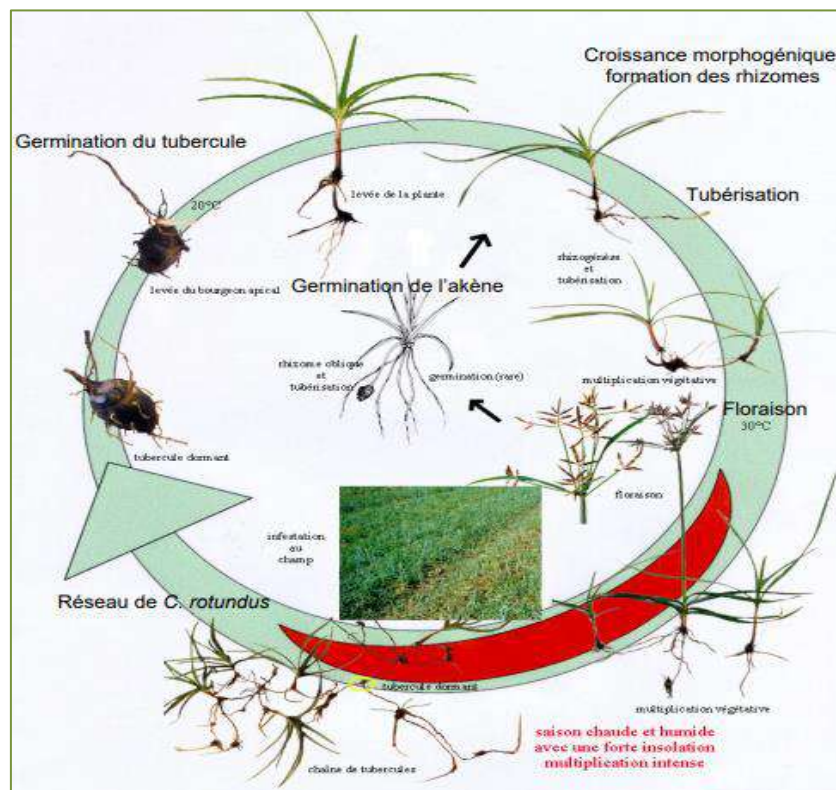
**Tableau 01 :** Classification systématique de *C. rotundus*.L

<b>Kingdom</b>	Plantae
<b>Subkingdom</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Superdivision</b>	Spermatophyta
<b>Class</b>	Liliopsida
<b>Subclass</b>	Commelinidae
<b>Order</b>	Cyperales
<b>Famille</b>	Cyperaceae
<b>Genus</b>	<i>Cyperus</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Cyperus rotundus</i> .L

### **I-1-5-physiologie de la croissance et du développement:**

*C. rotundus* reste une plante à cycle court. Dans des conditions chaudes, humides et ensoleillées, la germination, la croissance morphogénique, la tubérisation, la floraison de *C. rotundus* mènent très rapidement à l'élaboration d'un réseau souterrain difficile à maîtriser. [12]

La plante a besoin de soleil et de conditions humides, cependant elle pousse dans les sols sableux, ainsi que dans les champs limoneux humides et dans les zones tropicales telles que les forêts tropicales. Elle est particulièrement répandue dans le sud de l'Inde, où son huile essentielle est utilisée en parfumerie.[9]



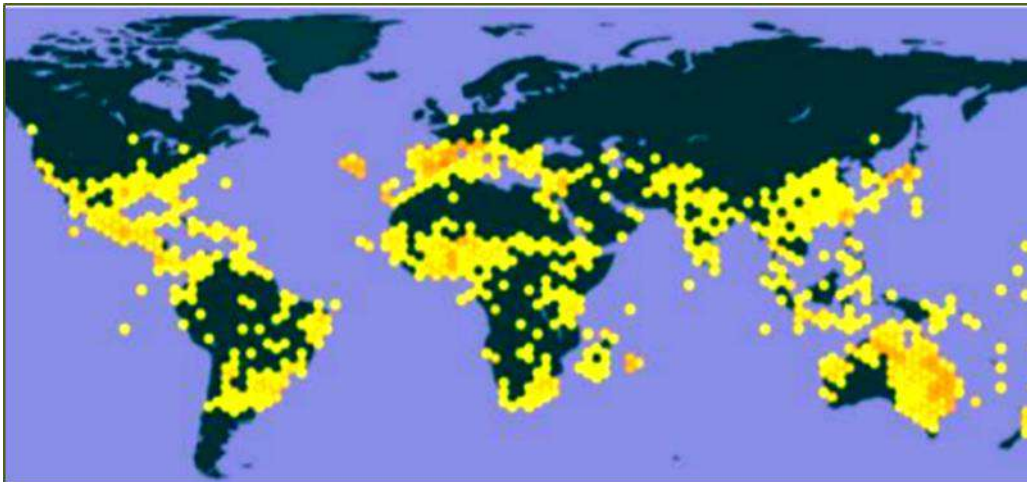
**Figure 03:** Cycle de développement de *C. rotundus* L

## **I-2-La répartition géographique:**

### **I-2-1-La répartition géographique dans le monde:**

*C. rotundus* est originaire d'Afrique, Algérie, Égypte, Libye, Maroc, Tunisie, Rwanda, Tchad, Djibouti, Érythrée, Éthiopie, Somalie, Soudan, Kenya, Tanzanie, Ouganda. De l'Europe méridionale et centrale et Asie du Sud. En Inde, l'espèce est distribuée dans tout le pays et à Ceylan à 1800m du niveau de la mer.[5]

*C. rotundus* se propage et se développe dans la plupart des types de sols, altitudes, niveaux d'humidité atmosphérique, humidité du sol et pH, et elle peut également vivre paisiblement à la température la plus élevée connue en agriculture, et on la trouve dans environ 100 pays, dont l'Algérie, , comme indiqué dans la **figure 04**.



**Figure 04:**Distribution géographique de *C.rotundus*. L

### **I-3-Utilisations traditionnelles:**

*Cyperus rotundus* est utilisé pour les spasmes gastro-intestinaux, les troubles gastriques, les nausées, les vomissements, parasites intestinaux, intoxication alimentaire, indigestion et irritation intestinale. Il est également utilisé pour traiter les fièvres, pour traiter les plaies, les ecchymoses et les anthrax, le paludisme, la toux, la bronchite, les calculs rénaux et vésicaux, le ténesme urinaire, aménorrhée, dysménorrhée, lactation déficiente, perte de mémoire, piqûres d'insectes, dysurie, bronchite, infertilité, cancer du col de l'utérus et troubles menstruels, tandis que les huiles aromatiques sont utilisées de parfums et d'éclaboussures.[13,14]

Selon l'Ayurveda, les rhizomes de *C. rotundus* étaient considérés comme astringents, diaphorétiques, diurétiques, analgésique, antispasmodique, aromatique, carminatif, antitussif, emménagogue, litho lytique, sédatif, stimulant, vermifuge, tonique et antibactérien. [15]

Les Arabes utilisaient diverses préparations de *C. rotundus* depuis des siècles dans les parfums, épices et médicaments traditionnels, ainsi qu'en Inde, en Chine et en Afrique. [16]

**I-3-1- Modes d'utilisation:**

La tubercule de *C. rotundus* est l'une des plus anciennes parties connues des plantes médicinales utilisées pour le traitement de la dysménorrhée et des irrégularités menstruelles.[17].Les différentes parties de la plante sont utilisées sous différentes formes pour diverses applications traditionnelles. Le tableau 02 expose quelques pratiques coutumières :

**Tableau 02 :** Parties, préparations et applications traditionnelles à partir de *C. rotundus*.

Partie	Préparation	Application	Réf.
<b>Tubercules</b>	Infusion, Soupe Saupoudrage	fièvre, diarrhée, dysenterie, dyspepsie, vomissements, choléra, Ulcère de propagation	[13,15]
<b>Rhizomes</b>	Drop ayurvédique (appelé musta)	anti-dypsique, destructeur démangeaisons et galacto-depurant	[16]
<b>Rhizomes</b>	Mélangé avec le lait de vache	Débilité mentale et épilepsie	[1]
<b>Tubercule</b>	Poudre	Polydipsie dans le diabète	[14]
<b>Racines</b>	Décoction	Lactation	[1]
<b>Racine</b>	L'huile essentielle	Conjonctivite	[1]
<b>Racines</b>	/	Chyavanpra shneutraceutique ayurvédique anti-âge	[17]

**I-4- Travaux scientifiques antérieurs:**

**I-4-1- Travaux phytochimiques:**

Des études phytochimiques ont révélé que la plante contenait des flavonoïdes, des tanins, des glycosides, furochromones, monoterpènes, sesquiterpènes, sitostérol, alcaloïdes saponines, terpénoïdes, huiles essentielles, amidon, glucides, protéines et acides aminés.[5] et tanins. [18]

*C.rotundus* renferme une huile essentielle qui fournit l'odeur caractéristique et le goût de l'herbe. Elle est composée principalement d'hydrocarbures sesquiterpène, époxydes, cétones, monoterpènes et alcools aliphatiques. D'autres constituants incluent la cétone cyperadione et les monoterpènes cineole, camphène et limonène. Il a également été démontré que *C.rotundus* contient des triterpènes divers, y compris l'acide oléotolique et

## Chapitre I Description Botanique

le sitosterol, ainsi que les flavonoïdes, les sucres et les minéraux. [19,20]

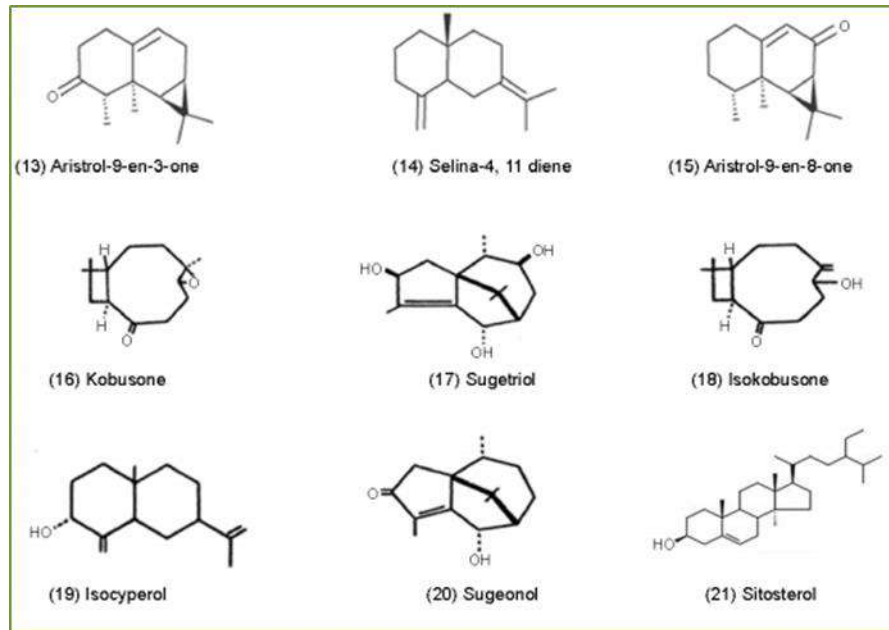


Figure 05 : Quelque composé chimique caractérisé dans la plante.

### I-4-2-Travaux biologiques:

Un certain nombre d'activités pharmacologiques et biologiques ont été signalés pour cette plante. [21]

Certaines entre elles sont regroupées dans la figure 06.

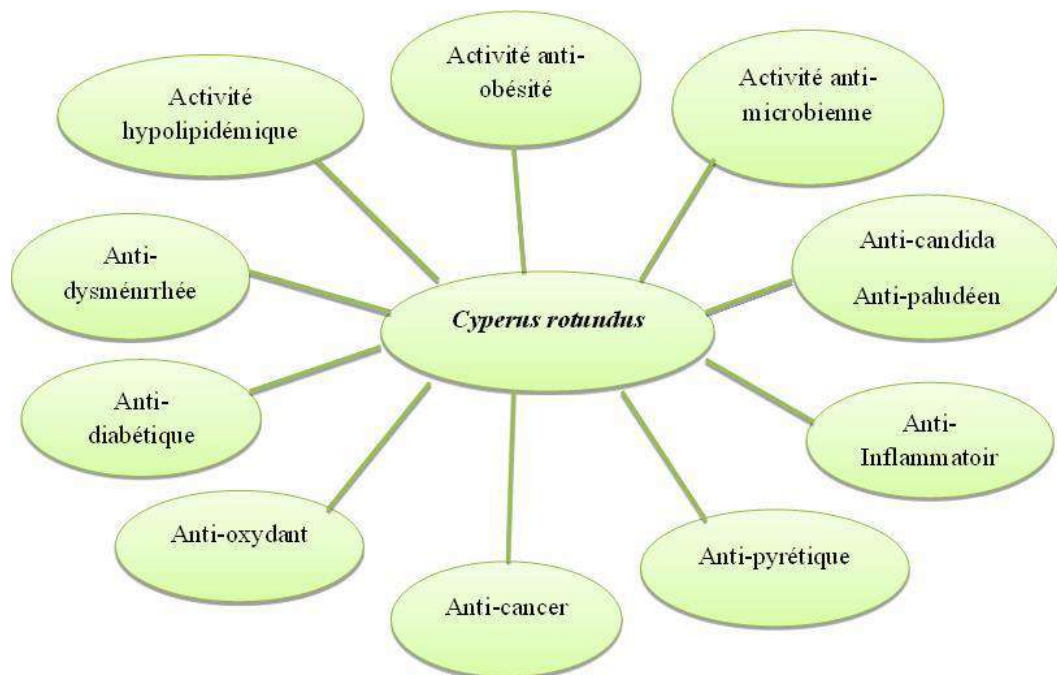


Figure 06: Activités pharmacologiques de *C. rotundus* .L [10, 21,22]

**CHAPITRE II**  
**GENERALITES**  
**SUR LES HUILES**  
**ESSENTIELLES**

### **II-1-Définition:**

Selon l'Association Française de la Normalisation « AFNOR » en 1987 une huile essentielle est défini par :

«Un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques». [23]

«Cette définition paraît restrictive car elle exclut de nombreux procédés d'extraction très utilisés sur les marchés de la pharmacie, de l'industrie cosmétique et agroalimentaire. Une définition encore plus large a donc été donnée :

Une huile essentielle est constituée de nombreuses substances chimiques peu solubles dans l'eau. Dans la plante, celles-ci résultent pour la plupart du métabolisme des terpènes et de composés en C6-C3 et sont localisées dans des organes où elles sont biosynthétisées (papilles, cellules et poils, poches, canaux). Les huiles essentielles sont obtenues par distillation à la vapeur, par hydrodistillation (entraînement à la vapeur d'eau) ou encore dans des cas particuliers, par pression mécanique (ex: agrumes) par dissolution dans des lipides (enfleurage pour des organes délicats tels que la fleur de Jasmin) et plus fréquemment maintenant dans des gaz supercritiques (dioxyde de carbone)». [24]

### **II-2-Le rôle écologique des huiles essentielles:**

Les plantes les utilisent pour se protéger contre les virus et tous pensent qu'il s'agit d'hormones végétales. D'autres considèrent que les huiles sont des messagers entre sorte de parasites et de microbes. [25]

Leur rôle d'inhibiteur de la germination a été prouvé expérimentalement ainsi que leur rôle dans la protection contre les prédateurs et l'attraction des pollinisateurs. [26]

Des travaux ont montré que les monoterpènes et les sesquiterpènes peuvent jouer des rôles importants dans la relation des plantes avec leur environnement. Par exemple, le 1,8-cinéole et le camphre inhibent la germination des organes infectés ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes). [27, 28]



### II-3-Localisation des huiles essentielles dans les plantes:

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. [29]

La capacité à accumuler les HEs est cependant la propriété de certaines familles de plantes réparties au sein de l'ensemble du règne végétal. [30]

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : [31]

**Tableau 03 :** L'organe de stockage dans quelque famille végétale

Famille	Ex. espèce	Organe de stockage	Réf.
<b>Apiaceae</b>	Coriandre	Ecorces	[32, 33, 34,35]
<b>Asteraceae</b>	Camomille	Fleurs	
<b>Geraniaceae</b>	Géranium	Rose	
<b>Lamiaceae</b>	Menthe	Racines	
<b>Lauraceae</b>	Cannelle	Feuilles	
<b>Myrtaceae</b>	Eucalyptus	Rose	
<b>Oleacea</b>	Gasmin	Feuilles	
<b>Rutacea</b>	Citron	Feuilles	
<b>Zingiberaceae</b>	Gingembre	Rhizomes	

Seules les parties les plus concentrées et sécrétées sont récoltées dans la période de production optimale, par exemple: [36,37]

- ✓ Avant la floraison: menthe
- ✓ Pendant la floraison: lavande
- ✓ Après la floraison: plantes à graines
- ✓ Après la rosée du matin: fleurs fragiles

### II-4- Composition chimique des huiles essentielles (HEs):

Différents facteurs font varier la composition des huiles essentielles :

- Des facteurs intrinsèques :
  - Variation des différentes parties de la plante. [29]

- Le cycle de vie de la plante au cours des saisons, des mois, voire des journées .  
[38]
  - Des facteurs extrinsèques, dont les plus importants sont en relation avec le terrain dans lequel sont cultivées les plantes : [39]
- La nature du sol.
- La température.
- L'humidité.

Généralement, les HEs sont des mélanges complexes et variables. Leur analyse montre que certaines d'entre elles sont constituées d'un composant nettement majoritaire ( $\geq 50\%$ ), qui constitue son chemotype, à côté d'une dizaine d'autres minoritaires. D'autres, par contre, sont particulièrement complexes et peuvent contenir plus d'une centaine de composés [40 ,41]. Majoritairement, ils appartiennent à deux catégories: [40, 42,43]

- ✓ Les terpenoïdes, dont les mono et sesquiterpènes constituent les principaux composants.
- ✓ Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents.

#### II-4-1- Groupe des terpénoïdes:

##### ➤ Les monoterpènes :

Ce sont des hydrocarbures aliphatiques, saturés ou insaturés. Ils peuvent être acycliques ou cycliques et même aromatiques, aussi, ils peuvent être fonctionnalisés. [44]

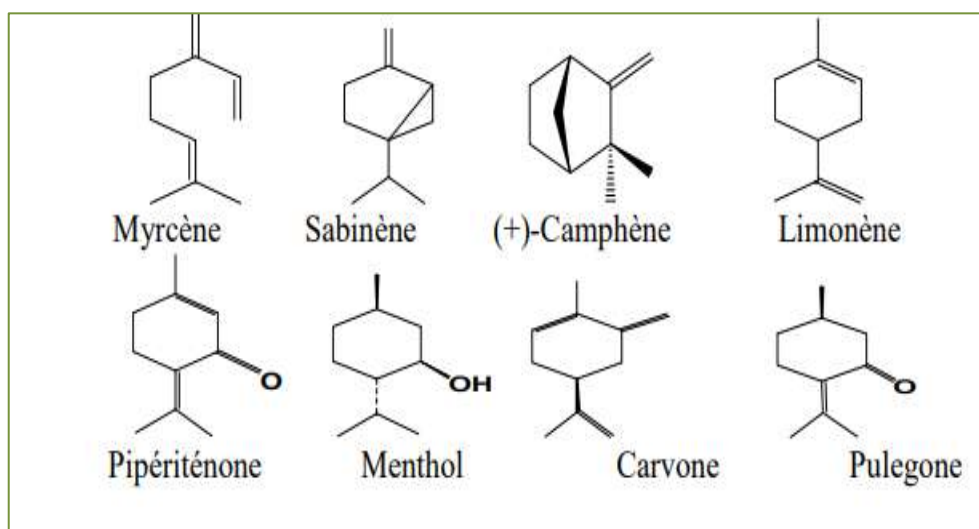
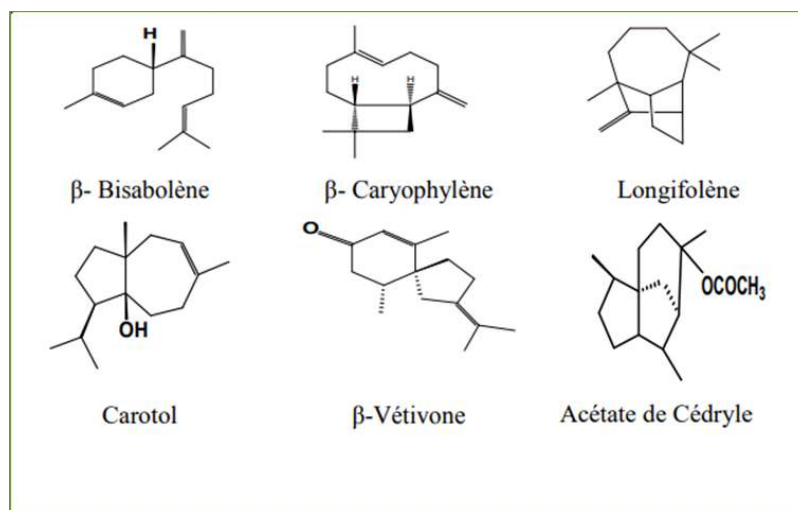


Figure 07: Exemples de structure chimique de quelques monoterpènes

➤ **Les sesquiterpènes : [44,45]**

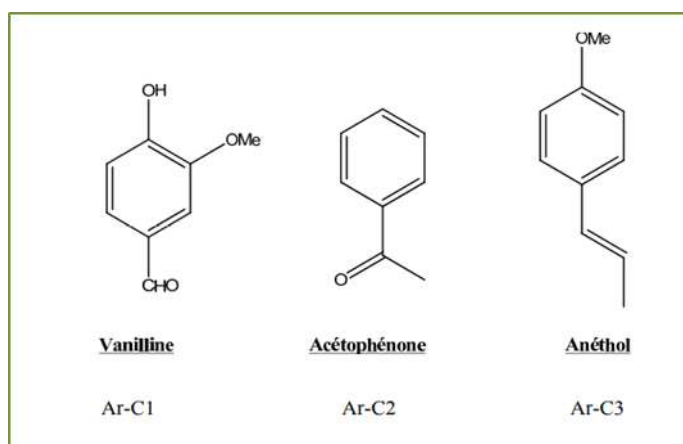
Les variations structurales dans cette série est très importante. Ci-dessous sont cités quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des *HEs*



**Figure 08 :** Exemples de structure chimique de quelques sesquiterpènes.

➤ **Les phényles propanes :**

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc. [31, 46,47]



**Figure 09:** Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane

## **II-5-Utilisations des huiles essentielles:**

Le champ d'application des huiles essentielles est vaste, mais quatre principaux secteurs de leur utilisation à une échelle industrielle peuvent être retenus : [48,49]

- le secteur de l'industrie alimentaire
- le secteur de l'industrie des parfums et cosmétique
- le secteur de l'industrie pharmaceutique
- le secteur de l'industrie chimique

### **II-5-1- L'industrie alimentaire:**

Dans l'alimentation, les *HEs* sont utilisées comme aromates ou épices. C'est le cas des essences de girofle, de gingembre, de vanille, de basilic, etc. [41]

On note l'intégration de ces dernières dans : les boissons, les confiseries, les produits laitiers ou carnés, les soupes, les sauces, ainsi que la nutrition animale. [26]

### **II-5-2- L'industrie des parfums et cosmétique:**

L'industrie de la parfumerie et de la cosmétologie est le principal débouché des huiles essentielles totales ou de certains de leurs constituants purs. [41] A cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont aussi consommateurs, même si le coût élevé des produits naturels conduit à privilégier parfois les produits synthétiques. [23]

### **II-5-3-L'industrie pharmaceutique:**

La médecine et l'industrie pharmaceutique utilisent les huiles essentielles en raison de leurs diverses propriétés: bactériostatique, bactéricide, vermicide, fongicide, antiseptique, insecticide, etc. [48,49]

Certaines drogues à huiles essentielles sont réputées efficaces pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux. L'amélioration de certaines insomnies et de troubles psychosomatiques divers est également notée .De nombreuses crèmes, pommades à base d'huiles essentielles, sont destinées à soulager les entorses, courbatures ou claquages musculaires en augmentant la microcirculation, induisent une sensation de chaleur et dans certains cas une légère anesthésie locale. [26]

L'industrie chimique extrait de certaines huiles essentielles des matières premières qu'elle transforme en produits chimiques plus élaborés ou directement utilisables pour la synthèse de principes médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes etc. [41].C'est le cas par exemple de l'essence de pin, riche en  $\alpha$ -pinène, qui, en plus de son utilisation comme solvant, entre dans la synthèse du camphre. [49]

## II-6-Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles:

Du point de vue propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène, dont les principales caractéristiques sont [23, 31, 38,44]:

- liquides à température ambiante.
- volatils (s'évaporent très rapidement).
- très rarement colorées.
- une densité faible pour les *HEs* à forte teneur en monoterpènes.
- solubles dans les alcools, mais peu solubles dans l'eau
- très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser (formation de résines).
- douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés.

## II-7- Toxicité des huiles essentielles:

Les huiles essentielles(HEs) doivent être prises à bon escient et à doses adaptées afin d'éviter de dommageables effets secondaires, parce que l'efficacité et la toxicité ce n'est souvent qu'une question de quantité. [46,51] La toxicité provient de la présence de certaines molécules aromatiques pour lesquelles des risques ont été identifiés suite à des tests. Une famille biochimique particulière, celle des cétones, est ici particulièrement visée: elle présente une neurotoxicité et un risque abortif comme c'est le cas de la thujone ; Aussi celle des phénols à risque hépatotoxique. Une autre toxicité provient des HE contenant des furocoumarines et pyrocoumarines.Leur application cutanée, ou même leur prise par voie orale, peut provoquer, sous l'effetprolongé du soleil, des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la carcinogénèse etl'accélération de la mélano-genèse, etc[50,51].

Cependant, comme pour un médicament, il existe pour chaque huile essentielle un équilibre entre le bénéfice et le risque qui doit aussi être envisagé en fonction du sujet.

[47]

## II-8- Extraction des huiles essentielles:

### II-8-1- Choix de la méthode d'extraction:

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte. [7]

### II-8-2-Méthodes conventionnelles d'extraction:

Plusieurs procédés sont utilisés pour extraire les huiles essentielles des plantes. Chaque procédé possède plusieurs variantes technologiques en fonction du matériel végétal à traiter [52, 53,54].

#### II-8-2-1- Hydrodistillation:

L'hydrodistillation réside dans l'utilisation d'un système de cohobation permettant une distillation en continu sans modifier la quantité en eau du ballon. Elle consiste à immerger la matière première dans un ballon d'eau et l'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La solution aqueuse chargée d'HEs serait vaporisée et entraînée sous forme d'azéotrope. Au laboratoire, le Clevenger est le système utilisé pour ce type d'extraction, ou bien un montage modifié peut lui remplacer dans le cas échéant. [31, 44, 56,57]

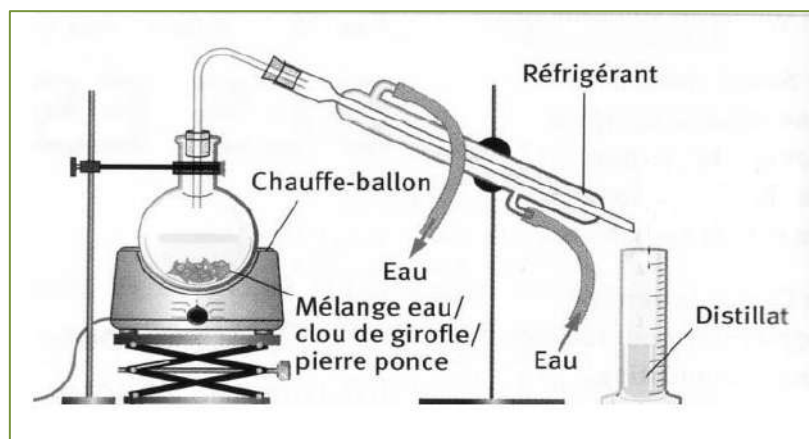


Figure 10 : Montage Type Clevenger utilisé pour l'hydrodistillation des HEs

### II-8-2-2-Extraction par entraînement à la vapeur d'eau:

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HEs. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). [57,58]

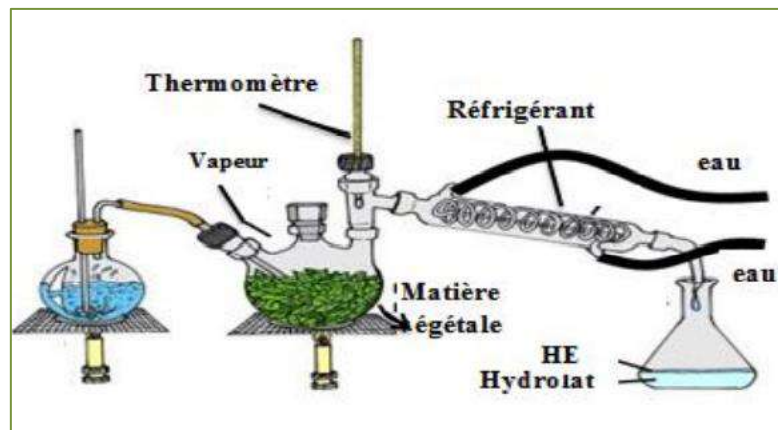


Photo 02: Photo du dispositif de l'entraînement à la vapeur.

### II-8-2-3-Expression à froid:

Cette technique d'extraction est utilisée pour l'obtention des essences d'agrumes ou hespéridés : bergamote, citron, mandarine, etc. L'huile essentielle est contenue dans le zeste, partie superficielle de l'écorce de ces fruits. Autrefois, la méthode dite « à l'écuelle » consistait à frotter le fruit, manuellement, dans un bol en bois dont l'intérieur était garni de picots [59]. Le principe de cette technique est basé sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois [60].



**Photo03:** Photo du dispositif de l'expression

#### **II-8-2-4-Extraction par solvant organique:**

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles. Dans ce procédé, un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé «concrète». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à «l'absolue»[61,62]. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment 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. [63]

#### **II-8-3-Méthodes innovantes d'extraction :**

##### **II-8-3-1- Extraction assistée par micro-ondes:**

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances .[64]

L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et incrémenter le rendement. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages :



technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées .[65,66]

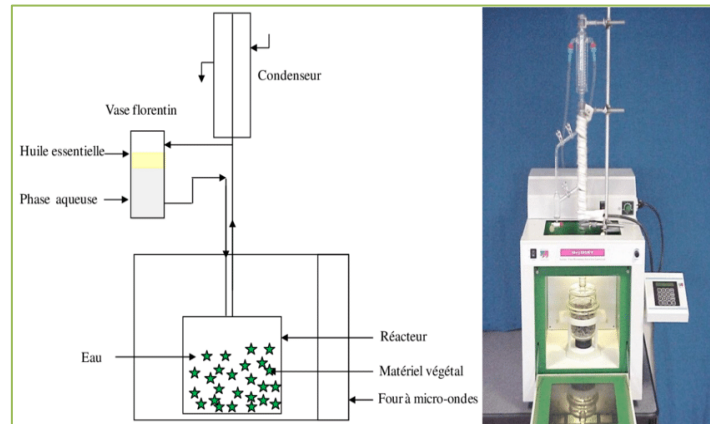
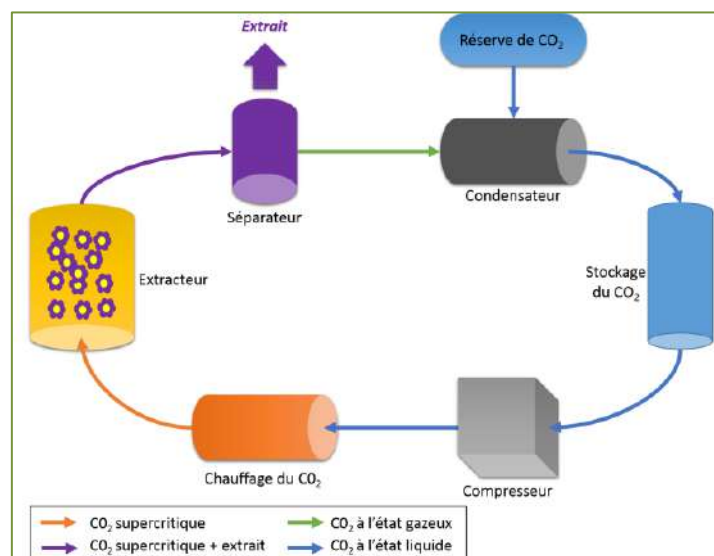


Schéma 01 : Schéma de l'appareillage d'extraction sous micro-ondes

### II-8-3-2-Extraction par fluide à l'état supercritique:

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvation accru[30]. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le  $\text{CO}_2$  est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait[67].



**Schéma02 : Schéma simplifié d'un extracteur au CO<sub>2</sub>**

**II-9-Conditions de conservation et de stockage:**

La relative instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles implique des précautions particulières pour leur conservation. Ces dégradations pouvant modifier les propriétés et mettre en cause l'innocuité de l'huile essentielle, il convient de les éviter par l'utilisation de flacons propres et secs en aluminium vernissé, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique, presque entièrement remplis et fermés de façon étanche (l'espace libre étant rempli d'azote ou d'un autre gaz inerte), stockage à l'abri de la chaleur et de la lumière.

Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (norme AFNOR NF T 75-001, 1996) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des huiles essentielles (norme NF 75-002, 199612)

**II-10- L'analyse des HEs par la chromatographie en phase gazeuse :**

Les huiles essentielles sont analysées par la GC-MS car elles sont les plus utilisées et les plus efficaces

**II-10-1-Définition :**

La chromatographie en phase gazeuse (GC) est une méthode d'analyse couramment utilisée pour la séparation de composants volatils, thermiquement stables et de particules relativement petites. [68]Ce type de chromatographie utilise une phase mobile gazeuse qui a pour rôle de transporter les composants de l'échantillon à travers la colonne .[56]

**II-10-2-Appareillage :**

Les appareils de chromatographie sont appelés chromatographes. Ils sont principalement composés des parties suivantes:

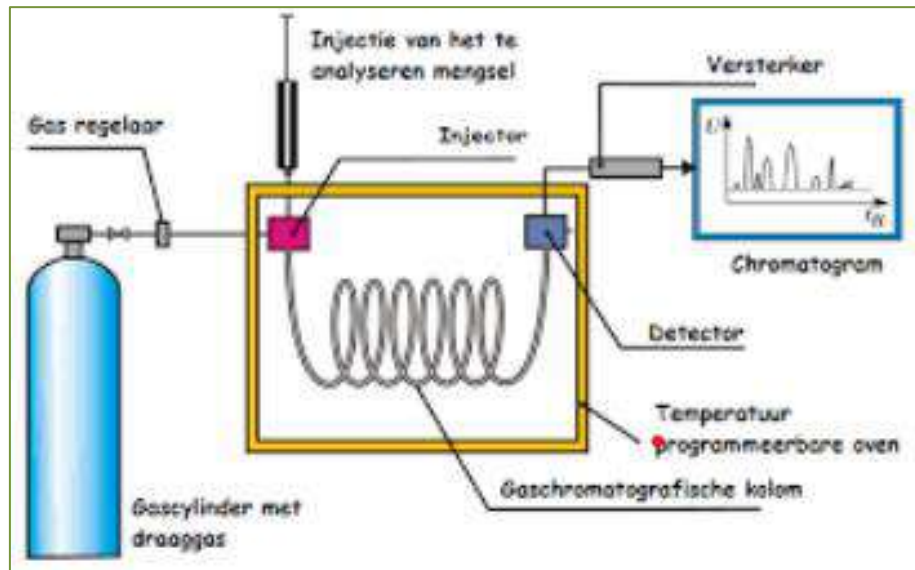


Schéma 03 : Schéma dula chromatographie en phase gazeuse.

➤ **Cylindres des Gaz vecteur :**

Le rôle principale du gaz vecteur est de transporté les échenillons à traverse la colonne. Ce gaz doit être pur, inerte vis-à-vis des substances et de la phase stationnaire. ex : L'hydrogène, l'azote, l'argon et l'hélium.

➤ **Four :**

C'est une enceinte thermostatée dans laquelle se trouve la colonne de séparation. Il se caractérise par la stabilité thermique, et la possibilité de contrôler de la température de manière progressive. Il renferme aussi l'injecteur et le(s) détecteur(s)

➤ **Injecteur :**

Il s'appelle aussi chambre d'injection où l'échantillon va s'évaporer et s'entraîner par le gaz vecteur dans des températures relativement élevé. [69]

➤ **Colonne :**

Parmi les plus utilisées sont retrouvés:

- **Les Colonnes capillaires :** Elles se présentent sous forme d'un capillaire dont la surface interne porte un fin film de phase stationnaire. Le diamètre interne est de 0,1 à 0,6 mm ; l'épaisseur de film de phase stationnaire est de 0,2 à 0,5  $\mu\text{m}$  ; la longueur dépasse 10 m, atteint généralement 30 m ou plus.

Les colonnes capillaires ont aujourd'hui la faveur des analystes et une très grande variété de phases greffées sont disponibles sur le marché. Les phases greffées utilisent la

chimie du greffage covalent d'un motif organique choisi sur une base silice. [70]

➤ **Détecteurs :**

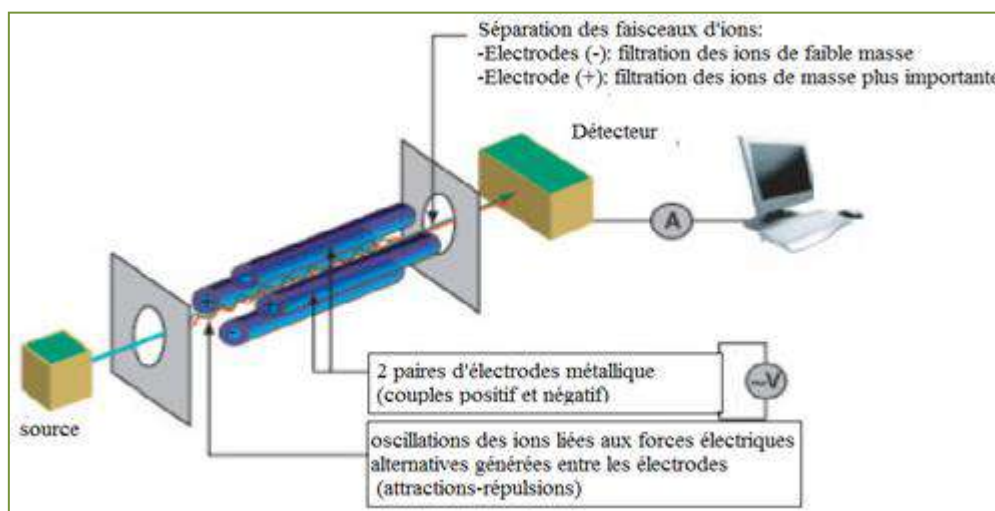
Le détecteur est un petit appareil sensible à la présence de composés chimiques dans le gaz vecteur, En fait, de nombreux détecteurs utilisés en chromatographie en phase gazeuse diffèrent par leurs caractéristiques et leurs performances tels que le FID, TCD et autres. A titre d'exemple on donne un aperçu sur:

➤ **Le Spectromètre de masse :**

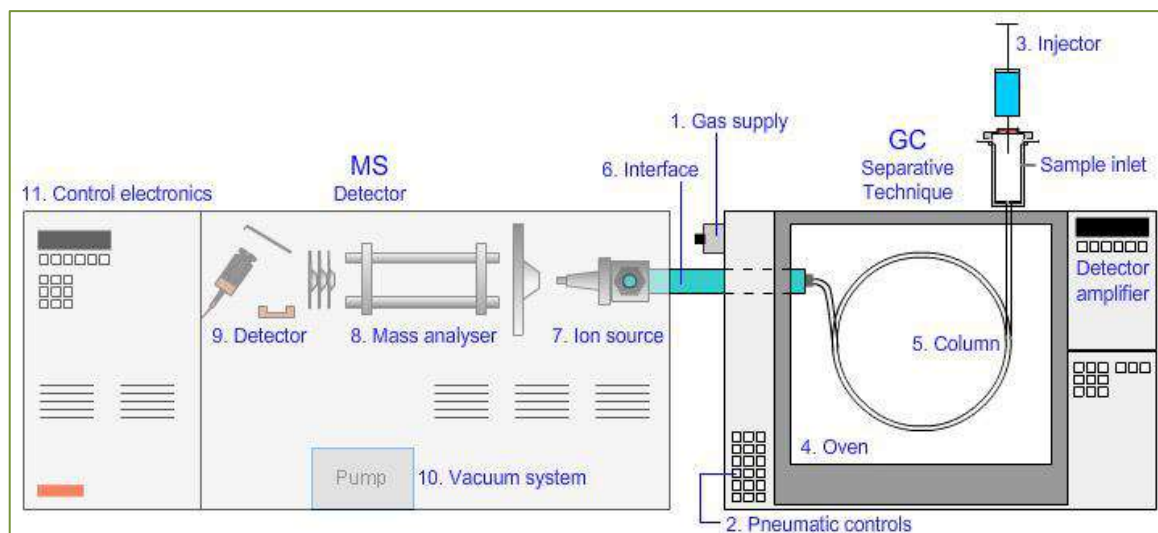
Spectromètre de masse comme un détecteur couplée à chromatographe capable de quantifier des analystes connaitre et identifier des molécules inconnues même en traces ( $10^{-12}$ mol -  $10^{-15}$ mol).

L'analyseur de masse va séparer les ions en fonction de leur rapport  $m/z$ , Dans cette partie du spectromètre de masse règne un vide poussé de l'ordre de  $10^{-10}$  bar, enfin les sortant de l'analyseur vont être détectés. [69]

Le principe de la séparation ionique par spectromètre de masse est représenté dans la figure (11).



**Figure 11 :** Principe de la séparation ionique par spectromètre de masse quadripolaire.



Shéma 04: Schéma du système de couplage GC-MS

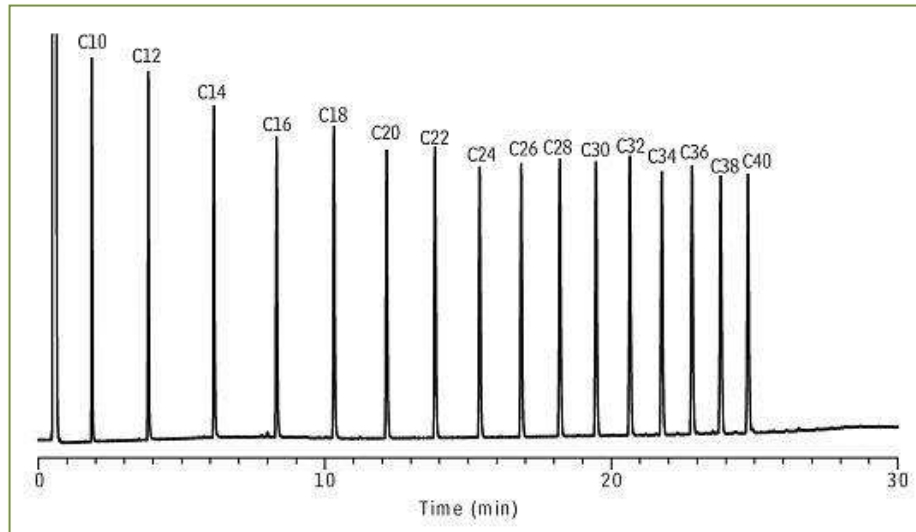
### II-10-3-Procédure de caractérisation chimique par GC-MS :

Actuellement, la réponse du détecteur MS est enregistrée sous la forme d'un chromatogramme informatif sur les temps de rétention, les surfaces des pics et leurs pourcentages de présence (TIC%) ; en plus aux spectres de masse des produits détectés. Cependant, La caractérisation d'une molécule n'est pas tirée directement. Ces informations doivent être traités et consolidés par des données sur les standards correspondants, dans les bases de données agréées. [71]

Ainsi, pour aboutir à l'identification des constituants d'un mélange en utilisant cette technique, on procède comme suit :

- ✓ On compare les spectres de masse fournis par l'analyse avec ceux dans les banques de données (souvent Nist et Willey) et confirmer l'identification proposée :
- **Manuelle:** étude des principaux processus de fragmentation de la molécule
- **Traitement de données:** comparaison du spectre avec ceux contenus dans une bibliothèque, analyse par ordinateur.
- ✓ On utilise les temps de rétention des n-alcane (injectés dans les mêmes conditions) pour calculer les indices de rétentions des produits détectés et les comparer ensuite avec ceux des standards.

Un exemple d'un chromatogramme de la série des n-alcanes est représenté dans la figure (12).



**Figure 12 :** Exemple d'un chromatogramme de la série des n-alcanes.

➤ En mode programmation de température la formule de calcul des  $I_r$  est :

$$I_r = 100 \left( \frac{tr(i) - tr(n)}{tr(n+1) - tr(n)} \right) + 100 \cdot n$$

**Où :**

$tr(n)$  et  $tr(n+1)$  : temps de rétention de ces alcanes

$tr(i)$  : temps de rétention du produit considéré.

Ces indices de rétention se sont avérés remarquablement reproductibles :

- ✓ pour une phase stationnaire donnée.
- ✓ ils sont relativement indépendants de la température.
- ✓ Ils existent donc des tables dans des banques de données, répertoriant les indices de rétention de nombreux produits chimiques.

## II-11-Tests antimicrobiens

### Introduction :

Depuis l'antiquité, les extraits aromatiques de plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme les médicaments et la parfumerie [72]. Les huiles essentielles ont été considérées comme agents antimicrobiens les plus efficaces dans ces plantes.

Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, la première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix [79]. Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes [74].

Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. [75,76 ,77 ,78]

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes : [79]

- Effet bactéricide (bactéricide) : exerçant une activité létale
- Effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance

### II-11-1- méthodologie suivie:

Afin de mettre en évidence l'activité de l'huile de la plante *C. rotundus* L. contre les bactéries, on a testé HEs1 et HEs2 vis-à-vis cinq souches bactériennes, à savoir : *Bacillus subtilis*(ATCC6633), *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC9027), *Staphylocoque*(MRSA639c), *Listeria monocytogenes* (ATCC 13932) ; à Gram+ et *Escherichia coli*(ATCC8739) à Gram-

#### II-11-1-1- Les microorganismes :

##### ❖ *Escherichia coli*

*Escherichia coli* est l'espèce bactérienne la plus connue de la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce bacille à Gram négatif, à mobilité péritriche, se développe en aéro-anaérobie et sur gélose ordinaire en 24 heures à 37 °C, en donnant de colonies rondes, lisses, à bords réguliers non pigmentées. [108]

❖ ***Bacillus subtilis*** :

*Bacillus subtilis* est une espèce de bactéries du genre *Bacillus* et de la famille des *Bacillaceae*. C'est un bacille à Gram positif groupé en chaînette, mobile, aérobic strict. L'habitat naturel de *B. Subtilis* est le sol, mais il est répandu aussi dans de l'eau fraîche, les eaux côtières et les océans.

❖ ***Pseudomonas aeruginosa*** :

*Pseudomonas aeruginosa* fait partie du genre *Pseudomonas* le plus répandu et le plus pathogène de la famille des *Pseudomonadaceae*. Ce bacille à Gram-positif, mobile aérobic strict, est connu sous le nom de *bacille pyocyanique* en raison de l'une de ses principales caractéristiques, la production d'un pigment coloré diffusible de couleur bleu : la pyocyanine. Cette espèce bactérienne peut être cultivée facilement sur tous les milieux en aérobiose température de 37 °C ou 30°C.

❖ ***Staphylococcus aureus*** :

Appartenant à la famille des *Micrococcaceae*, *Staphylococcus aureus* occupe place très importante en pathologie humaine et animale. Cette bactérie de type coccus à Gram-positif est disposé en amas, en courte chaînette, à la façon d'une grappe de raisin. Elle se développe en aérobiose et croit abondamment sur milieu gélose en 18 à 20 heures à 37 °C.

❖ ***Listeria monocytogenes*** :

*Listeria monocytogenes* est une bactérie à Gram positif, du genre *Listeria*, division des Firmicutes, qui doit son nom à Joseph Lister. C'est la seule espèce du genre *Listeria* pathogène pour l'homme, provoquant la listériose. Il s'agit d'un bacille de petite taille, non sporulé, aéro-anaérobic facultatif, intracellulaire facultatif, ubiquitaire (sol, végétaux, eau), possédant une catalase et mobile à 20 °C.



**Tableau 04 :** Les souches bactéries et certaines maladies qu'elles provoquent.

<b>Microorganismes</b>	<b>Maladie</b>
<i>Escherichia coli</i>	Gastro-entérites, infection urinaires, méningites ou sepsis.
<i>Bacillus</i>	La grippe.
<i>Staphylocoque</i>	Endocardite, Pneumonie,
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Otite externe, État septique
<i>Monocytogens</i>	maux d'estomac, amygdalite

**PARTIE**  
**EXPERIMENTALE**

**CHAPITRE I**  
**METHODES ET**  
**MATERIEL**

**I-1-Méthodes et Matériel :**

Depuis longtemps, les ressources naturelles constituent la source principale de remède pour soigner différentes maladies et infections, et demeure jusqu'à présent, la source principale pour l'obtention de nouvelles molécules actives. En effet, de nombreux travaux notoires ont pu démontrés l'activité biologique et les modes d'action thérapeutiques des métabolites extraites à partir des plantes.

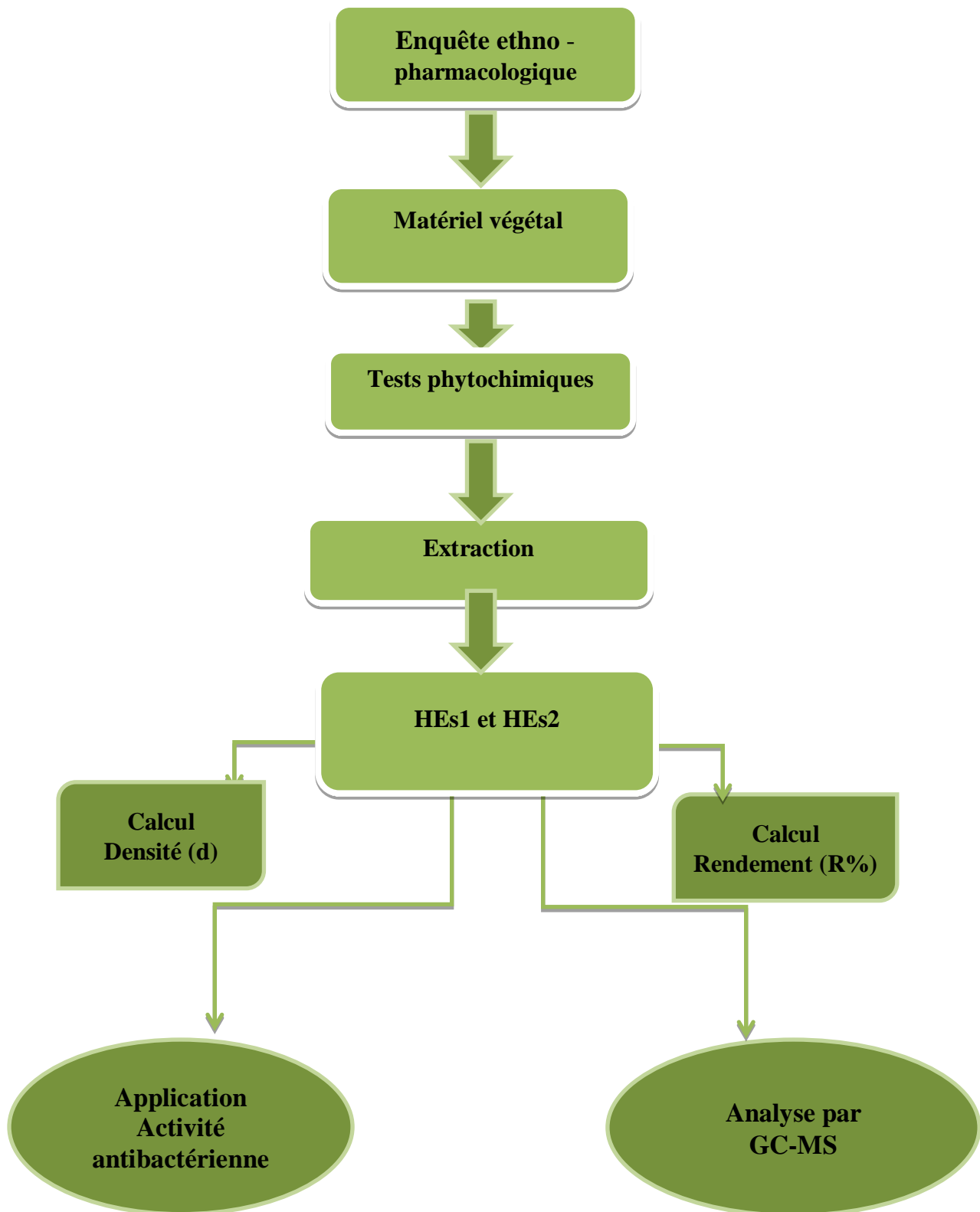
Ces dernières permettent d'aborder les traitements de façon globale et moins agressive en éliminant la plupart des effets secondaires connus chez certains médicaments synthétisés. [82,83]

Les ressources végétales spontanées du Sahara constituent une flore d'environ 500 espèces de plantes supérieures [84] , dont une partie reste de nos jours utilisée par les populations comme plantes médicinales.

En Afrique, plus de 80% de la population à recours à la médecine traditionnelle et aux plantes médicinales pour ses soins de santé primaire. [85]

**I-2-Protocole expérimental :**

Ce travail appliqué a été réalisé selon le protocole expérimental suivant :



**Schéma 05:** Protocol expérimental adopté.

### **I-3-Enquête ethno -pharmacologique :**

L'investigation des différentes utilisations médicinales traditionnelles de "*C.rotundus*" et la recherche en terrain la connaissance médicinale traditionnelle liée à l'utilisation de cette plante dans la région d'Ouargla. Les résultats donneront un aperçu général sur le pouvoir curatif de cette plante.

Démarches de l'Enquête ethnobotanique :

Les usages de "*C.srotundus*" dans la pharmacopée traditionnelle de la région d'Ouargla sont très variés, mais son utilisation en pratiques féminines a attiré notre attention. Afin de se rapprocher de la population locale utilisatrice de cette espèce on a opté pour la réalisation d'une enquête ethnobotanique (la fiche du dans la dans l'annexe). En effet, cette étape a été réalisée à l'aide de 100 fiches questionnaires qui ont été conduites durant le mois de janvier 2021 auprès des habitants d'Ouargla.

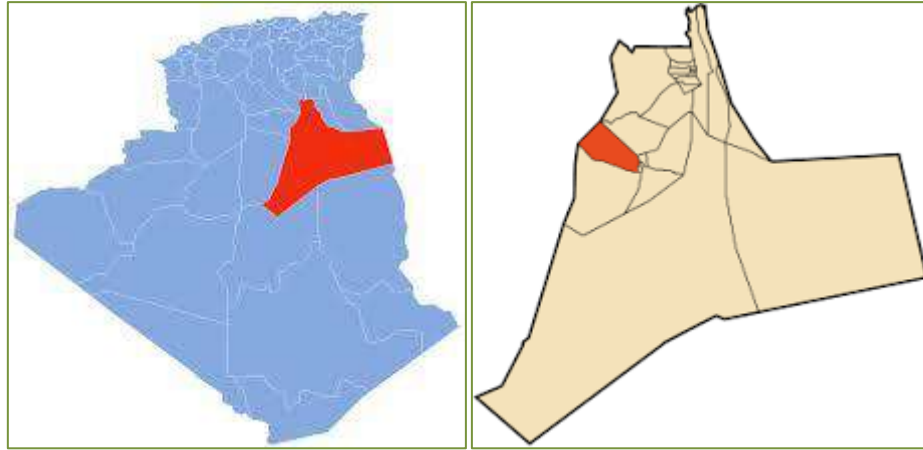
Le questionnaire a été axé sur :

- les habitudes thérapeutiques des habitants de la région d'Ouargla utilisant *C. rotundus* dans le traitement de diverses maladies
- le nom local de la plante
- les parties de la plante utilisées
- les modes de préparation (recettes)
- les modes d'administration,
- les effets secondaires.

Le questionnaire incluait également la présence de certaines informations personnelles sur les personnes enquêtées : Sexe - Âge - Niveau d'étude.

### **I-4- Récolte du matériel végétal:**

Les Racines de "*C.rotundus*" ont été récoltées pendant le mois de Mars 2021 de la région de la Wilaya de Ouargla qui se situe dans le Nord-Est de l'Algérie dans la partie septentrionale du Sahara algérien.



**Figure 14** : Localisation géographique de la région de la récolte. [86]

### **I-5- Préparation du matériel végétal :**

Le matériel végétal séché a été découpé avec un quêtteur pour séparer les racines de la partie aérienne. Les racines ont été séchées à l'ombre et à l'abri de l'humidité et la lumière à température ambiante pendant 15 jours. Après leur broyage à l'aide d'un mortier, le produit a été stocké dans un récipient en verre sombre et scellé. Le résidu sera utilisé dans les différentes analyses qualitatives.



**Photo 04** : Séchage du matériel végétal.

## I-6-Tests phytochimiques préliminaires :

### I-6-1-Préparation des extraits :

Afin d'extraire le maximum de produits naturels de *C. rotundus*, une macération à froid a été réalisée en utilisant en succession des solvants de polarité croissante :

Ces derniers ont servi pour les tests de détection des groupes chimiques suivant :

### I-6-2-Préparation des réactifs et leurs protocoles d'utilisation :

#### ➤ les alcaloïdes:

- **Test de Mayer:** 1 ml de chaque extrait a été mélangé avec quelques gouttes de réactif de Mayer (Potassium Mercuri Iodide Solution).
- **Test de Wagner:** 1 ml de chaque extrait a été mélangé avec des volumes égaux de réactif de Wagner (iode dans l'iodure de potassium).
- **Test de réactif de Dragendorff:** à 1 ml de chaque extrait, 2 ml de réactif de Dragendorff ont été ajoutés et mélangés. A celà, 2 ml de HCl dilué ont été ajoutés.

#### ➤ les flavonoïdes:

- **Test de Shinoda:** à 1 à 2 ml de tous les extraits, ajoutez un petit morceau de papier de magnésium et ajoutez quelques gouttes de HCl conc soigneusement le long des parois du tube. L'apparence de couleur rouge indique la présence de flavonoïdes.

#### ➤ les phénols:

- **Test d'acide ellagique:** Les extraits ont été traités avec quelques gouttes d'acide acétique glacial à 5% (p / v) suivies d'une solution de NaNO<sub>2</sub> à 5% (p/v).

#### ➤ les tanins:

- **Test au chlorure ferrique:** Les extraits ont été traités séparément avec quelques gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> (1%).



➤ **Les stérols:**

- **Test de Salkowski:** à 1 à 2 ml de tous les extraits, 5 ml de chloroforme ont été ajoutés. Ensuite 1 ml du  $H_2SO_4$  conc a été ajouté avec précaution sur le long des parois du tube et puis mélangé. La formation de couleur rougeâtre dans la couche inférieure indique la présence des stéroïdes.

➤ **Les terpénoïdes:**

Deux tests pour la confirmation du résultat ont été réalisés:

- **Réactif Trim-Hill :** à 1 à 2 ml de tous les extraits, ensuite 1% HCl a été ajouté et laissé au repos pendant 5 à 6 heures. Plus tard, ces extraits ont été traités avec 1 ml de réactif Trim-Hill et chauffé au bain-marie bouillant pendant 5 à 10 minutes. La formation de couleur vert bleuâtre indique la présence de terpénoïdes.
- **Test de Salkowski ( $CCl_3+H_2SO_4$ conc):**  
5 ml d'extrait brute est ajouté à 2ml de chloroforme et 3ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

➤ **les saponines:**

- **Test d'huile d'olive :** 5 ml de chaque extrait sont prélevés dans un tube à essai et agités vigoureusement pour obtenir une mousse stable. A cette solution moussante, 5 à 6 gouttes d'huile d'olive ont été ajoutées. La formation d'une émulsion indique la présence de saponines.

- **les glycosides:** 2-3 gouttes de chlorure ferrique sont ajoutées à la solution mère. Pour cette solution 2 ml du  $H_2SO_4$  conc ont été ajoutés avec précaution le long des parois du tube à essai. Apparition d'un anneau de couleur brun rougeâtre à la jonction de deux couches indiquent la présence de glycosides. [73]

Dans ce travail, on a opté pour l'extraction et l'analyse des huiles essentielles de *Cyperus rotundus*.

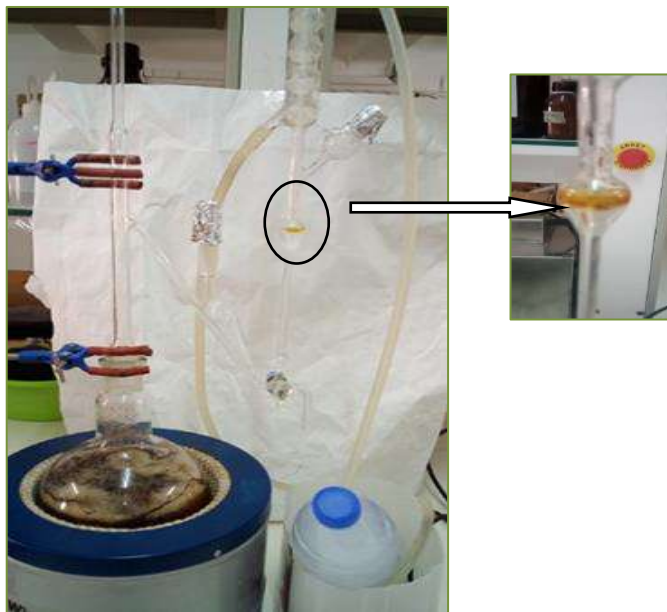
### I-7-Extraction des HEs :

Dans ce travail, nous ferons une comparaison entre les composants des huiles essentielles présentes dans *C.rotundus*, après l'avoir récoltée et séchée, et celle commercialisée.

Nous en avons donc pris la même quantité et nous avons extrait les huiles de la même manière.

#### I-7-1-Hydrodistillation:

Dans un ballon de 2l, on a mis 600 g du matériel végétal "*C.rotundus*" avec suffisamment d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon pendant 4h. La vapeur d'eau entraîne les produits organiques volatils qui se condensent dans le tube terminal du Clevenger. Après décantation les huiles essentielles sont récupérées. Elles subissent une déshydratation par addition du sulfate de sodium anhydre, afin d'éliminer les traces d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique.



**Photo 05:** Montage d'extraction des HEs

### I-7-2-Calcul des Rendements:

Les rendements d'extraction, ont été calculés selon la relation suivante :

$$R (\%) = \frac{M_{ext}}{M_{éch}} \times 100$$

Où :

**R** : le rendement en (%);

**M<sub>ext</sub>** : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g) ;

**M<sub>éch</sub>** : la masse sèche de l'échantillon végétal en (g).

### I-7-3-Calcul de la densité :

La densité a été calculée par la relation suivante :

$$d = \frac{\rho(HE)}{\rho(eau)}$$

**V** : volume de HEs en  $cm^3$

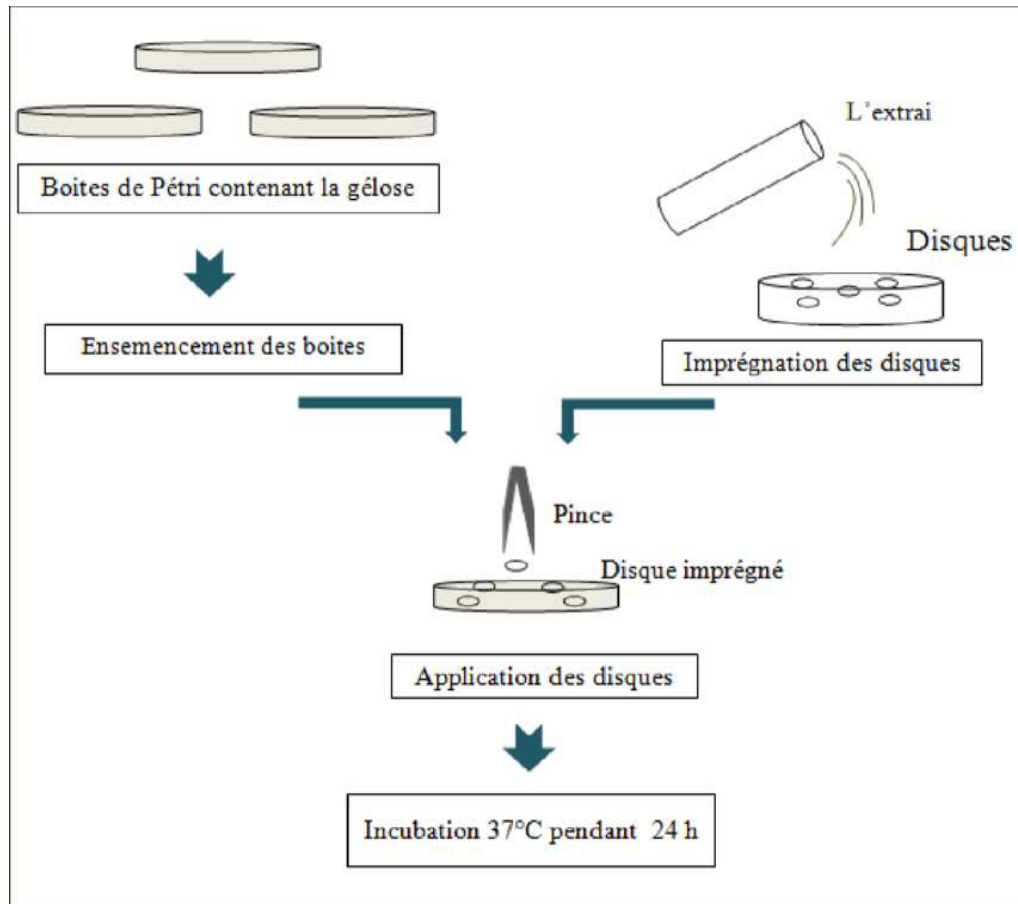
**m**: la masse de HEs en g

### I-8-La méthode de réalisation des Tests antibactériens:[86]

L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents échantillons (HEs1 , HEs2) a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide. En utilisant trois concentrations :

**C<sub>0</sub>=100% ; C<sub>1</sub>=10% ; C<sub>2</sub>= 1%.**

- Les différents échantillons ont été solubilisés dans du DMSO (diméthylsulfoxyde) à 90 *ul*.
- Disques de papier Whatman N ° 3 stérilisés à 120 ° C pendant 30 min, ont été trempés dans 10 *ul* de solution d'échantillon.
- Dans ce test, Mueller Hinton a été versé dans des boîtes de Pétri et inoculé avec une suspension de bactérie pure, fraîchement préparée. A la surface de la géloseensemencée, les disques ont été déposés. Puis le tout a été incubé à 37 ° C pendant 24 heures.
- Le disque contenant du DMSO a été utilisé comme un blanc.
- Les zones d'inhibition de diamètres (mm) autour des disques de papier, permettent de prévisualiser l'efficacité des extraits contre les germes testés. Cinq poites ont été préparés, répétés 3 fois.



**Figure 13:** Schématisation de la Méthodologie de diffusion sur disques suivie.

**CHAPITRE II**

**RESULTATS**

**ET**

**DISCUSSION**

## II-1-Tests phytochimiques préliminaires :

Les différents tests ont été réalisés sur les extraits préparés

**Tableau 06:** Screening chimique

Métabolites secondaires	Tests
Terpenoïdes	CCl <sub>3</sub> +H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> conc
	Trim-hill
Stéroïdes	Salkowski
Alcaloïdes	Wagen
	Mayer
	Dragendroff
Phénol	Acide élague
Flavonoïdes	Shinoda
Tanins	FeCl <sub>3</sub> 1%
Saponines	Huile d'olive
Glycosides	Keller-Killiani

## II-2-Extraction des HEs

### II-2-1-Propriétés organoleptiques des HEs:

Les échantillons des huiles essentielles obtenues ont présenté des caractéristiques organoleptiques très proches.

### II-2-2-Etude comparative :

Grâce à l'étude comparative entre les 2 rendements de HEs1 et HEs2, il a été constaté que les rendements en huiles essentielles ont été complètement différents.

### **II-3-Analyse de HEs1 et HEs2 par GC-MS**

Les huiles essentielles (HEs1 .HEs2) ont été analysées au moyen d'un chromatographe GC Shimadzu équipé d'un détecteur de masse MS, sélectif en mode d'ionisation impact électronique.

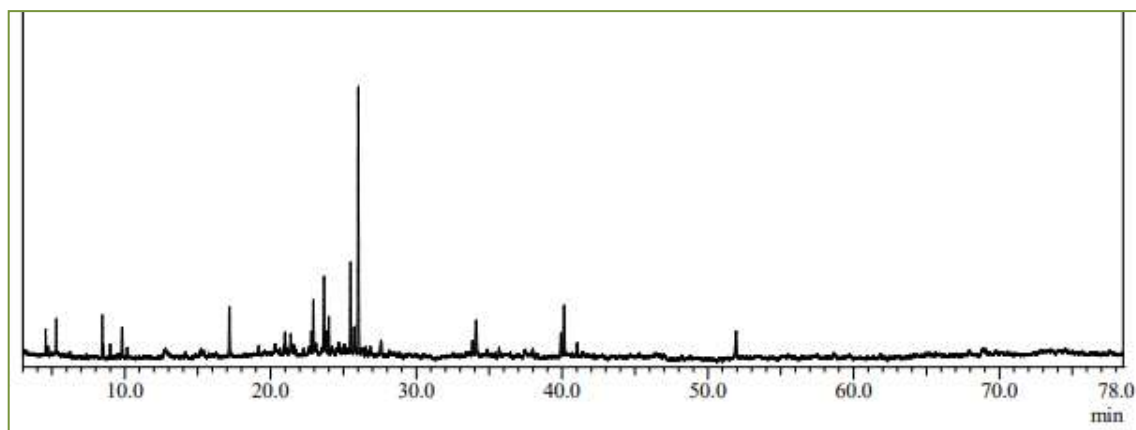


**Photo 07 :** Appareil GC-MS (TQ 8040 NX) utilisé (plateforme CRAPC-Ouargla).

#### ***Les conditions appliquées :***

- Colonne capillaire Rxi®-5ms (crossbond® 5% diméthyl 95% diméthylpolysiloxane) avec une phase stationnaire apolaire (30 m 0.25mmID, épaisseur de la phase stationnaire 0.25 µm),
- La source du système spectromètre de masse (MS) à travers une interface.
- énergie d'ionisation : 70 eV.
- Les résultats de fragmentations, ainsi obtenus, ont été enregistrés sur cet intervalle [29-550] de (m/z).

La composition de cette huile (HEs2) a été analysée par GC-MS. Le chromatogramme obtenu montre une composition chimique bien séparée, plus ou moins riche.



**Figure19** : Chromatogramme d'analyse par GC-MS (échantillon HES2)

Le dépouillement des données spectrales des composés détectés avec celles des standards citées dans les banques de données, Nist et Willy, a permis l'identification de quelques produits regroupés dans le tableau 09.

**Tableau 09** : quelques composés Caractérisés et détectés dans HES.

tr (min)	Area %	Composés identifiés	MS (exp.)	MS (réf.)
8.45	3.09	Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylene-, [1S-(1.alpha.,3.alpha.,5.alpha.)]-	92(100%), 55(95%), 83(88%), 70(68%), 119(43%), 69(40%), 109(38%), 105(19%), 45(4%).	92(100%), 55(88%), 70(78%), 69(47%), 119(42%), 109(30%), 105(13%)
8.54	0.70	Non identifié	109(100%), 81(80%), 91(78%), 67(56%), 55(51%).	//
8.99	1.08	Non identifié	79(100%), 53(84), 94(60%), 59(48%), 45(10%).	//
9.81	3.27	Non identifié	79(100%), 91(46%), 107(35%), 77(30%), 67(14%), 55(10%), 119(8%).	//
22.79	1.83	Non identifié	93(100%), 91(95%), 121(95%), 105(77%), 81(74%), 79(62%), 55(51%), 69(50%).	Non identifié
22.94	4.77	Non identifié	79(100%) ; 91(85%) ; 69(59%) ; 107(45%) ; 55(40%) ; 121(38%) ; 135(20%) ; 161(18%)	//
25.480	8.37	Non identifié	147(100%), 122(88%), 105(83%), 91(71%), 133(71%), 79(40%), 77(39%), 69(30%).	//



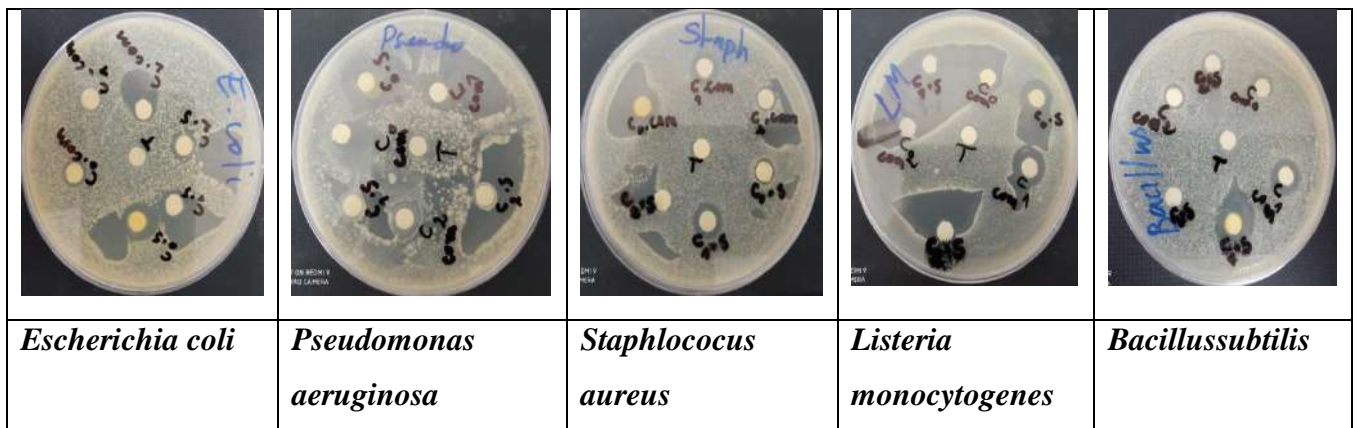
<b>34.10</b>	4.75	Non identifié	93(100%) ; 79(90%) ; 91(80%) ; 105(55%) ; 55(50%) ; 69(51%) ; 95(45%) ; 119(45%)	//
<b>39.930</b>	2.62	Methyl 5,13-docosadienoate	81(100%),67(90%), 95(75%),55(69%), 82(54%),69(46%),109(39%), 123(22%).	81(100%), 67(85%),95(75%),55(74 %),82(67%), 69(44%),109(44%), 123(24%).
<b>40.140</b>	6.18	Non identifié	55(100%),69(79%), 83(69%), 98(65%),97(59%),57(48%),1 23(26%),137(19%).	//

En comparant les spectres de masses expérimentaux fournies avec des propositions en a tenté d'identifier quelque produits et les résultats obtenus montre que :

Les pourcentages relatifs aux produits identifiés dans HEs2 représentent 100% de la totalité de l'huile ; ils varient entre traces ( $\leq 0.7$ ) et plus de 28%. Certains ont marqué une présence plus ou moins importante, parmi lesquels on cite :  $\alpha$ -Pinène (1.72%), Il est à noter que l'analyse a révélé que HEs1 contient des produits variés, mais faute de données spectrales suffisantes, l'analyse et l'identification des produits n'a pas été possible.

## II-4- Tests antibactériens :

La sensibilité des souches bactériennes testées par la méthode de diffusion est déterminée en mesurant les zones d'inhibition en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition entourant le disque par mm. Alors que les souches bactériennes résistantes n'enregistrent pas ces zones d'inhibition.



**Photo8 :** Résultats de l'activité antibactérienne.

Les diamètres enregistrés lors de la mise en évidence de l'activité antibactérienne de HEs1 et HEs2 par la méthode de diffusion contre les souches bactériennes mentionnées ci-dessus est résumée dans le tableau 10.

**Tableau 10 :** Evaluation de l'efficacité antibactérienne de HEs1 et HEs2.

L'échantillon	Les concentrations	Les souches				
		<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
HEs1	$C_0$	S	S	S	S	S
	$C_1$	S	S	S	S	R
	$C_2$	S	S	S	R	S
HEs2	$C_0$	R	S	S	S	S
	$C_1$	S	S	S	R	S
	$C_2$	S	R	S	R	S

**S : Sensible; R : résistant**

- L'HEs1, HEs2 ont présenté une forte activité contre les bactéries Gram-positifs (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) à presque toutes les concentrations utilisées.
- Quant à l'activité de HEs1 contre les bactéries Gram-négatives (*E.coli*), elle a la capacité d'inhibition à C0, C2, tandis qu'à C1 les bactéries sont résistantes à son activité.
- HEs2 a présenté une grande efficacité à inhiber la croissance des bactéries (*E.coli*), à toutes les concentrations utilisées.

A travers les résultats enregistrés, on a constaté qu'il y a une efficacité de HEs1 et HEs2 contre ces souches bactériennes, mais ces résultats restent des résultats préliminaires.

# CONCLUSION

## Conclusion

Cette étude s'inscrit principalement dans le cadre de l'évaluation des études précédentes sur la plante. Ces études ont permis de conclure que:

*Elle* est considérée comme une plante médicinale aromatique riche en huiles essentielles, car la plupart des études précédentes dans le monde (notamment en Inde) sur cette plante font partie de l'extraction d'huiles essentielles de celle-ci.

Ce fut un point de départ et un facteur de motivation pour nous d'étudier l'efficacité des huiles extraites de la plante.

Les tests phytochimiques préliminaires réalisés ont montré que l'espèce est riches en produits du métabolisme secondaire tels que les terpènes, flavonoides,

L'extraction par Clevenger a dévoilé des rendements pour les deux échantillons. L'analyse de ces derniers par la GC-MS a permis l'identification de seulement quelques composés dans HEs1.

La confirmation de ces propositions et même la composition de HEs2 nécessite analyses plus approfondies.

L'efficacité antibactérienne de l'huile commerciale et de l'huile sèche a été estimée, et les résultats ont montré que ces huiles ont une grande capacité à inhiber la croissance des bactéries. Comme les résultats obtenus, dans ce travail, ne constituent qu'une première étape dans la recherche des substances, de source naturelle, biologiquement actives, nous pouvons émettre certaines perspectives à envisager dans cet axe de recherche et compléter ainsi notre projet, il s'agit de :

- ✓ Identification la composition chimique des HEs de la plante.
- ✓ Concernant l'identification et la purification d'autres molécules appartenant à des classes chimiques différentes comme les flavanoides, les alcaloïdes; les stéroïdes qui n'ont pas été cibles dans le présent travail pourraient être également visées pour leur activité potentielle thérapeutique ou cosmétique.
- ✓ Identification des molécules responsables de l'activité biologique.
- ✓ Nous n'avons pas pu réaliser une comparaison avec l'échantillon HEs2, des analyses complémentaires resteront l'objet d'études futures.
- ✓ Réaliser des études complètes et approfondies de l'efficacité des huiles essentielles étudiées contre les bactéries, virus, cellules cancéreuses, maladies cardio-vasculaires, et étudier l'effet de ces huiles sur les organismes vivants grâce à l'utilisation d'animaux de laboratoire.

**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

[1]	Jain, P. K., Das, Debajyoti., Kumar Jain, P. (2016). Pharmacognostic comparison of Bacopamonnieri, Cyperusrotundus and Emblicaofficinalis. <i>Innov J Ayurvedic Sci</i> , 4(4), 16-26.
[2]	Al-Snafi, A. E. (2016). A review on <i>Cyperusrotundus</i> A potential medicinal plant. <i>IOSR Journal Of Pharmacy</i> , 6(7), 32-48.
[3]	Ratiarson, O. (2004). Stratégie de lutte intégrée contre <i>Cyperusrotundus</i> L. Thèse de doctorat, Nouvelle Calédonie.
[4]	Meena, A. K., Yadav, A. K., Niranjana, U. S., Singh, B., Nagariya, A. K., & Verma, M. (2010). Review on <i>Cyperusrotundus</i> -A potential herb. <i>International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research</i> , 2(1), 20-22.
[5]	Chopra, R. N., Nayar, S. L., & Chopra, I. C. (1956). Glossary of Indian medicinal, New Delhi: Council of Scientific & Industrial Research plants, Vol. 1, pp. 138-139.
[6]	Sivapalan, S. R. (2013). Medicinal uses and pharmacological activities of <i>Cyperusrotundus</i> Linn-A Review. <i>International Journal of Scientific and Research Publications</i> , 3(5), 1-8.
[7]	Bhattarai, N. K. (1993). Folk herbal remedies for diarrhoea and dysentery in central Nepal. <i>Fitoterapia-Milano-</i> , 64, 243-243.
[8]	Chopra, R. N., Nayar, S. L., Chopra, I. C. (1986). Glossary of Indian medicinal plants with active principles. Council of Scientific & Industrial Research: New Delhi, India.
[9]	Endo, Y., Usuki, R., Kaneda, T. (1985). Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autoxidation of oils in the dark. II. The mechanism of antioxidative action of chlorophyll. <i>Journal of the American Oil Chemists' Society</i> , 62(9), 1387-1390.
[10]	Mohan, R. C., Kaaviyam, Y. M. V. (2002). Publication of ThamaraiNoolagam.
[11]	Merish, S., Tamizhamuthu, M., Thomas, M. W. (2014). Styptic and wound healing properties of siddha medicinal plants—a review. <i>Int J Pharm Bio Sci</i> , 5(2), 43-49.
[12]	Sharma, R., Gupta, R. (2007). <i>Cyperusrotundus</i> extract inhibits acetylcholinesterase activity from animal and plants as well as inhibits germination and seedling growth in wheat and tomato. <i>Life Sciences</i> , 80(24-25), 2389-2392.
[13]	Malairajan, P., Gopalakrishnan, G., Narasimhan, S., Veni, K. J. K. (2006). Analgesic activity of some Indian medicinal plants. <i>Journal of ethnopharmacology</i> , 106(3), 425-428.
[14]	Chopra RN, Nayar SL and Chopra IC. (1986), Glossary of Indian medicinal plants. Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi.
[15]	Merish, S., Tamizhamuthu, M., Thomas, M. W. (2014). Styptic and wound healing properties of siddha medicinal plants—a review. <i>Int J Pharm Bio Sci</i> , 5(2), 43-49.
[17]	Adams, S. J., Kuruvilla, G. R., Krishnamurthy, K. V., Nagarajan, M., Venkatasubramanian, P. (2013). Pharmacognostic and phytochemical studies on Ayurvedic drugs Ativisha and Musta. <i>Revista Brasileira de Farmacognosia</i> , 23(3), 398-409.
[18]	Jeong, S. J., Miyamoto, T., Inagaki, M., Kim, Y. C., Higuchi, R. (2000). Rotundines A–C, Three novel sesquiterpene alkaloids from <i>Cyperusrotundus</i> . <i>Journal of Natural Products</i> , 63(5), 673-675.
[19]	Jeyasheela, R., Padmalatha, C., Chairman, K., Kalirajan, A., Singh, A. J. R. (2011). Phyto-chemical analysis of <i>Cyperusrotundus</i> and its effect on ethanol treated rats. <i>Elixir International Journal</i> , 37, 4137-4140.
[20]	Sonwa, M. M., König, W. A. (2001). Chemical study of the essential oil of <i>Cyperusrotundus</i> . <i>Phytochemistry</i> , 58(5), 799-810.
[21]	Sivapalan, S. R. (2013). Medicinal uses and pharmacological activities of

	<i>Cyperusrotundus</i> Linn-A Review. International Journal of Scientific and Research Publications, 3(5), 1-8.
[22]	Singh, N., Pandey, B. R., Verma, P., Bhalla, M., Gilca, M. (2012). Phyto-pharmacotherapeutics of <i>Cyperusrotundus</i> Linn.(Motha): an overview. Indian J Nat Prod Res, 3(4),467-476.
[23]	Slougui, N., Mahfoud, H. M. (2017). Etude analytique comparative des huiles essentielles de quelques variétés de basilic cultivées pour la première fois dans diverses régions d'Algérie,Thèse de doctorat. UniversitéKasdiMerbah-Ouargla.
[24]	S. Budavari, M. J. O'Neil, A. Smith and P. E. Heckelman, "The Merck Index, an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals," 11th Edition, Merck & Co, Whitehouse Station, 2001.
[25]	Boukhatem, M. N., Ferhat, A., Kameli, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. 1, 3, 4.
[26]	J. Bruneton, pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, Tec&Doc, Lavoisier, Paris, 915, 1993.
[27]	Bouchonnet, S. (2013). Introduction to GC-MS coupling. CRC Press.
[28]	Willem J.P., 60 maux soignés par les huiles essentielles : l'aromathérapie au quotidien pour toute la famille, Les minipockets de santé, 2009, p.7-17
[29]	Jaubert, J. N. (2005). Les odeurs dans l'air: de la pollution osmique à la gêne olfactive. Environnement, Risques& Santé, 4(1), 51-61.
[30]	Nicholas H. J., Phytochemistry Organic Metabolites, Yonkers, New York, Vol. 2, 1973.
[31]	Perry, N. B., Anderson, R. E., Brennan, N. J., Douglas, M. H., Heaney, A. J., McGimpsey, J. A., Smallfield, B. M. (1999). Essential oils from Dalmatian sage ( <i>Salvia officinalis</i> L.): variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. Journal of agricultural and food chemistry, 47(5), 2048-2054.
[32]	Spichiger, R. E. (2002). Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. PPUR Presses Polytechniques, Lausanne,Suisse.
[33]	Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. Molecules, 15(12), 9252-9287.
[34]	Roux, D., Catier, O. (2007). Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, 3e éd. Rueil-Malmaison: Wolters Kluwer France.
[35]	Khandelwal, K. (2008). Practical pharmacognosy. Pragati Books Pvt. Ltd..
[36]	Serrato-Valenti, G., Bisio, A., Cornara, L., Ciarallo, G. (1997). Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of <i>Salvia aurea</i> L. leaves, and chemical analysis of the essential oil. Annals of Botany, 79(3), 329-336.
[37]	Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., Zachariah, T. J. (2008). Chemistry of spices. Édition CABI, Londres, Royaume-Uni.
[38]	Maffei, M., Chialva, F., Sacco, T. (1989). Glandular trichomes and essential oils in developing peppermint leaves. New Phytologist, 111(4), 707-716.
[39]	P. Belaiche, L'aromatogramme. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. 1979. éd, M.S.A., Paris. Tome 1, p: 204.
[40]	Alfa keitaDjibo.(2000).Analyse Des Huiles Essentielles De Quelques Plantes De La Flore Du Burkinafaso Appartenant Aux Familles Des Lamiaceae ( <i>Hyptisspicigera</i> Lam., <i>Hyptissuaveo</i> Poit., <i>Ocimumamericanum</i> L.) Et DesPoaceae <i>Cymbopogonschoenanthus</i> (L).Spreng , <i>Cymbopogoncitratus</i> (DC) stapf.
[41]	Sallé, J. L. (1991). Le totum en phytothérapie, approche de la phyto-biothérapie. Edition Frison Roche, Paris, France.
[42]	Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a



	short review. <i>Molecules</i> , 15(12), 9252-9287.
[43]	Feknous, S., Saidi, F., Ramdhane, M. S. (2014). Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse ( <i>Melissa officinalis</i> L.). <i>Revue Nature et Technologie</i> , 6(2), 07-13.
[44]	Mushollaeni, W. (2011). The physicochemical characteristics of sodium alginate from Indonesian brown seaweeds. <i>African Journal of Food Science</i> , 5(6), 349-352.
[45]	Scimeca D., <i>Les plantes du bonheur</i> , Ed. Alpen, 2007, p.12-17.
[46]	Festy D., <i>Les huiles essentielles ça marche ! Avec 78 formules à commander en pharmacie</i> , Leduc.S Edition, 2011, p. 22-26.
[47]	GLASBY, J.S. (1982), "Encyclopédia of the terpenoids", Wiley, New york.
[48]	Ouamba, J. M. (1988). Valorisation Chimique des Plantes Aromatiques du Congo: Extraction et analyse des huiles essentielles, Oximation des aldéhydes naturels, Thèse de Doctorat d'État, Université de Montpellier II, 340 p.
[49]	Kaloustian J., Hadji-Minaglou F., <i>La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie entre science et tradition pour une application médicale raisonnée</i> , Springer- verlag France, Paris, 2012, p. 17.
[50]	Festy D., <i>Je ne sais pas utiliser les huiles essentielles : Découvrir l'aromathérapie, le guide pour se soigner facilement et sans risque</i> , Ed. Leduc. S, 2012, p. 92.
[51]	<a href="https://fr.wikipedia.org/wiki/Ouargla#:~:text=G%C3%A9ographie-,Situation,%C3%A0%20618%20km%20de%20Constantine">https://fr.wikipedia.org/wiki/Ouargla#:~:text=G%C3%A9ographie-,Situation,%C3%A0%20618%20km%20de%20Constantine</a> . Président de l'APC : BouamamaNemli; 2007-2012.
[52]	Biradar S, Kangralkar VA, Mandavkar Y, Thakur M, Chougule N. Anti-inflammatory, anti-arthritic, analgesic and anticonvulsant activity of <i>Cyperus</i> essential oils. <i>International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences</i> . 2010;2(4):112-15
[54a]	Bruneton, J. (1993). <i>Huiles essentielles: phytochimie, plantes médicinales</i> , 2 <sup>e</sup> éd., Éd. Lavoisier, Paris, 406-466.
[55]	Fekih, N. (2015). Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre <i>pinus</i> poussant en Algérie. Thèse de Doctorat, Université Abou Beker Belkaid-Telemcen.
[56]	Boyle, W. (1955). Spices and essential oils as preservatives. <i>The American Perfumer and Essential Oil Review</i> , 66(1), 25-28.
[57]	X. Guo., <i>Advance in Gas Chromatography</i> , London: IntechOpen, 2014, 213 p.
[58]	Azevedo N.R., Campos I.F., Ferreira H.D., Prtes T.A., Santos S.C., Seraphin J.C., Paula J.R., Ferri P.H., Chemical variability in the essential oil of <i>Hyptissuaveolens</i> . <i>Phytochem</i> , 2001, 57(5) : 733-736.
[59b]	Bruneton J., 2009, <i>Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales</i> , 4 <sup>e</sup> édition Tec & doc, p.567-592.
[60]	E. F. Barry, R. L. Grob., 2004, <i>Modern Practice of Gas Chromatography</i> , 4 <sup>e</sup> éd, New Jersey: John Wiley & Sons Inc, p.1011
[61c]	Bruneton, J. (1993). <i>Huiles essentielles, dans Pharmacologie: phytochimie, plantes médicinales</i> , 2 <sup>e</sup> éd., Éd. Lavoisier, Paris, 406-466.
[62]	Thiery, B.; Francis, P., René, B. (1988). Extraction des huiles essentielles, <i>Chimie et Technologie, Informations Chimie</i> , 298, 179.
[63]	Pare, J.R.J. ; Belanger, J. And Sigouin, M. (1989). <i>Novel Technology in the Extraction of Essential Oils</i> , colloque sur les produits naturels d'origine végétale, ACF A, 15-19 Mai, Montréal
[64]	Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).

[65]	Lucchesi, M. E., Chemat, F., Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. <i>Journal of Chromatography A</i> , 1043(2), 323-327.
[66]	Belaiche P. (1979). <i>Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme</i> . éd. Maloine. Paris
[67]	Raaman, N. (2006). <i>Phytochemical techniques</i> . New India Publishing, New Delhi, Inde.
[68]	Hubert, R., & Richard, G. (1992). <i>Epices et aromates. Edition Tec &amp; Doc, Lavoisier, France.</i>
[69]	United Nations Industrial Development Organization, Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., Rakesh, D. D. (2008). <i>Extraction technologies for medicinal and aromatic plants</i> . Earth, Environmental and Marine Sciences and Technologies.
[70]	M. E. Lucchesi, (2005) : <i>Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles</i> , Thèse de doctorat, Université de la réunion, p : 19-50.
[71]	Lamamra, M. (2018). <i>Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'Ammiopsis aristidis Coss. (Syn. Daucus aristidis Coss.) et d'Achillea santolinoides Lag</i> . Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas -Sétif .
[72]	Belaiche P. (1979). <i>Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme</i> , éd. Maloine. Paris
[73]	Canada E. Beneteaud. (2011). <i>Les techniques d'extraction</i> . Document ressource .Sorce : comité français du Parfum.
[74]	Duraffourd C., D'Hervicourt L. and Lapraz J. C. (1990). <i>Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques</i> . 2ème éd. Masson, Paris.
[75]	Deschepper Robin, <i>Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie</i> , 101 thèse, Faculté de pharmacie de Marseille ; 2017 ; disponible sur : <a href="https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01515314/document">https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01515314/document</a>
[76]	Global Invasive Species Database, <i>Cyperus rotundus</i> , <a href="http://www.issg.org/database/species/ecology.aspx?si=1448">http://www.issg.org/database/species/ecology.aspx?si=1448</a> [27 April 2009]
[77]	Global Invasive Species Database, by the Invasive Species Specialist Group (ISSG) of the Species Survival Commission of the IUCN. <a href="http://www.issg.org/database/species/ecology.aspx?si=1448&amp;lang=EN">http://www.issg.org/database/species/ecology.aspx?si=1448&amp;lang=EN</a>
[78]	Database of Weed Species in Crops and Countries, by Food and Agriculture Organisation of UN. <a href="http://www.fao.org/agriculture/crops/thematicsite/map/theme/bio">http://www.fao.org/agriculture/crops/thematicsite/map/theme/bio</a>
[79]	Archana, P., Samatha, T., Mahitha, B., Chamundeswari, N. R. (2012). Preliminary phytochemical screening from leaf and seed extracts of <i>Senna alata</i> L. Roxb-an ethno medicinal plant. <i>Int J Pharm Biol Res</i> , 3, 82-89.
[80]	World Health Organization. <i>Traditional Medicine Strategy 2002-2005</i> . WHO. Geneva, 2002. Amsterdam, 2000.
[81]	Ozenda P., 1983, <i>Flore du Sahara</i> ; C.N.R.S., Paris.
[82]	Oh GS, Yoon J, Lee GG, Kwak JH, Kim SW. The Hexanefraction of <i>Cyperus rotundus</i> prevents non-alcoholic fatty liver disease through the inhibition of liver X receptor $\alpha$ -mediated activation of sterol regulatory element binding protein-1c. <i>The American Journal of Chinese Medicine</i> . 2015; 43(3):477-94.
[83]	Solita ES, Castor L. Phytochemical and pesticidal properties of <i>barsanga</i> ( <i>Cyperus rotundus</i> Linn.). <i>JPAIR Multidisciplinary Research Journal</i> . 2011;6(1):197-214.
[84]	Park SE, Shin WT, Park C, Hong SH, Kim GY, Kim SO. Induction of apoptosis in MDA-MB-231 human breast carcinoma cells with an ethanol extract of

	<i>Cyperusrotundus</i> L. by activating caspases. <i>Oncology Reports</i> .2014;32(6):2461-70
[85]	Bhaskar D, Dilipkumar P, Haldar A. A review on <i>Cyperusrotundus</i> as a tremendous source of pharmacologically active herbal medicine. <i>International Journal of GreenPharmacy</i> . 2015;9(4):198-203
[86]	Dhillon RS, Singh S, Kundra S, Basra AS. Studies on the chemical composition and biological activity of essential oil from <i>Cyperusrotundus</i> Linn. <i>Plant Growth Regul</i> 1993; 13: 89-93.
[87]	E. F. Barry, R. L. Grob., <i>Columns for Gas Chromatography</i> , New Jersey: John Wiley& Sons Inc, 2007, 281 p.
[88]	Berregioua A.(2016), Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicaceamédicinales du sud Algérien: Moricandiaarvensis et Zillamacroptera, Thèse de doctorat, Université de Tlemcen.
[89]	Hildebert Wagner, Sabine Bladt, Eva Maria Zgainski, (1984), <i>Plant Drug Analysis- A Thin Layer Chromatography</i> , Atlas-Springer Berlin Heidelberg
[90]	Paré J. (1997). Procédé assisté par micro-ondes. <i>Info-essences</i> , Bulletin sur les huiles essentielles, 4 :p.4.
[91]	Berregioua, A. (2016). Investigation phytochimique des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud Algerien: Moricandiaarvensis et Zillamacroptera Thèse de Doctorat, Université Abou Beker Belkaid, Tlemcen.
[92]	Dhillon RS, Singh S, Kundra S, Basra AS. Studies on the chemical composition and biological activity of essential oil from <i>Cyperusrotundus</i> Linn. <i>Plant GrowthRegul</i> 1993; 13: 89-93.
[93]	Lucchesi, M. E., Chemat, F., Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. <i>Journal of Chromatography A</i> , 1043(2), 323-327.
[94]	Schauenberg, P., Paris, F. (1977). Delachaux et Niestlé, éd. <i>Guide des plantes médicinales (French)(Medicinal and Aromatic Plants Guide)</i> . Neuchâtel. 386 pp.
[95]	Olivero-Verbel, J., González-Cervera, T., Güette-Fernandez, J., Jaramillo-Colorado, B., Stashenko, E. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. <i>RevistaBrasileira de Farmacognosia</i> , 20(4), 568-574.
[96]	S. Bouhonnet., <i>La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse</i> , Paris: Lavoisier, 2009, p. 194.
[97]	Leszczynska, D. (2007). <i>Management de l'innovation dans l'industrie aromatique: Cas des PME de la région de Grasse</i> . Editions l'Harmattan, Paris,
[99]	Burt S., 2004, <i>Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review</i> . <i>International Journal of Food and Microbiology</i> . 94: 223-253.
[100]	<i>Database of Weed Species in Crops and Countries</i> , by Food and Agriculture Organisation of UN. <a href="http://www.fao.org/agriculture/crops/thematicsitemap/theme/">http://www.fao.org/agriculture/crops/thematicsitemap/theme/</a>
[101]	Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R. Sarkinas A. 2006. Antimicrobial Activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. <i>Journal of Essential OilResearch</i> . 18: 698-703.
[102]	Archana, P., Samatha, T., Mahitha, B., Chamundeswari, N. R. (2012). Preliminary phytochemical screening from leaf and seed extracts of <i>Sennaalata</i> L. Roxb-an ethno medicinal plant. <i>Int J Pharm Biol Res</i> , 3, 82-89.
[103]	Bézanger-Beauquesne, L., Pinkas, M., Torck, M. (1975). <i>Les plantes dans la thérapeutique moderne</i> . Maloine.
[104]	Sofia, N. H., Walter, T. M., Merish, S., Tamizhamuthu, M. (2014). An overview of nut grass ( <i>Cyperusrotundus</i> ) with special reference to Ayush. <i>World J. Pharm. Res</i> , 3, 1459-1471.

<b>[105]</b>	Bouziane, M., (2015). Extraction et analyse de la composition chimique de plantes sahariennes d'intérêt médicina, Thèse de Doctorat. UniversitéKasdiMerbah-Ouargla.
<b>[106]</b>	Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, Thèse de Doctorat, Université d'Avignon.
<b>[107]</b>	Abo-Altemen, R. A., Al-Shammari, A. M., Shawkat, M. S. (2019). GC-MS analysis and chemical composition identification of <i>Cyperusrotundus</i> L. from Iraq. EnergyProcedia, 157, 1462-1474.
<b>[108]</b>	Chenni, M. (2016). Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic «Ocimum basilicum L.» extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. Thèsede Doctorat, Universitéd'Oran, 1.

### المخلص :

يهدف هذا العمل إلى دراسة الزيوت الأساسية والفاعلية المضادة للبكتيريا للزيت الأساسي لنبتة عطرية التي تنتمي إلى العائلة السعدية. من أجل إثراء هذا البحث أجرينا استبيان حول استعمالات النبتة وكذلك التطرق لبعض الدراسات السابقة التي أجريت عليها. وبغرض التعرف على المواد الفعالة المحتوات في النبتة قمنا باختبارات فيتوكيميائية أولية فأوضحت النتائج تواجد جل منتجات الأيض الثانوي كالتربينات ، الفلويدات. من جهة أخرى قمنا بتحليل زيوتها الأساسية بواسطة GC-MS والتي تم استخلاصها بواسطة جهاز التقطير المائي Clevenger . سمح هذا التحليل بتشخيص بعض المركبات التربينية. وفي الاخير تمت دراسة الفاعلية المضادة للبكتيريا للزيوت المستخلصة.

**الكلمات المفتاحية:** الزيوت الأساسية ، GC-MS ، الفاعلية المضادة للبكتيريا ، العائلة السعدية ، *Cyperus rotundus*

### Abstract:

This work aims to study the essential oils and the antibacterial activity of the essential oil and an aromatic plant of the Cyperaceae family. In order to enrich this research, we conducted a survey about the uses of the plant, as well as the study of some previous researches that were conducted on it. In order to identify the active substances contained in the plant, we carried out a series of phytochemical tests, and the results showed the presence of most secondary metabolites products such as terpenes, alkaloids,. Then we extracted the essential oils from plant by hydrodistillation using the Clevenger. They were analyzed by GC-MS. Finally, the extracted oils have been studied for the antibacterial effect.

**Key Words:** *Cyperus rotundus*, Cyperaceae family, Essential Oils, GC-MS, Antibacterial Effect.

### Résumé:

Ce travail vise l'étude des huiles essentielles et l'activité antibactérienne d'une plante aromatique de la famille des Cyperaceae. Afin d'enrichir cette recherche, une enquête ethnobotanique est menée sur les usages de la plante, ainsi que l'étude de quelques recherches antérieures qui y ont été exploités. Les tests phytochimiques réalisés ont montré la présence de la plupart des métabolites secondaires tels que les terpènes, les alcaloïdes, etc. Par ailleurs, les huiles essentielles de la plante extraites par hydrodistillation à l'aide du Clevenger ont été analysées par GC-MS. Cette analyse a permis l'identification de quelques produits terpéniques. Enfin, une mise en évidence de l'activité antibactérienne des huiles extraites a été effectuée. .

**Mots clés:** *Cyperus rotundus*, Cyperaceae, huiles essentielles, GC-MS, antibactérien