



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De l'Enseignement Supérieur et De la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : SCIENCES *BIOLOGIQUES*

Spécialité : *Biochimie appliquée*

Thème

*Extraction des huiles essentielles et
leurs activités biologiques*

Présenté par :

M^{elle} : ZEDIRA Dounia

M^{elle} : SID Lila

M^{elle} : BOULOUIZ Chaima

Encadré par :

Dr. HABIBATNI Sofiane

Membres de jury :

Président : Dr. HAMADA Yousef

M.A.A Université de Khenchela

Encadreur : Dr. HABIBATNI Sofiane

M.C.B Université de Khenchela

Examineur : Dr. BENSSADA Mustafa

M.C.B Université de Khenchela

2020/2021



Remerciements

Tout d'abord on remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la santé pour accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier vivement notre encadreur Monsieur HABILBATNI Sofiane pour tous les efforts qu'il a fourni à notre égard et d'encadrer ce modeste travail, nous le remercions pour son suivi, ses orientations, ses conseils qui nous ont servi de référence.

Nous tenons à remercier les membres du jury d'avoir répondu présent à l'évaluation de ce modeste travail de fin d'études.

Dr. HAMADA YOUSEF d'être président du jury de soutenance.

Dr. BENSSADA MUSTAFA d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à concrétiser ce travail.



Dédicace

En premier lieu en remercie ALLAH pour tous les bienfaits qu'il à permis de bienaccomplir ce modeste travail.

Ma mère, la lumière qui m'a toujours éclairée le chemin. A celle qui a tout fait pour ma réussite, par sa tendresse, ses sacrifices et ses prières. Et leur confiance et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer. Merci beaucoup.

A l'âme mon père qui nous a quitté, je dédie ce travail.

A mes chers frères : Fateh, Zaki, Razki

A mes chers sœurs: Nadjat, Hayet, Sakina

Adem, Sajad

Je dédie aussi ce modeste travail :

A mes meilleurs amies : Marwa, Radia, Sihem, Zainb, Zahia, Loubna, Nawal

A toute ma famille ZEDIRA

Ames trinômes Lila et Chaima

A mes collègues de la promotion de master 2 biochimie appliquée

Dounia



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes chers parents que Dieu les garde

À mes frères et sœurs

À tous mes amis

À tous ceux qui me connaissent

Chaima





Dédicace

En premier lieu en remercie ALLAH pour tous les bienfaits qu'il à permis de bienaccomplir ce modeste travail.

A mes chers parents, ma mère yamina et mon père Abdalghani pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement tout au long de ma vie.

A mes frères Walid et sa femme Abba, Hicham, Abd alhamid, Abd alhakim, Salah et petite Maryam.

Je vous souhaite beaucoup de bonheur et de réussite à toutes les familles, et toute personne qui me connaisse et me considère.

A tous mes collègues de la promotion master 2 biochimie appliqué avec qui j'ai partagé les joies et les difficultés durant ces années aux personnes qui m'ont encouragé et motivé, qui n'ont cessé d'œuvré pour ma réussite et pour mon bonheur pour tous merci.

Lila

Résumé

Notre travail porte sur l'extraction et l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de six plantes aromatiques.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation des parties aériennes de *thymus sp*, *Alpinia officinarum*, *Syzygium aromaticum (L)*, *Rosmarinus officinalis*, *Illicium verum (L)*, *Artemisia herba alba*. Le rendement obtenu est de 2.62%, 0.075%, 1.88%, 0.42%, 2.58% et 0.88%, ils sont intéressants pour une exploitation industrielle.

Pour l'activité antibactérienne des HE sur quatre souches bactériennes pathogène (deux Gram négatif : *Escherichia coli*, *Klebsiella* et deux Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) par la technique de l'aromatogramme.

Les résultats ont montré une meilleure activité de *Thymus* et de *Clous de Girofle* que les quatres autres huiles.

Pour l'activité antifongique des HE sur la *levure* et le *penicillium*, a montré un forte activité d'HE de *Badiane* et *Clous de Girofle* que les quatres huiles.

Toutes les HE ont montré des effets plus ou moins importants sur les quatres souches bactériennes et les deux souches fongiques.

Mots-clés : huiles essentielles, hydrodistillation, activité antibactérienne, activité antifongique, aromatogramme, *thymus sp*, *Alpinia officinarum*, *Syzygium aromaticum (L)*, *Rosmarinus officinalis*, *Illicium verum (L)*, *Artemisia herba alba*

Abstract

This work deals with the extraction and study of the antibacterial and antifungal activity of essential oils from six aromatic plants.

The extraction of essential oils was carried out by hydrodistillation of the aerial parts of *thymus sp*, *Alpinia officinarum*, *Syzygium aromaticum (L)*, *Rosmarinus officinalis*, *Illicium verum (L)*, *Artemisia herba alba*. The yield obtained is 2.62%, 0.075%, 1.88%, 0.42%, 2.58% and 0.88% they are interesting for industrial exploitation.

For the antibacterial activity of essential oils on four pathogenic bacterial strains (two Gram negative: *Escherichia coli*, *Klebsiella* and two Gram positive: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) by the aromatogram technique.

The results showed better activity of *thymus* and *cloves* than the other four oils

For the antifungal activity of essential oils on *yeast* and *penicillium*, star anise and cloves showed strong essential oils activity than the four oils.

All the essential oils showed more or less important effect on the four bacterial strains and the two fungal strains.

Keywords: essential oils, hydrodistillation, antibacterial activity, antifungal activity, aromatogram, *thymus sp*, *Alpinia officinarum*, *Syzygium aromaticum (L)*, *Rosmarinus officinalis*, *Illicium verum (L)*, *Artemisia herba Alba*.

ملخص

يركز عملنا على استخراج وتحليل ودراسة النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات للزيوت الأساسية من ستة نباتات عطرية. تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي للأجزاء الهوائية للزعيترة، خولنجان، قرنفل، الإكليل الجبلي، نجمة الأرض، الشيح المرودية تساوي (0.88% , 2.58% , 0.42% , 1.88% , 0.075% , 2.62%) وهي ذات فائدة للاستغلال الصناعي.

بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية على أربع سلالات بكتيرية ممرضة (اثنتان سالبة الجرام: *Escherichia coli*, *Klebsiella* واثنتان موجبتان للجرام: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) بتقنية aromatogramme.

أظهرت النتائج فعالية أفضل للزعيترة والقرنفل مقارنة بالزيوت الأربعة الأخرى.

بالنسبة للنشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية على الخميرة والبنسليوم، أظهرت الينسون والقرنفل نشاطا قويا مقارنة بالزيوت الأربعة.

أظهرت جميع الزيوت الأساسية تأثيرات أكثر أو أقل أهمية على السلالات البكتيرية الأربعة والسلالتين الفطرية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، التقطير المائي، النشاط مضاد للجراثيم، النشاط مضاد للفطريات، aromatogramme, *thymus sp*, *Alpinia officinarum*, *Syzygium aromaticum (L)*, *Rosmarinus officinalis*, *Illicium verum (L)*, *Artemisia herba Alba*.

Liste des figures

Figure 1 : Schéma du principe de la technique d'hydro distillation.....	04
Figure 2 : Exemples de quelques structures de monoterpènes	05
Figure 3 : Exemples de quelques structures de sesquiterpènes	05
Figure 4 : Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane.....	06
Figure 5 : Distribution géographique du thym dans le monde.....	09
Figure 6 : Fleurs, feuilles et rhizome frais du galanga	12
Figure 7 : Feuilles et fleurs du giroflier et quelques boutons floraux	14
Figure 8 : Rosmarinus officinalis région de kenchela (bouhmama)	17
Figure 9 : Feuille de Rosmarinus officinalis	18
Figure10 : La fleur de Rosmarinus officinalis	18
Figure11 : Tige principale et rameau Feuillé à fleurs du Romarin.....	19
Figure12 : Planche d'herbier figurant l'anis étoilé.....	23
Figure13 : Dispositif d'extraction Clevenger.....	30
Figure14 : Protocole expérimental d'extraction des huiles essentielles.....	31
Figure15 : Illustration de la méthode d'aromatogramme	33
Figure16 : Les disques.....	34
Figure17 : Les différentes dilutions des six huiles essentielles.....	34
Figure18 : Suspension bactérienne.....	35
Figure19 : L'ensemencement.....	36
Figure20 : Dépôt des disques	36
Figure21 : Levure et penicillium après repiquage.....	37

Figure22 : Effet de l'huile essentielle de Thymus sp sur les quatre souches bactériennes testées (a : Staphylococcus aureus ; b : Bacillus subtilis ; c : klebsiella ; d : E. coli)	39
Figure23 : Effet de l'huile essentielle de Thymus sp sur les quatre souches bactériennes testées (a : Staphylococcus aureus ; b : Bacillus subtilis ; c : klebsiella ; d : E. coli)	40
Figure24 : Effet de l'huile essentielle d'Alpinia sur les quatre souches bactériennes testées (a : Staphylococcus aureus ; b : Bacillus subtilis ; c : klebsiella ; d : E. coli)	41
Figure25 : Effet de l'huile essentielle d'Artemisia sur les quatre souches bactériennes testées (a : Staphylococcus aureus ; b : Bacillus subtilis ; c : klebsiella ; d : E. coli)	41
Figure26 : Effet de l'huile essentielle de Girofle sur les quatre souches bactériennes testées (a : Staphylococcus aureus ; b : Bacillus subtilis ; c : klebsiella ; d : E. coli)	42
Figure27 : Effet de l'huile essentielle de Badiane sur les quatre souches bactériennes testées (a : Staphylococcus aureus ; b : Bacillus subtilis ; c : klebsiella ; d : E. coli).....	43
Figure28 : Zones d'inhibition (après 7 jrs) d'Artemisia herba alba: (a) levure (b) penicillium.....	44
Figure29 : Zones d'inhibition (après 7 jrs) Alpinia officinarum: (a) levure (b) penicillium.....	45
Figure30 : Zones d'inhibition (après 7 jrs) d' Rosmarinus officinalis: (a) levure (b) penicillium.....	45
Figure31 : Zones d'inhibition (après 7 jrs) de Thymus sp: (a) levure (b) penicillium	45
Figure32 : Zones d'inhibition (après 7 jrs) de Girofle: (a) levure (b) penicillium	45
Figure33 : d'inhibition (après 7 jrs) d'Illicium verum: (a) levure (b) penicillium.....	46

Liste des tableaux

Tableau 1 : Localisation des principales espèces du <i>Thym</i> en Algérie.....	09
Tableau 2 : Composition de l'huile essentielle de romarin	20
Tableau 3 : Les souches bactériennes et les souches fongiques testées.....	29
Tableau 4 : Le montage de type Clevenger est composé de quatre parties principales.....	31
Tableau 5 : Le rendement en huiles essentielle	38
Tableau 6 : Résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE de <i>Thymus sp</i> sur les quatresouches bactériennes testées.....	39
Tableau 7 : Résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE de <i>Rosmarinus</i> sur les quatresouches bactériennes testées.....	40
Tableau 8 : Résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE d' <i>Alpinia</i> sur les quatresouches bactériennes testées.....	41
Tableau 9 : Résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE d' <i>Artemisia</i> sur les quatre souches bactériennes testées.....	42
Tableau10 : Résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE de <i>Girofle</i> sur les quatre souches bactériennes testées.....	42
Tableau11 : Résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE de <i>Badiane</i> sur les quatresouches bactériennes testées.....	43
Tableau12 : Zones d'inhibition en (mm) après 7 jours d'incubation de <i>levure</i>	46
Tableau13 : Zones d'inhibition en (mm) après 7 jours d'incubation de <i>penicillium</i>	46

Liste des abréviations

- ❖ **HE** : Huile Essentielle
- ❖ **AMH** : Agar Mueller Hinton
- ❖ **DMSO** : Dimethylsulfoxyde
- ❖ **NACL** : Chlorure de sodium
- ❖ **PDA** : Potato Dextrose Agar
- ❖ **EP** : Ether de Petrol
- ❖ **RH** : Rendement en Huile Essentielle
- ❖ **µL**: Microlitre
- ❖ **g**: Gramme
- ❖ **mm**: millimètre
- ❖ **CMI**: Concentration Minimale Inhibitrice
- ❖ **GN** : Gélose Nutritive
- ❖ **%** : pourcentage
- ❖ **h** : Heure
- ❖ **m'** : masse d'huile essentielle en g
- ❖ **m** : masse de la matière végétale utilisée en g
- ❖ **DO** : la densité optique

Table des matières

Remerciements

Résumés

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 01

Etude bibliographique

Chapitre I : les huiles essentielles

I. Généralités sur les huiles essentielles	02
I. 1. Définition.....	02
I. 2. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....	02
I.3. localisation et les Rôle des huiles essentielles chez les végétaux.....	02
I.4. Contrôle de qualité	03
I.5. Technique d'extraction des huiles essentielles.....	03
I.6. Hydrodistillation ou distillation à l'eau.....	03
I.7. Les compositions chimiques des huiles essentielles.....	04
I. 7. 1. Des composés terpéniques.....	04
I.7.2. Des composés aromatiques.....	05
I.8. Applications des huiles essentielles.....	06
I.8.1. En industrie agro-alimentaire.....	06
I.8.2. En parfumerie et cosmétique.....	06
I.8.3. En pharmacie.....	07

Chapitre II : Description des plantes étudiées

I. La famille des Lamiacées (<i>thymus sp</i>).....	08
II. <i>Thymus sp</i>	08
II.1.Nom scientifique.....	08

II.2. Noms vernaculaires	08
II.3. Systématique.....	08
II.4. Description botanique.....	08
II.5. Distribution géographique	08
II.6. Composition chimique.....	10
II.7. Propriétés thérapeutiques.....	10
III. <i>Alpinia officinarum</i> Hance	11
III.1. Classification.....	11
III.2. Description.....	11
III.3. Principaux Constituants.....	12
III.4. Pharmacologie de la Plante.....	12
IV. <i>Syzygium aromaticum</i> (L) Merrill & Perry.....	13
IV .1. Classification.....	13
IV .2. Description.....	13
IV.3. Principaux Constituants.....	14
IV .4. Pharmacologie de la Plante.....	14
V- <i>Rosmarinus officinalis</i> (romarin).....	15
V.1. Classification botanique.....	15
V.2. Origine.....	16
V.3. Appareil végétatif.....	17
V.4. Appareil reproducteur.....	18
V.5. Description botanique.....	19
V.6. Composition chimique du romarin.....	19
V.7. Utilisation de Romarin.....	21
VI. <i>Illicium verum</i> (l).....	22
VI.1. Origine.....	22
VI.2. Description botaniques.....	22
VI.3. Systématique.....	23
VI.5. Effet thérapeutiques.....	23
VI.6. Toxicologie.....	24
VII. <i>Artemisia herba alba</i>	24
VII.1. Présentation.....	24
VII.2. Appellation.....	24
VII.3. Nomenclature et taxonomie.....	25

VII.4. Description botanique	25
VII.5. Répartition géographique.....	25
VII.6.Principaux composés d' <i>Artemisia herba alba</i>	26
VII.7. Domaines d'utilisations	26
VII.7.1. Domaine thérapeutique	26
VII.7.2.Domaine alimentaire.....	27
VII.7.3.Domaine de la cosmétologie.....	27

Etude expérimentale

Chapitre III : Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes.....	28
I.1. Matériel biologique.....	28
I.1.1. Appareillage.....	28
I.1.2. Matériel végétal.....	28
I.1.3. Matériel du test de l'activité antibactérienne et antifongique.....	29
I.1.3.1. Micro-organismes	29
I.1.3.2. Les milieux de culture.....	29
II. Méthodes expérimentales.....	30
II.1.Extraction de l'huile essentielle	30
II.1.1Principe.....	30
II .1.2. Mode opératoire.....	31
II.1.3. La décantation.....	32
II.1.4. Conservation de l'huile essentielle.....	32
II.1.5.Détermination du rendement d'extraction.....	32
III. Etude l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	32
III.1. Méthode de diffusion sur disques (aromatogramme).....	33
III.2. Préparation des disques d'aromatogramme.....	33
III.3. Préparation des dilutions des huiles essentielles.....	34
III.4. Préparation des suspensions microbiennes.....	34
III.5. L'ensemencement.....	35
III.6. Dépôt des disques d'aromatogramme.....	36
III.7. la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)	36
IV. Etude l'activité antifongique des huiles essentielles.....	37

IV.1.Préparation de la suspension fongique.....	37
V. Etude statistique.....	37

Chapitre IV : Résultat et discussion

I. le rendement d'extraction.....	38
II. Résultats de l'activité antibactérienne.....	39
II.1. Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne l'HE de <i>thymus sp</i>	39
II. 2.Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i>	40
II. 3.Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne l'HE <i>Alpinia officinarum</i>	40
II.4.Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne l'HE d' <i>Artemisia herba alba</i>	41
II.5.Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne de <i>Syzygium aromaticum(L)</i>	42
II.1.6.Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne d' <i>Illicium verum</i>	43
III. Résultats de l'activité antifongique.....	44
Conclusion.....	48
Références bibliographiques.....	49

Introduction

Introduction

Les composés naturels isolés à partir de plantes ont montré un large spectre d'activités biologiques. Parmi ces composés, les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques, les polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes ...

Les huiles essentielles ont reçu une attention particulière comme agents naturels à grand potentiel pour la conservation des aliments. En outre, les huiles essentielles se sont avérées avoir divers effets pharmacologiques: comme antispasmodique, carminative, hépatoprotecteur, antiviraux, anticancéreux et antioxydants [1].

D'autres études ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un important potentiel en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux. La diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés, ainsi qu'une utilisation moins dommageable, donc pas d'effets secondaires [2 ;3 ;4].

La présente étude, vise à évaluer les activités antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles des parties aériennes de six plantes différentes : *Thymus sp*, *Badiane*, *Rosmarinus*, *Artemisia*, *Alpinia*, *Clous de Girofle*.

Dans une première partie de ce travail, nous présenterons un rappel bibliographique sur les huiles essentielles et leurs relations avec certaines activités biologiques.

Dans une deuxième partie nous présentons le matériel et les méthodes utilisés, notamment l'extraction des huiles essentielles, l'étude de leur activité antibactérienne, antifongique. Nous discuterons les résultats obtenus au cours de cette étude.

Etude Bibliographique

Chapitre I

Les Huiles Essentielles

I. Généralités sur les huiles essentielles

I. 1. Définition : Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommés qui s'écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid, comme les agrumes. De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes [5].

I.2. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles, entraînaibles à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau. Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé. Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclarée et de Romarin officinal. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité. Elles sont constituées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atomes de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15) [6].

I.3. Localisation et les rôles des huiles essentielles chez les végétaux

La teneur des plantes en huiles essentielles est généralement faible, de l'ordre de 1%, les huiles essentielles sont largement répandues chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes, les sommités fleuries, les feuilles, les rhizomes, les fruits, les écorces et les graines. Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et à assurer leur défense. Les plantes possédant ces composés toxiques, qualifiés de phagodétendants ou d'inappétants sont moins consommées. De façon générale les terpénoïdes, jouent un rôle fondamental dans les interactions entre les organismes vivants, permettant par exemple à une plante d'attirer les pollinisateurs, ou les prédateurs ou les parasitoïdes des herbivores venant l'attaquer. C'est en particulier ce dernier rôle qui donne toute son importance à une stratégie bioinspirée de recherche de composés antifongiques,

antibactériens ou bioinsecticides parmi les métabolites secondaire, et en particulier les huiles essentielles [7].

I.4. Contrôle de qualité

Les huiles essentielles doivent répondre à des normes analytiques, établis par des commissions nationales et internationales d'experts et imposés par les pays importateurs ou exportateurs. Les points de contrôle à effectuer pour se prémunir de la falsification des huiles essentielles et éviter les confusions entre les différentes espèces concernent l'origine géographique, l'espèce botanique, l'organe producteur (feuilles, fleurs, fruits, écorces...) et les caractéristiques physico-chimiques (couleur, odeur, densité et indice de réfraction). Tout ceci permettra d'utiliser une appellation présente dans la nomenclature botanique et valable dans le monde entier. L'Institut de Normalisation Scientifique d'Aromatologie INSA a retenu trois critères pour conférer aux huiles essentielles le label « HEBBD » : **Huile Essentielle Botaniquement et Biochimiquement Définie** [6]. Il s'agit de :

- L'espèce botanique
- L'organe producteur
- Le chémotype ou chimiotype de la plante

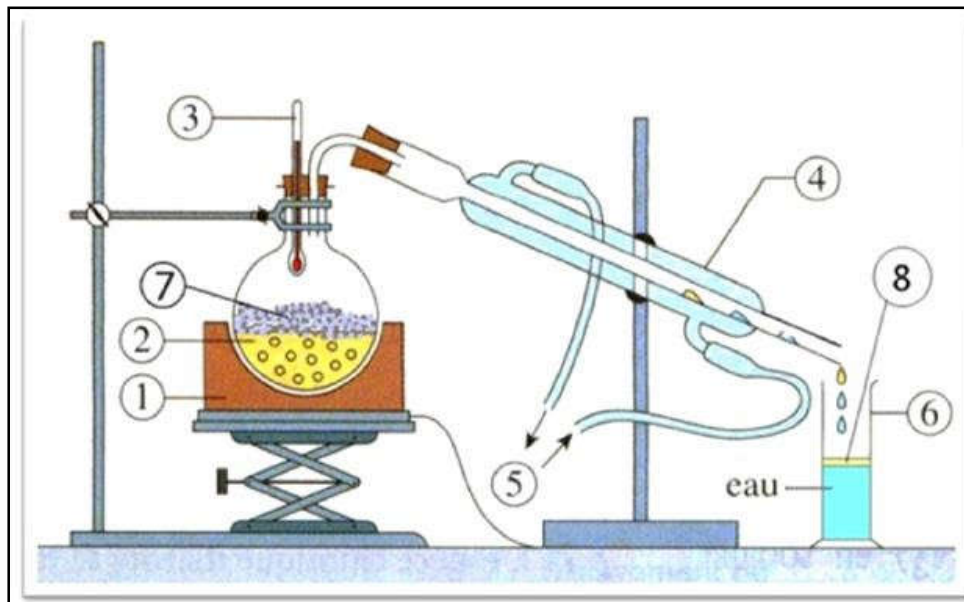
I.5. Technique d'extraction des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles émises par une plante se déroule en trois étapes : extraction des composés aromatiques, analyse de l'extrait et traitement des résultats pour identifier et quantifier les composés. Les composés organiques volatils sont généralement présents dans les matrices végétales à de très faibles concentrations, et sont de polarités, volatilités et stabilités très variables. Les molécules odorantes sont constituées d'un squelette hydrocarboné qui peut être linéaire, cyclique ou aromatique. Presque toutes les fonctions chimiques portées par ces chaînes sont représentées : alcools, composés carbonylés (principalement les aldéhydes), esters, éthers, phénols et enfin dérivés soufrés et hétérocycles [8].

I.6. Hydrodistillation ou distillation à l'eau

Le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Cette méthode est généralement indiquée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est la non maîtrise de la

température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de la couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation [7].



- | | |
|-------------------|---------------------------------|
| 1- Chauffe ballon | 5- Entrée et sortie d'eau |
| 2- Ballon | 6- Erlenmeyer |
| 3- Thermomètre | 7- Matière à extraire l'essence |
| 4- Réfrigérant | 8- Couche d'HE |

Figure 1: schéma du principe de la technique d'hydro distillation [9]

I.7. Les compositions chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpènes volatils et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

On retrouve plus d'un millier de composants chimiques dans les huiles essentielles [6].

I.7.1. Des composés terpéniques

Ce sont des hydrocarbures ayant respectivement dix et quinze atomes de carbone, qui peuvent être saturés ou insaturés, acycliques, monocycliques, bicycliques ou polycycliques. Ils peuvent également être accompagnés de leurs dérivés oxygénés : alcools, esters, éthers, aldéhydes, cétones, etc.

Ces composés se sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes. Seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : les monoterpènes (myrcène, P-pinène, γ -terpinène, etc.), et les sesquiterpènes (E Caryophyllène, α -humulène). Rappelons ici que les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités « isopréniques » (C_5H_8), soit deux unités pour les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$) (figure2) et trois pour les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$) (figure3). Et rarement, quelques diterpènes ($C_{20}H_{32}$) peuvent se retrouver dans les huiles essentielles [10].

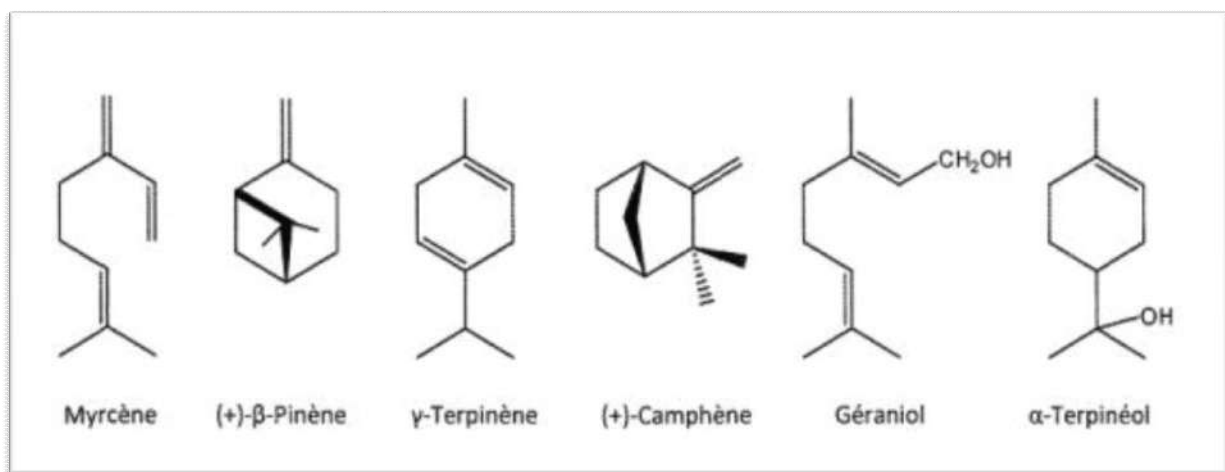


Figure 2 : Exemples de quelques structures de monoterpènes [11]

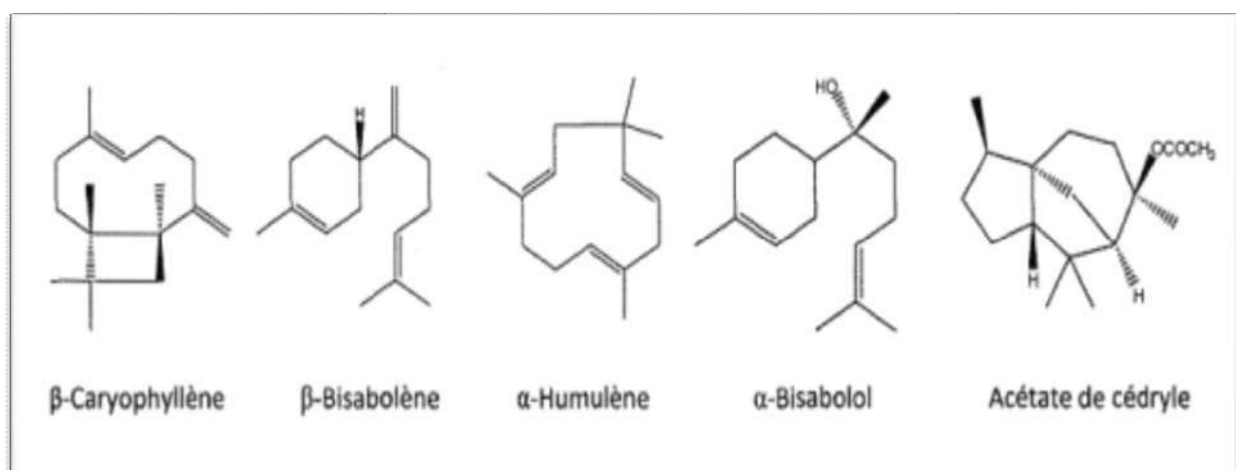


Figure 3 : Exemples de quelques structures de sesquiterpènes [11]

I.7.2. Des composés aromatiques

Ce sont des composés aromatiques dérivés du phénylpropane [12]. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien

d'autres fournissent une saveur significative et indispensable à l'huile essentielle. On peut également retrouver des produits de masse moléculaire plus importante non entraînable à la vapeur d'eau [13].

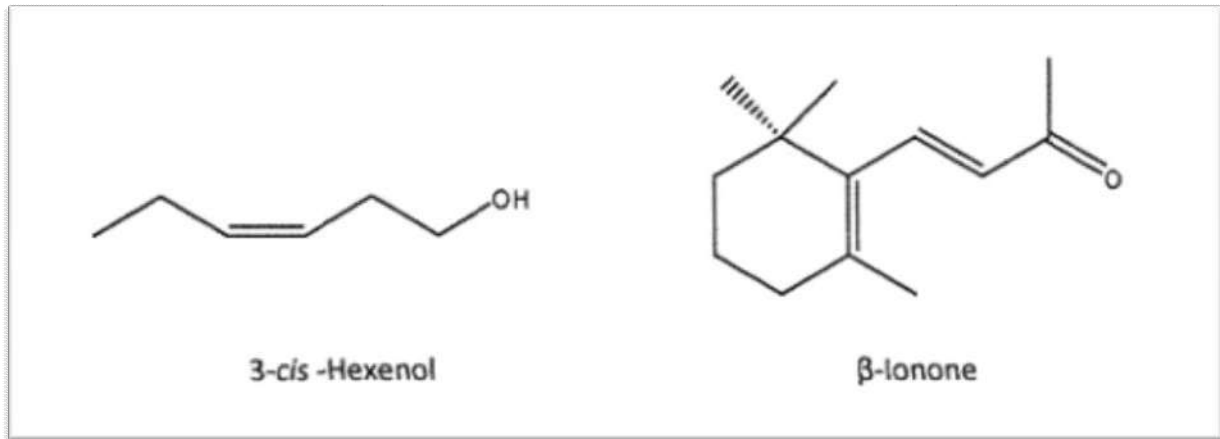


Figure 4 : Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane [11]

I.8. Applications des huiles essentielles

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues [14].

I.8.1. En industrie agro-alimentaire

Les études faites à travers le monde, montrent que les huiles essentielles peuvent être ajoutées à peu près à tous les aliments. Ainsi, les huiles essentielles d'origan, de Thym, de cannelle ou de coriandre sont efficaces pour les viandes, les volailles, les charcuteries et les légumes; l'huile essentielle de menthe pour les produits frais (salades, Yaourts...); les huiles essentielles à base de carvacrol ou de citral pour les poissons; les huiles essentielles de thym, de noix de muscade ou de gingembre pour les céréales (plus particulièrement celles riches en carvacrol pour le riz); et les huiles essentielles à base de carvacrol ou de cinnamaldéhyde, pour les fruits [15].

I.8.2. En parfumerie et cosmétique

L'utilisation des huiles essentielles comme base dans la fabrication de parfums constitue une pratique courante depuis des siècles dans la plupart des civilisations. En Europe et aux États-Unis, ont développé des industries importantes qui se démarquent par leur haut niveau d'exportations dans ce domaine [16].

I.8.3. En pharmacie

Dans leur grande majorité, elles sont utilisées en nature, en particulier pour la préparation d'infusions (menthe, mélisse, verveine, fleurs d'orange, etc.) et sous la forme de préparations galéniques simples. Elles sont également utilisées pour l'obtention d'huiles essentielles dont un petit nombre peut avoir un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes) mais qui, majoritairement, sont surtout destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées par voie orale [17].

Chapitre II

Description des plantes étudiées

I. La famille des Lamiacées (*thymus sp*)

La famille des lamiacées comporte 2700 espèces réparties en 31 genres. D'après, on compte jusqu'à 200 genres et environ 3500 espèces. Les plantes de cette famille sont des herbacées (ou plus au moins ligneuses), à feuilles opposées sans stipule, à tige quadrangulaire et à fleurs irrégulières et gamopétales disposées en grappes (parfois d'apparence verticillée, en épis ou en capitule). La plante est couverte de poils glanduleux renfermant une huile essentielle [18].

II. *Thymus sp*

II.1. Nom scientifique

Thymus sp.

II.2. Noms vernaculaires

- Français : thym des jardins, Farigoule, frigoule, barigoule.
- Anglais : commonthyme, gardenthyme
- Arabe : زعيرة
- kabyle : Tizaatarte, Tizerdite [19].

II.3. Systématique

Règne : Plantae
Embranchement : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Sous classe : Asteridae
Ordre : Lamiales
Famille : Lamiaceae
Genre : *Thymus* [19].

II.4. Description botanique

Les thym (*Thymus sp*) sont des sous arbrisseaux ligneux, pouvant atteindre 40cm de hauteur. ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncé, et qui sont recouvertes de poils tecteurs et sécréteurs (appelés trichomes). Les trichomes contiennent l'huile essentielle majoritairement composée de mono-terpènes. Les calices et les jeunes tiges sont aussi couverts de ces structures qui libèrent l'essence par simple contact, bien qu'en plus faible densité sur les tiges. Ses petites fleurs zygomorphes sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose [19].

II.5. Distribution géographique

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des Lamiaceae, il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la

méditerranéenne. C'est une plante très répandue dans le nord-ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye). Elle pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut la trouver également en Sibérie et même en Himalaya.

Environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen dont 12 sont localisés en Algérie et 8 d'entre elles sont endémiques en Algérie ou en Afrique du nord. Ces espèces sont réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides [19]. (Figure5).

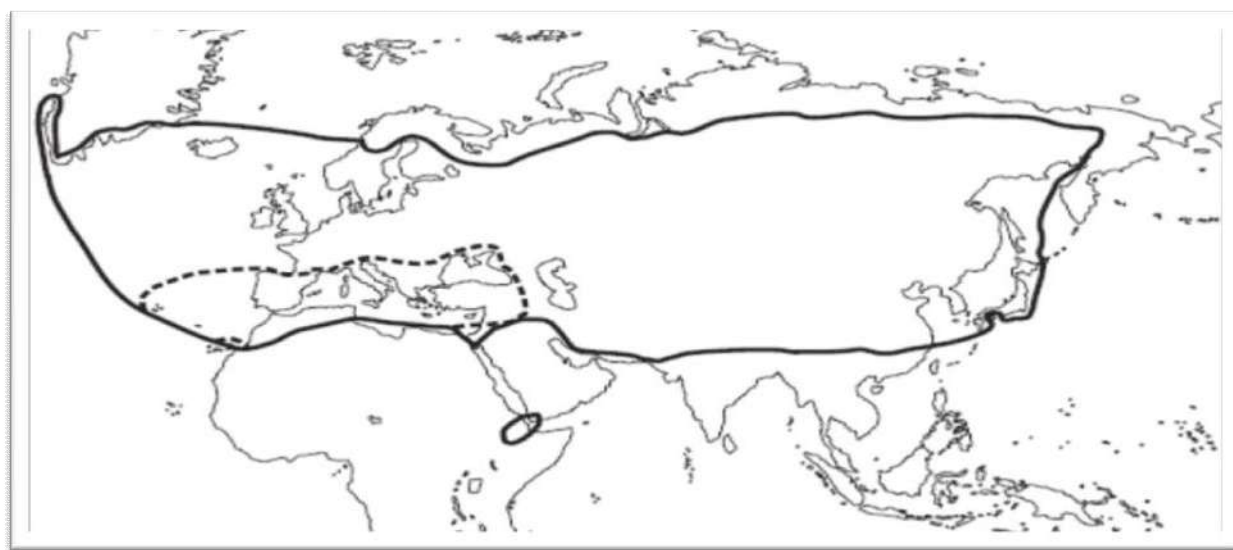


Figure 5 : distribution géographique du *thym* dans le monde [20]

Le cercle noir représente la zone de distribution du genre *Thymus* dans le monde

Tableau 1 : Localisation des principales espèces du *Thym* en Algérie [21].

Espèce	Auteur	Localisation	Nom local
<i>Thymus guyonii</i>	Noé	Rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois et oranais et constantinois.	—
<i>Thymus dreatensis</i>	Batt	Rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois et constantinois.	—

<i>Thymus lancéolatus</i>	Des fontaines	Le secteur de l'atlas tellien (terni de Médéa et Benchicao) et sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret).	Zaàteur
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur littoral.	Djertil Hamrya
<i>Thymus Pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous secteur de l'Atlas saharien.	Zizerdite

II .6. Composition chimique

➤ Flavonoïdes

- Flavones : Lutéoline, thymonine et thymusine
- Flavanones : hespéridine
- Flavanols et dihydroflavanol : Quercétine [22].

➤ Acides phénoliques

- Acide caféique
- Acide rosmarinique (principale polyphénol antioxydant) [22].

➤ Huile essentielle

Le thymol et le carvacrol sont les principaux composés phénoliques du genre *Thymus*. Ainsi que le para-cymène, 1,8 cineol et le linalol. Les huiles essentielles contiennent aussi d'autres monoterpènes et sesquiterpènes tel que [22] :

- α , γ terpinène
- β ,E -caryophyllène
- Oxyde de caryophyllène
- β pinène
- Camphre
- Bornéol
- Terpinolène

II.7. Propriétés thérapeutiques [19].

- Antimicrobienne : antibactérienne, antifongique et antivirale.
- Antioxydante.
- Antispasmodique et antitussive ;

- Tonique, utérotonique, neurotonique et cardiotonique.
- Antalgique.
- Antidiabétique.
- Immunostimulante par augmentation des IgA.

III. Alpinia officinarum Hance

III.1. Classification

Famille : *Zingiberaceae*

Genre : *Alpinia*

Espèce : *A. officinarum*

Nom Commun : Galanga, Petit Galanga

Nom Anglais : Lesser Galangal

Nom Arabe : Khoulanjane (خولنجان) [23].

III .2. Description

Rhizome rougeâtre, dur et noueux importé d'Asie (Inde, Chine...) à caractère piquant et aromatique, le galanga des officines a été introduit dans la pharmacopée par les arabes. Ce genre comprend environ 250 espèces, le plus connu est le grand galanga, *Alpinia galanga*, appelé gingembre siamois qui ressemble largement au petit galanga mais ses rhizomes sont plus gros et son goût est bien inférieur et il contient moins d'huile essentielle. C'est une plante vivace herbacée et robuste à feuilles de plus de 1 mètre de hauteur, se développant à partir des rhizomes épais et charnus, les fleurs en grappes blanches violacées sont souvent nées sur les extrémités des tiges (figure6). La plante ressemble au gingembre et parfois elle est appelée: gingembre de Chine. Le galanga est natif de l'Est et du Sud-est d'Asie et est largement cultivé en Chine, Malaisie, Thaïlande et en Inde. Le rhizome possède un goût unique entre le poivre et le gingembre. Les arabes l'utilisaient autrefois comme nourriture de leurs chevaux pour les rendre puissants, pour les doper .La mystique allemande Hildegard von Bingen qualifiait cette plante d'«épice de vie» pour ses multiples vertus [23].



Figure 6: Fleurs, feuilles et rhizome frais du *galanga* [23]

III.3. Principaux Constituants

Le *galanga* est très aromatique, il possède un gout camphré citronné très agréable qui rappelle l'arome des bonbons. Il contient une variété de composés chimiques, leur existence et abondance dépendent de l'origine de la plante, son état, fraîche ou sèche, de la technique d'extraction, incluant les fluides supercritiques, et des solvants utilisés. Le rendement en huile essentielle est faible, il varie entre 0.1% à 4%, cette huile contient essentiellement du 1,8-cinéole, son pourcentage varie entre 1.8% à 28.11% si la plante est sèche et il peut arriver jusqu'à 50% pour la plante fraîche.

En plus du 1,8-cinéole (eucalyptol), l'huile essentielle contient aussi : β -bisabolène, chavicol, chavicol acétate, eugényl acétate, α -farnesène, méthyle eugénol, β -caryophyllène, α -terpinéol, γ -muurolène, α -bergamotène, γ -gurjunène, comme composés majoritaires et une variété d'autres molécules.

Le *galanga* contient également : des flavonoïdes comme la galangine (le plus abondant), 3-O-méthylgalangine, kaempférol et une variété de molécules phénoliques caractéristiques de la famille des *Zingiberaceae* appelées les diarylheptanoïdes, et des phénylpropanoïdes [23].

III.4. Pharmacologie de la Plante

Traditionnellement, le rhizome en décoction est utile contre les affections de l'appareil urinaire (reins, vessie). En Inde, il est utilisé comme anti-inflammatoire, expectorant, stomacique et tonique. En médecine traditionnelle chinoise, il est employé contre les douleurs abdominales, les diarrhées, les nausées et le hoquet. En Algérie, il est utilisé comme épice et il entre aussi dans la composition du «h'ror» ou curry Algérien. Dans le Sud Algérien le galanga est très utilisé, dans certains aliments, par exemple mélangé au «gharss» ou dattes

en pâte, ou préparé sous forme de thé, associé à d'autres substances de nature voisine: cannelle, clous de girofle, gingembre, considéré comme antiasthénique. En médecine chinoise, il est aussi utilisé pour expulser le froid intérieur et comme réchauffant de la rate et de l'estomac.

Les études scientifiques réalisées sur le petit galanga, ses extraits bruts ou ses constituants actifs isolés montrent qu'il possède plusieurs vertus médicinales: antibactérienne et antifongique des extraits bruts et de la galangine bactéricide et anti-inflammatoire sur le colon; antiviral sur la grippe H1N1 *in vivo* et *in vitro*; antiviral sur le virus de l'hépatite C ; antioxydant; anticancéreux; cytotoxique sur des cellules cancéreuses ; hypo-lipidique c'est-à-dire diminue les taux des triglycérides et du cholestérol sanguins par inhibition de la lipase pancréatique ; antiagrégant plaquettaire par l'inhibition de la biosynthèse des prostaglandines et leucotriènes; antagoniste du facteur d'activation plaquettaire (PAF) et par conséquent inhibant la réaction pro-inflammatoire; inhibition du monoxyde d'azote (NO) qui, à forte concentration, peut être impliqué dans plusieurs types d'inflammations ou de cancérogénèse; anti-inflammatoire par l'inhibition des médiateurs de l'inflammation; antiémétique ; anti-polyarthrite rhumatoïde; anti-fibrose hépatique ; antiulcéreux [23].

IV. *Syzygium aromaticum* (L) Merrill & Perry

IV. 1. Classification

Famille: *Myrtaceae*

Genre: *Syzygium*

Espèce: *S. aromaticum* (L.) Merrill & Perry

Nom Commun: Giroflier

Nom Anglais: Clove buds

Nom Arabe: Kourounfoul (قرنفل)

Synonymes: *Eugenia caryophyllus* Bull. & Harr. , *E. caryophyllata* Thunb [23].

IV.2. Description

C'est un grand arbre originaire des îles des moluques, élancé, d'une hauteur moyenne de 10 à 12 m, qui peut atteindre jusqu'à 20 m de haut, à port pyramidal et au tronc gris clair ridé. Ses feuilles, de 8 à 10 cm de long, sont coriaces, persistantes, opposées, pétiolées, ovales, aux limbes lancéolés, à la face supérieure vert rougeâtre et à la face inférieure vert sombre, légèrement ponctuée. Elles sont aromatiques et dégagent une forte odeur de clou de girofle au froissement. L'inflorescence comprend de petites cymes (4–5 cm) compactes et ramifiées, regroupées en panicules de trois à cinq petites fleurs parfumées, au calice tubulaire blanc

cassé, puis rouge (quatre sépales rouges charnus et persistants) et à la corolle blanc rosé (quatre dialypétales blancs). Comme le nom de clou l'indique, le bouton floral comporte une partie quadrangulaire, l'hypanthe, longue de 10 à 12 mm pour un diamètre de 2 à 3 mm et une tête globuleuse d'un diamètre de 4 à 6 mm, entourée par les quatre lobes divergents des sépales et constituée des quatre pétales imbriqués qui enferment de très nombreuses étamines recourbées (Figure7). La poudre des clous de girofle peut être caractérisée par des fragments de parenchyme renfermant de grandes poches sécrétrices, de nombreux grains de pollen triangulaires à 3 pores dans les angles [23].



Figure 7: Feuilles et fleurs du *giroflier* et quelques boutons floraux [23]

IV.3. Principaux Constituants

Les clous de girofle renferment des hétérosides de chromones, glucosides des stérols (sitostérol, stigmastérol et campestérol), acide oléanolique, camphérol, 6 % protéines, 20 % lipides, 61 % carbohydrates, vitamines et entre 15 à 18% d'huile volatile, les tiges entre 4 à 6% et les feuilles ont un rendement de 2 à 3 %. L'huile essentielle contient, selon une étude récente, 28 composés avec l'eugénol comme composé majoritaire à 80.95%, eugényl acétate 5.01%, β -caryophyllène 3.14%, Myrcène 1.84%, α -terpinène 1.65%, comme principaux constituants. Les clous de girofle contiennent aussi des molécules phénoliques comme: l'acide gallique, flavonols glucosidiques, tannins, eugéniin, dehydrodieugénol, *O,O'*Dimethyldehydrodieugenol [23].

IV.4. Pharmacologie de la Plante

Traditionnellement, les clous de girofle étaient utilisés pour le traitement des maux de dents, de la bouche, de la gorge, de l'inflammation de la muqueuse buccale et de la mauvaise haleine. En usage externe contre le rhumatisme, les myalgies (douleurs musculaires), la sciatique et anesthésiant local dans les soins des plaies. Par voie orale, les clous de girofle sont utilisés dans le traitement des troubles digestifs: ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations et flatulences [23].

Des études scientifiques modernes les clous de girofle extraits avec différentes méthodes sont étudiés pour leurs vertus médicinales: l'extrait supercritique possède un effet antioxydant puissant en le comparant aux antioxydants de synthèse mais un effet antibactérien modéré; l'extrait obtenu par ultrasons possède un effet antioxydant important et une grande quantité de composés phénoliques par rapport à l'extraction hydroéthanolique classique; l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation classique et les polyphénols présentent un bon effet antioxydant par rapport aux témoins ; l'extrait aqueux possède un effet antibactérien important en le comparant avec celui de cannelle; effet antibactérien puissant mais inférieur à celui de la cannelle en phase vapeur; antifongique; anti-aspergillose et anti-dermatophytose par l'inhibition de la kératinase et de l'élastase des champignons; effet larvicide de l'huile sur les moustiques *aedes aegypti* et *culex quinquefasciatus*, vecteurs principales de la dengue, de la fièvre jaune, fièvre du Nil (virus du Nil occidental) et le paludisme aviaire; effet hypoglycémiant de l'huile avec réduction des dommages du cristallin, du muscle cardiaque et du foie; l'infusion administrée par voie orale inhibe significativement la progression du cancer de poumon chez l'animal. L'eugénol est antiviral anti-herpès; anti-inflammatoire, analgésique, antioxydant et anticancéreux. En agriculture, l'huile essentielle possède un effet herbicide et protecteur des cultures contre les insectes et les champignons, effet insecticide sur les charançons nuisibles des graines en stocks [23].

***V. Rosmarinus officinalis* (romarin)**

V.1. Classification botanique

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une espèce de plante des coteaux arides garrigues qui est classée comme suivant :

Nom commun : Romarin, Encensier, Herbe aux couronnes, Rose des marins, Rose de la mer, Rose-marine

Nom latin : Rosmarinus

Règne : Plantes

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Lamiales (labiales)

Famille : Lamiaceae

Genre : Rosmarinus

Espèce : *Rosmarinus officinalis* [24].

Noms vernaculaires

Ikilil Al Jabal, Klil, Hatssa louban, Hassalban, Lazir, Azlîr, Ouzbir, Aklel, Touzala [25].

Appellations régionales en Algérie : En plus souvent

Région de l'Est : Eklil

Région de l'Ouest : Helhal

Région du Centre : Yazir

V.2. Origine

Rosmarinus officinalis est une espèce qui appartient à la famille des lamiacées qui sont des gamopétales super ovaires tétra cyclique appartenant à l'ordre des Lamiales. Le thème Rosmarinus rose des mers est un nom latin de cette plante qui se compose de deux parties.

Ros : rosée apparenté à rhus : buisson cette plante habite souvent les coteaux maritimes. Habituellement considérée comme monotypique, cette plante est présente sur le littoral dans tout le bassin méditerranéen surtout en région calcaire. Elle y fleurit toute l'année, ses fleurs sont mellifères. Elle peut être sous forme d'arbuste, sous-arbrisseau ou plante herbacée.

Marinus : marin. C'est une plante odorante à tiges quadrangulaires, à feuilles opposées décussées sans stipules et fleurs réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées sous forme de verticille [26]. Les fleurs sont des pentamères, en général Hermaphrodites. Le calice est plus ou moins bilabié persistant. La corolle bilabiée, longuement tubuleuse, parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre inférieure trilobée, la supérieure est bilobée. L'androcée est formé de 4 étamines, la cinquième étant très réduite, parfois 2 étamines et 2 staminodes. Le gynécée forme 2 carpelles biovulés subdivisés chacun par une fausse cloison en 2 logettes uniovulées [27]. Le style bifide gymno- basique est le fruit constitué par 3 akènes plus ou moins soudées par leur face interne [24].



Figure 8 : *Rosmarinus officinalis* région de kenchela (bouhmama)

V.3. Appareil végétatif

Le romarin est une plante odorante.

a-racine : la racine du *Rosmarinus officinalis* est profonde et pivotante.

b-tige : arbuste ou sous arbrisseau, rameau de 0.5 à 2 mètres cette tige est tortueuse, anguleuse et fragile. L'écorce est linéaire à cyme axillaire plus ou moins simulant des épis [28].

c-feuille : linéaire, gaufrée, feuilles coriaces, sessiles, opposées, rigides brillantes à bords repliés verdâtre en –dessus plus ou moins hispides blanchâtre endessous de 18 à 50 x 1.5 à 3 mm.

Les feuilles sèches dégagent une forte odeur et un gout amer. Elles contiennent jusqu'à 2% d'huile essentielle *oleum Rosmarinus*=*Oleum anthos*, renfermant du cinéol et du borneol, des alcaloïdes et des acides organiques. Ces feuilles, voire l'essence de romarin, entrent dans la composition de nombreux produits Antirhumatismaux du fait de leur fortement rubéfiant sur la peau alcool spiritus *rasmarinus* [29].

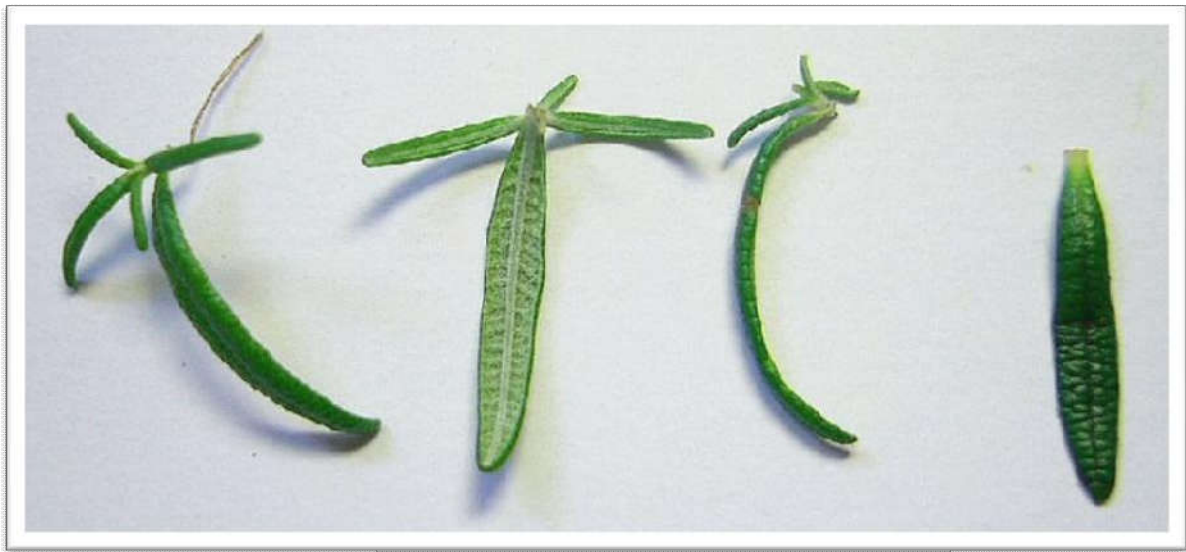


Figure 9 : Feuille de *Rosmarinus officinalis* [30]

V.4. Appareil reproducteur

a-Fleurs : en mai, très courtes grappes axillaires et terminales. Chaque fleur environ 1cm de long de couleur purpurin ; bleu pâle ou blanchâtre, en cloche bilabée à lèvre supérieure ovale entière et à lèvre à 2 lobes lancéolés. Lèvre supérieure en casque légèrement bifide. Lèvre inférieure à 3 lobes dont le médian est large et concave. Les 2 étamines sont plus longues que la corolle. L'ovaire présente 2 carpelles surmontées d'un style long courbe et bifide.

b-Fruit : est tétrakène de forme ovale située au fond du calice. Il est en baie, sèche et lisse [30].



Figure10 : La fleur de *Rosmarinus officinalis* [30]

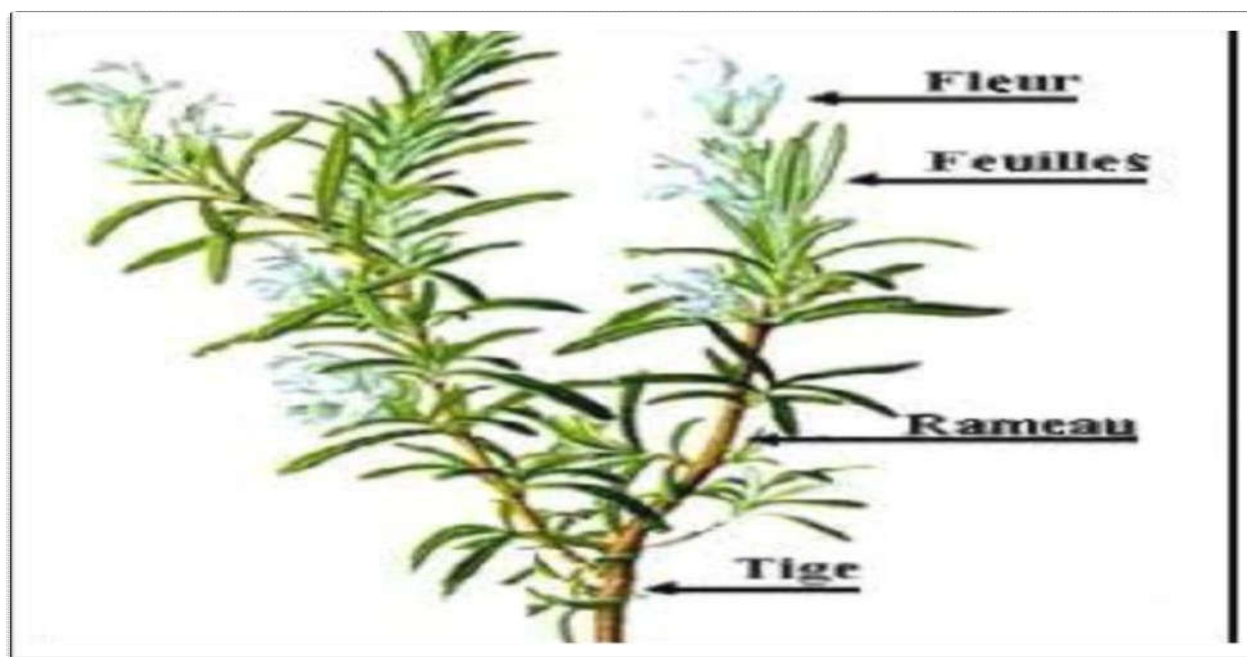


Figure 11 : Tige principale et rameau Feuillé à fleurs du Romarin [31]

V.5. Description botanique

Le Romarin, plante commune à l'état sauvage, est l'une des plantes les plus populaires en Algérie, trouvée dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante. Le romarin est un arbrisseau de la famille des labiées, de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux, très feuillé. Les feuilles sont coriaces, persistantes, sessiles, linéaires, entières, enroulées sur les bords, vertes et ponctuées dessus, blanches tomenteuses à la face inférieure. Son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées, et son odeur est extrêmement odorante et tenace. La floraison commence dès les mois de Janvier / Février et se poursuit jusqu'en Avril / Mai. Les fleurs sont réunies au sommet des rameaux, bleues pâles à blanchâtre, pratiquement sessiles, disposées en petites grappes axillaires et terminales, bractées tomenteuses lancéolées [31].

V.6. Composition chimique du romarin

➤ Huiles essentielles

L'huile essentielle est constituée de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle. Ces molécules sont différentes selon la nature de la plante et le sol dans lequel la plante va croître, le temps de récolte, la partie de la plante, la préparation de l'échantillon, ainsi que la méthode d'extraction. Les molécules sont formées à partir de divers atomes puisés par la plante via le sol et via sa synthèse organique. L'ensemble constitue des réactions chimiques donnant naissance aux molécules aromatiques, constituant l'huile essentielle [32]. La composition

chimique des extraits dépend largement de l'influence des conditions du mode d'extraction sur l'essence contenue dans la plante. Les extraits ainsi que de nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont constitués principalement de composés terpéniques. Les terpènes sont très répandus dans la nature et surtout dans les plantes comme constituants des huiles essentielles. Ils sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique (tableau2) [33].

Tableau 2 : Composition de l'huile essentielle de romarin [33].

Monoterpènes	Acycliques	Myrcène linalol
	Monocycliques	terpinéol-4 α -terpinéol cinéole limonène
	Aromatiques	P-cymène
	Bicycliques	α -pinène camphène verbénone camphre bornéole acétate de bornyle
Sesquiterpènes		Caryophyllène humulène

V.7. Utilisation de Romarin

Le Romarin est une plante méditerranéenne ayant des qualités et propriétés stimulantes, antiseptiques et insecticides. Il sert à la fabrication des parfums il fut utilisé en médecine contre les débilités de tout genre. Il calme les nerfs surtout au moment de la ménopause. Il est en même temps diurétique [34].

1-Partie utilisée : les feuilles.

2-Propriétés : c'est un antiseptique, antispasmodique, diurétique, stimulant.

▪ **Quand et comment l'utiliser ?**

- Asthme : fumer des cigarettes des feuilles séchées et broyées.
- Bain stimulant et déodorant : faire une infusion de 200 g de Romarin dans deux litres d'eau bouillante et verser dans le bassin après avoir filtré la solution.
- Pour empêcher la chute des cheveux : se frictionner les cheveux deux fois par jour avec la solution suivante après avoir filtré, macération mélangée de 60 g des feuilles de Romarin pendant 15 jours dans un litre d'eau en remuant de temps en temps.
- Dépression : boire quand on se sent déprimé une infusion de Romarin à raison de 20 g de sommités fleuries pour un litre d'eau bouillante, infuser 10 minutes. Boire deux verres par jour.
- Entorse : poser sur l'entorse des compresses trempées d'une teinture de romarin et de sauge préparée comme suit : laisser macérer 15 jours dans 0.5d'alcool filtre, 20 g de sommités fleuries de romarin et 20 g de sommités fleuries de sauge.
- Vésicule biliaire et cholestérol : augmentation de sécrétion de la bile. Prendre un verre à jeun le matin d'une décoction de romarin, à raison de 40 g par litre d'eau, bouillir 5mn.
- Mémoire : prendre 3 verres par jour de Romarin, 10 jours par mois pendant 3 mois d'une infusion de Romarin, à raison de 30 g de sommités fleuries par litre d'eau bouillante infusé pas plus de 10 mn.
- Migraine : prendre un verre d'une infusion de Romarin à raison de 20 g de sommités fleuries et des feuilles pour un litre d'eau bouillante, infuser 10mn, et s'allonger dans l'obscurité.
- Nervosité : pour rééquilibrer le système nerveux, boire deux verres par jour d'une infusion de Romarin à raison de 20 g de sommités fleuries et des feuilles pour un litre d'eau bouillante, infuser 10 mn et s'allonger dans l'obscurité.

- Oedème : jambes enflées après une longue marche par exemple bain tiède de 10 mn avec une décoction de 60 g de Romarin dans trois litres d'eau bouillie 10mn, suivi d'un rinçage à l'eau froide. S'allonger les jambes un peu sur élevées.
- Rides : placer chaque soir sur le visage et le cou absolument propre des compresses trempées dans une infusion de Romarin préparé ainsi, laisser infuser 50 g de Romarin dans un litre d'eau bouillante pendant 10mn filtrer.
- Sommeil : prendre un verre au coucher d'une infusion à Romarin à raison de 20g par litre d'eau bouillante, infuser 10mn.
- Peau grasse : faire de lotion avec la solution préparée ainsi laisser infuser 50 g de Romarin dans un litre d'eau bouillante pendant 10 mn filtrer.
- Torticolis : appliquer deux fois par jour de compresses trempées dans une décoction chaude de Romarin à raison de 50 g pour un litre d'eau, bouillir 5mn, passer, recouvrir d'une écharpe de laine.

▪ **Risque**

L'huile essentielle de Romarin peut déclencher des convulsions et des crises d'épilepsie.

VI. Illicium verum (I)

VI.1. Origine

L'anis étoilé, ou badiane, provient de la badiane de Chine qui, comme son nom l'indique, provient de Chine et du Vietnam. L'épice provient des fruits séchés, le plus aromatique étant l'enveloppe et non la graine contenue dans chaque branche. L'arbre ne produit pas de fruits pendant six ans puis est capable d'en produire pendant cent ans.

Botaniquement, l'anis étoilé n'a aucun lien de parenté avec l'anis vert originaire du Moyen-Orient [35].

VI.2. Description botaniques

La badiane, fruit de cet arbre à feuilles persistantes, est un polyfollicule en forme d'étoile, d'un diamètre de 1 à 2 cm, à huit branches (les carpelles). La récolte se fait habituellement deux fois par an, au printemps et en automne. C'est ce fruit, cueilli vert, qui est séché après maturation pour être utilisé moulu, broyé ou en huiles essentielles, selon l'usage. En outre, la badiane exhale une odeur poivrée et possède une puissante saveur anisée. A noter qu'il existe une variété japonaise interdite à la consommation [35].



Figure 12 : planche d'herbier figurant l'anis étoilé [35]

VI.3 Systématique

Famille : *Illiciaceae*.

Genre : *Illicium*

Espèce : *Illicium verum* (L)

Nom commun : Anis étoilé, Badiane de chine

Nom Anglais : Star Anise

Nom Arabe : الأرض نجمة

Synonymes : *I.Stellatum* (L), *I.anisatum*(L) [35].

VI.4. Effet thérapeutiques

La badiane appartient à la pharmacopée ancestrale de la médecine traditionnelle asiatique. Très présente dans le sud de la Chine et dans le nord du Viêt Nam, elle fut utilisée en décoction ou en huiles essentielles et son usage fut préconisé pour les troubles intestinaux et respiratoires. Ce fut à partir du XVIIe siècle que le badiane fut introduite en Europe et utilisé par les praticiens de l'époque. Dès lors, son utilisation se généralisa en phytothérapie [35].

VI.5. Toxicologie

La contamination de la badiane, à l'origine de cas de convulsions dans certains pays a conduit à déclencher une alerte. Des contrôles et des études faites montrent que la variété de badiane chinoise est indemne de toxicité. Les composés convulsivants toxiques des espèces autres qu'*Illicium verum* sont des lactones sesquiterpéniques (anisatine, néoanisatine, pseudoanisatine) dont les structures et la quantification de routine de ces composés. La recherche de la contamination de la badiane de Chine ne peut donc actuellement pas se faire de manière directe par dosage [35].

VII- *Artemisia herba alba*

VII.1. Présentation

Connue depuis des millénaires, l'armoise blanche a été décrite par l'historien grec

Xénophon, dès le début du IV^e siècle av J.C dans les steppes de la Mésopotamie [36].

C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver. Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent [37 ; 38].

VII.2. Appellation

Il existe différentes nomination de l'armoise blanche selon les pays et les régions, qu'on a dans le suivant :

Nom vernaculaire : Chih

Nom français : Armoise herbe blanche

Nom anglais: Wormwood

Nom Latin: *Artemisia herba alba*

Nom amazigh: Izerg

Au maroc : Kaisoum

Famille : Composées

Constituants : Thuyone- Cinéol- Camphre

Parties utilisées : Les parties aériennes [39].

VII.3. Nomenclature et taxonomie :

Règne : Plante – Plantae

Embranchement : Spermaphytes (Phanérogames) ou « plantes à graines »

Sous-embranchement : Angiospermes (Plantes à fleurs)

Classe : Dicotylédones (Magnoliopsida)

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Astéracées ou composée

Tribu : Anthemideae

Sous-tribu : Aremisiinae

Genre : *Artemisia*

Espèce : *Artemisia herba alba* [40].

VII.4. Description botanique

L'Armoise blanche est une plante ligneuse se présentant sous forme de buissons blancs laineux très ramifiés de 30 à 80 cm de hauteur. Les feuilles sont courtes, étroites et espacées.

Les capitules ovoïdes comportent 3 à 8 fleurs jaunâtres. Le fruit est un akène indéhiscent ne contenant qu'une seule graine. Les racines sont très épaisses, laineuses, très enfoncées et tiennent solidement au sol. La croissance végétative de l'*Artemisia herba-alba* Asso à lieu à l'automne, la floraison commence en Juin et se développe essentiellement en fin d'été.

L'armoise blanche se développe dans les zones bioclimatiques qui vont de la partie supérieure semi-arides à la partie inférieure Subsaharienne [41].

VII.5. Répartition géographique

L'Armoise blanche connue en Algérie sous le nom de « Chih » est une plante spontanée vivace et hermaphrodite. On la rencontre dans la steppe marocaine, dans les îles Canaries et en Amérique du Sud [42]. C'est une espèce méditerranéenne et Sahara-Indienne, elle est très commune en Afrique du Nord et au Moyen Orient. En Algérie elle affectionne les climats secs et chauds, elle forme des peuplements importants dans les zones désertiques. Très abondante sur les hauts plateaux mais rare au Sahara septentrional [43].

VII.6. Principaux composés d'*Artemisia herba alba*

L'armoise blanche constitue une source très importante pour le cheptel. La biomasse de cette plante steppique constitue un aliment de substitution pour l'élevage du bétail en période de disette. En effet la valeur énergétique de l'armoise blanche est de l'ordre de 0.45 UF/ Kg MS. Cette plante présente un équilibre harmonieux entre le calcium (0.5%) et le phosphore (0.07%). Elle est assez riche en cellulose (26,73%) [44].

Les mono terpènes sont des substances volatiles qui forment les huiles essentielles dont le principal rôle est d'inhiber la croissance bactérienne. Les principaux mono terpènes identifiés dans le « Chih » sont: Le thuyone, le 1,8-cinéol et le thymol. Le thuyone est certainement l'un des constituants terpéniques les plus bioactifs de l'armoise, c'est un composé chiral présent à l'état naturel sous deux formes stéréo-isomériques: l'alpha thuyone et le bêta thuyone [39].

Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'armoise blanche sont: l'hispiduline, la cirsimaritrine. Des flavones glycosidiques comme la 3- rutinoside, quercitine et l'isovitexine sont aussi mis en évidence [45]. Au cours des dernières décennies, l'huile essentielle de l'armoise blanche a été soigneusement étudiée et la diversité dans la composition de cette huile recueillie dans différents pays a conduit à de nombreux chemotypes. Généralement, l'huile a été en grande partie rapporté être composée de monoterpénoïdes, principalement oxygénés tels que le 1-8 cinéole, chrysanthenone, α et β thujones et le camphre comme composants majeurs [46].

VII.7. Domaines d'utilisations

L'Armoise blanche est une plante médicinale et surtout aromatique, largement exploitée pour son huile essentielle. Son pouvoir antibactérien, antiseptique et antifongique lui a conféré une application dans de nombreux domaines : en thérapeutique, en cosmétologie et en industrie agro-alimentaire [47].

VII.7.1. Domaine thérapeutique

L'Armoise est utilisée en médecine traditionnelle depuis l'antiquité. Très recherchée pour ses propriétés pharmacologiques, elle est utilisée pour traiter les maux les plus divers : ulcères, dyspepsies, troubles hépatiques, aphtes, mycoses, contre les piqûres d'insectes et de scorpions et toutes les formes d'empoisonnements [48]. En chine, elle est utilisée pour régulariser le cycle menstruel et stopper leurs douleurs. Ses propriétés antispasmodiques la recommandent dans les syndromes neurologiques et psychiatriques : (hypotension, syncope, épilepsie), dans les affections du foie et de la vésicule biliaire [47 ; 49].

Toutefois, elle doit être utilisée avec beaucoup de prudence et à des doses faibles car des doses trop élevées peuvent causer des intoxications très graves (caractérisées par une

hépatonéphrite à prédominance rénale accompagnée de phénomènes convulsifs) causés par certains composés cétoniques, l' α -thujone, la β -thujone et le Camphre [47; 50].

VII.7.2. Domaine alimentaire

Par ses caractères organoleptiques l'Armoise blanche peut être utilisée pour aromatiser certaines boissons comme le café dans le sud des pays du Maghreb. Son emploi reste cependant limité à cause de la toxicité de l' α -thujone et de la β -thujone contenus dans les huiles essentielles. Le code des bons usages pour l'industrie des arômes préconise que le taux de la thujone ne doit pas dépasser 5 mg/kg dans les aliments et les boissons [47].

VII.7.3. Domaine de la cosmétologie

Exploitée industriellement, les huiles essentielles de l'*Artemisia herba alba* sont utilisées en parfumerie et en cosmétologie à cause de leur pouvoir antiseptique, et aromatique, elles servent à augmenter la durée de conservation des produits cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable [47 ; 50].

Etude Expérimentale

Chapitre III

MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL ET METHODES

Notre travail expérimental ayant pour objet l'extraction des huiles essentielles et l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique des plantes « *thymus sp*, *Alpinia officinarum*, *Syzygium aromaticum (L)*, *Rosmarinus officinalis*, *Illicium verum (L)*, *Artemisia herba alba* ». L'étude expérimental a été effectuée au sein du laboratoire de biochimie, Université Abbés Laghrour-khenchela.

I.1. Matériel biologique

I.1.1. appareillage

- Autoclave
- Bain marie
- Balance
- Spectrophotomètre
- Agitateur a barreau magnétique chauffant.
- Etuve.
- Vortex.
- Réfrigérateur.
- Becher, flacons.
- Chouffe ballon.
- Ampoule à décanter

I.1.2. Matériel végétal

Le matériel ou l'organe végétal utilisée dans ce travail se trouvent sur le marché tout ou long de l'année, pour leur majeure et leur usage quotidien dans la cuisine algérienne ou en médecine traditionnel, elle ce trouvent sous forme feuilles sèches de l'origine « *Thymus*, *Alpinia officinarum Hance*, *S. aromaticum et Illicium verum* » et des feuilles fraîches d'origine « *Rosmarinus officinalis et Artemisia herba alba* » provenant de la région de Khenchela durant le mois d'avril de l'année 2021.

I.1.3. Matériel du test de l'activité antibactérienne et antifongique

I.1.3.1. Micro-organismes

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles des plantes « *thymus sp*, *Alpinia officinarum*, *Syzygium aromaticum(L)*, *Rosmarinus officinalis*, *Illicium verum(L)*, *Artemisia herba alba* ». a été évaluée sur plusieurs souches bactériennes disponibles au niveau du centre hospitalier de khenchela, ainsi que des souches fongiques au et fournies par le laboratoire de microbiologie, Université Abbés Laghrour-khenchela.

Tableau 3 : les souches bactériennes et les souches fongiques testées.

souches bactériennes	Type de Gram	souches fongiques
<i>Escherichia coli</i>	Gram négatif	<i>penicillium sp (champignon)</i>
<i>Klebsiella</i>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positif	<i>Levure</i>
<i>Bacillus subtilis</i>		

I.1.3.2. Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- Gélose nutritive (GN) pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- Gélose Mueller Hinton (MH), coulée en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm, pour l'étude de la sensibilité des bactéries à l'huile de chaque plante.
- Potato Dextrose Agar (PDA), coulée en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm, pour l'étude de la sensibilité des fongiques à l'huile de chaque plante.

NB : les géloses sont séchées avant l'emploi.

- Eau distillée.
- Eau physiologique stérile.
- Diméthylsulfoxyde (DMSO), pour la dilution de l'huile.

II. Méthodes expérimentales

II.1. Extraction de l'huile essentielle

II.1.1. Principe :

Les huiles essentielles des six plantes sont extraites par le procédé d'hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger, il est constitué d'un chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place les fleurs et les feuilles séchées, fraîches et l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) , un bécher en verre pyrex qui reçoit les extraits de la distillation .

La vapeur saturée en huiles essentielles traverse un serpentin où elle se condense pour donner deux produits : l'eau florale et l'huile essentielle.

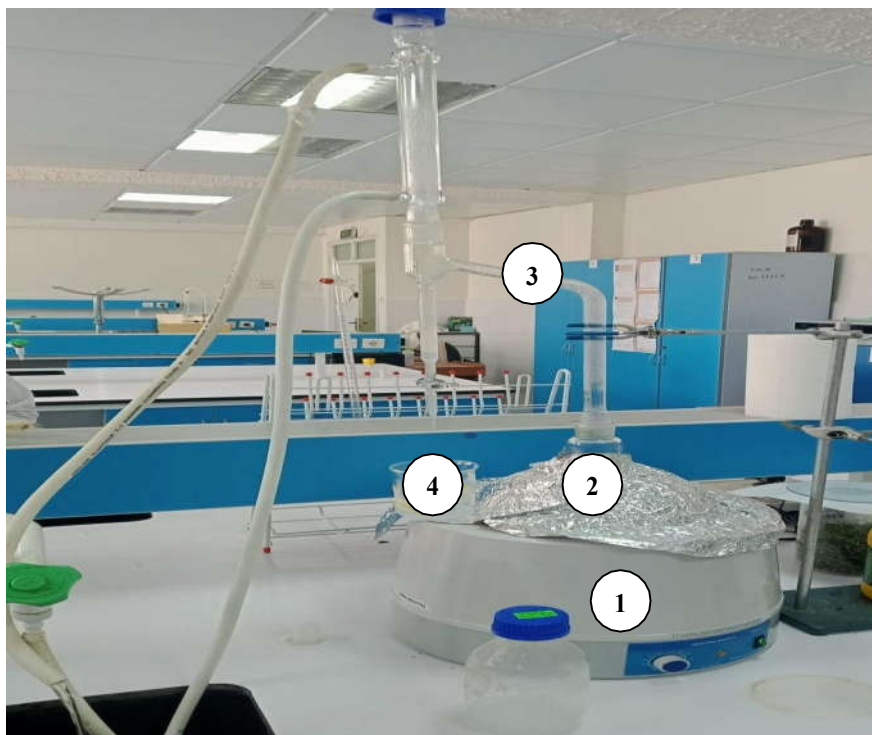


Figure13 : dispositif d'extraction Clevenger

Tableau4 : le montage de type Clevenger est composé de quatre parties principales.

« 1 »	Chauffe ballon
« 2 »	Ballon en verre pyrex
« 3 »	Colonne de condensation de la vapeur
« 4 »	Bécher en verre pyrex

II.1.2. Mode opératoire

100g de masse végétale séchée ou fraîche est introduite dans un ballon à fond rond de 5000ml, additionnées de 500ml d'eau distillée. Après deux heures d'extraction, l'huile Essentielle entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur. L'huile essentielle a été récupérée dans un type en verre recouvert de papiers aluminium pour le protéger de la lumière. On le conserve au réfrigérateur (4-5 C°)

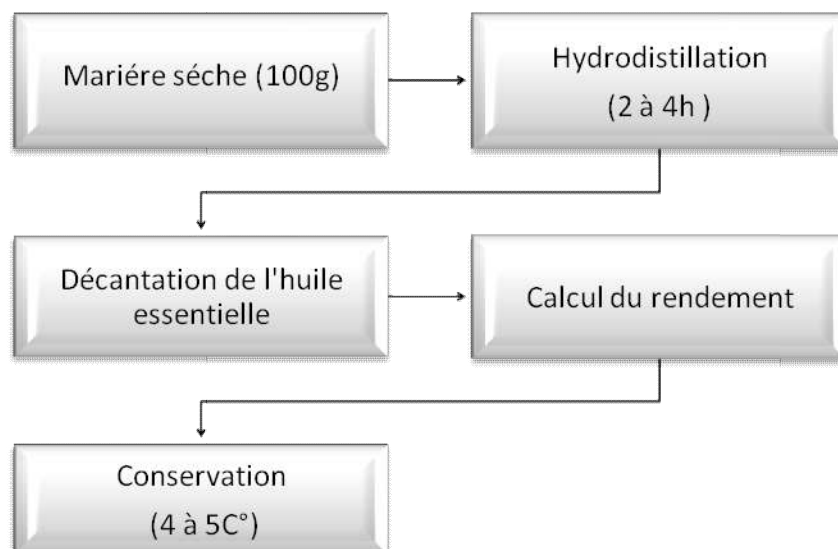


Figure14 : protocole expérimental d'extraction des huiles essentielles.

II.1.3. La décantation

➤ Les étapes de la décantation

Cette décantation a été réalisée par un solvant (chlorure de sodium) pour séparer les deux phases.

- ✓ Verser le distillat dans une ampoule avec entonnoir et y ajoute le chlorure de sodium et boucher.
- ✓ Agité pendant 3mn en dégazant de temps en temps.
- ✓ Placer ensuite l'ampoule sur un support pour laisser décanter.
- ✓ Après la décantation récupérer la phase désirée (phase organique).



II.1.4. Conservation de l'huile essentielle

L'huile essentielle obtenue est conservée dans un flacon en verre enveloppée de papier aluminium à température basse (4-5 C°) pour éviter toute dégradation des huiles essentielles.

II.2. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle (**RH**) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile obtenue après l'extraction (**m'**) et la masse du matériel végétal utilisée (**m**). Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{RH (\%)} = m'/m \cdot 100$$

RH : rendement en huiles essentielle en pourcentage ;

m' : masse d'huile essentielle en g ;

m : masse de la matière végétale utilisée en g.

III. Etude l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

L'activité antimicrobienne des six huiles essentielles est réalisée par la méthode suivant :

III.1. Méthode de diffusion sur disques (aromatogramme)

L'activité antibactérienne des HE (extrait aromatique) est évaluée par la méthode d'aromatogramme sont très utilisé en microbiologie (antibiogramme et antifongigramme) qui permet de déterminer la sensibilité des différentes souches vis-à-vis des HE. Cette dernière a été réalisée sur un milieu gélosé de Mueller Hinton (MH), 0.1ml de chaque suspension bactérienne standardisée à 10^6 UFC/ml est ensemencées par écouvillon dans les boîtes de pétri. Des disques en papier wattman stériles de 6mm de diamètre imprégnés de quantités connues d'HE à la surface de milieu gélosé (4disque par boîte). Après 24 heures d'incubation à 37°C, le diamètre d'inhibition selon les critères suivant :

- **Non sensible (-) ou résistante** : diamètre < 8mm.
- **Sensible (+)** : diamètre compris entre 9 à 14mm.
- **Très sensible (++)** : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- **Extrêmement sensible (+++)** : diamètre > 20mm [51].

NB : dans cette méthode utilisé aussi un disque imprégné par de DMSO (test négatif).

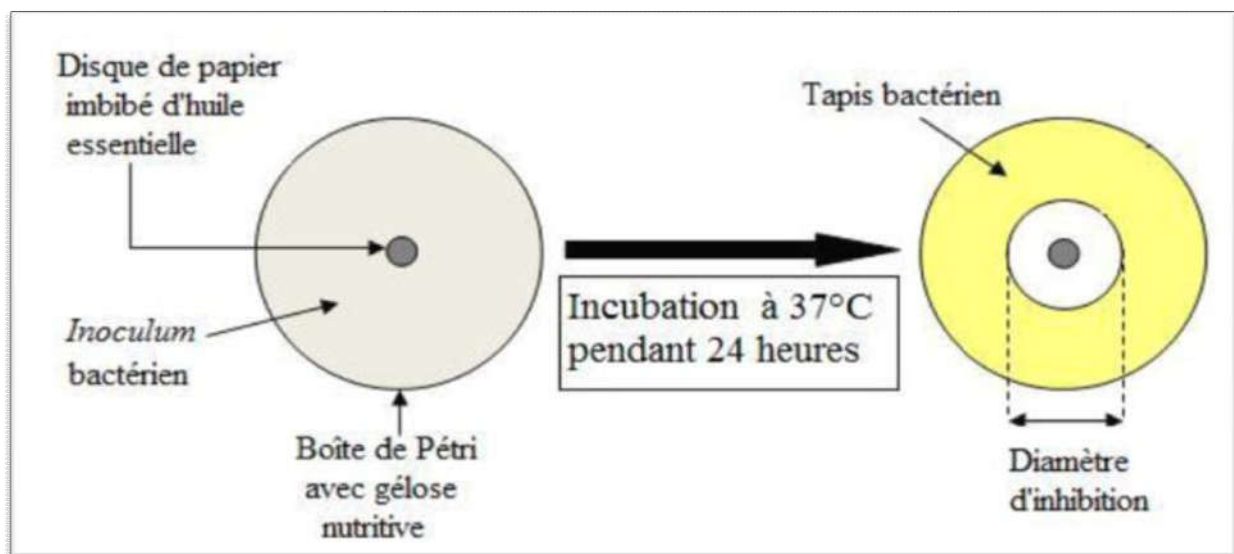


Figure15 : Illustration de la méthode d'aromatogramme [52]

III.2. Préparation des disques d'aromatogramme

Coupé du papier wattman n°3 en disque de 6mm de diamètre, ensuite ils sont mis dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave 30min à 120°C, stockés à température ambiante.



Figure 16 : les disques

III.3. Préparation des dilutions des huiles essentielles

Les différentes dilutions des six l'huile essentielle ont été effectuées dans le DMSO (Dimethylsulfoxyde).

- La solution mère contient 100 μ l d'huile essentielle.
- La première dilution 1/2 contient 90 μ l de DMSO en rajoute 10 μ l d'HE, puis homogénéisation.
- La dilution 1/4, 1/8 sont préparés de la même manière.



Figurer17: les différentes dilutions des six huiles essentielles.

III.4. Préparation des suspensions microbiennes

- A l'aide de l'anse de platine, quelque colonie des souches cibles, bien isolées ont été prélevées à partir d'une culture pure de 18 à 24h sur milieu gélose MH

- Décharger l'anse dans 5ml d'eau physiologie stérile et homogénéiser à l'aide d'un vortex ; la suspension bactérienne est standardisée à 10^6 UFC/, ($\lambda=625$) à une D.O comprise entre 0,08 et 0,1.
- L'ensemencement doit se faire en moins de 15min après la préparation de l'inoculum



Figure18 : suspension bactérienne.

III.5. L'ensemencement

- Le milieu de culture utilisé est Mueller Hinton (MH), qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.
- Dans chaque boîte de pétri couler 20ml de la gélose (MH) et laisser solidifier.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.



Figurer19 : l'ensemencement.

III.6. Dépôt des disques d'aromatogramme

Les disques préparés sont déposés sur la surface de la gélose MH dans des conditions stériles, à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen, imbibés de 5 μ l des différentes dilutions d'HE (SM, 1/2, 1/4, 1/8).



Figurer20 : dépôt des disques.

III.7. la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La CMI se définit comme la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures passées à 37°C. C'est l'effet bactériostatique. Cette mesure se réalise au laboratoire en observant l'effet d'un panel d'antibiotiques sur la croissance bactérienne. La culture se fait en milieu liquide ou solide.

Classiquement des bactéries sont disposées sur une gélose (milieu solide) sur laquelle sont répartis des disques d'antibiotiques. La CMI se déduit en mesurant le diamètre du cercle dans lequel les bactéries ne se multiplient pas. Cette valeur en millimètre est convertie en concentration puis comparés à celle des concentration « critique » minimale et maximale [53].

IV. Etude l'activité antifongique des huiles essentielles

Deux souches qui sont *penicillium* (champignon) et *levure* ont été utilisées au cours de notre travail.

IV.1. Préparation de la suspension fongique

Après le repiquage de nos souches dans les boîtes de pétri contenant le milieu PDA .nous réalisons une suspension dans 10ml d'eau physiologie vortexé. Nous avons prélevé 100µl de la suspension à l'aide d'une micropipette sur milieu PDA puis étale à l'aide d'une pipette pasteur (râteau) pour le champignon et le même protocole site dans l'aromatogramme pour levure. La lecture après incubation à 25°C pendant 72h pour levure et 7 jours pour champignon.

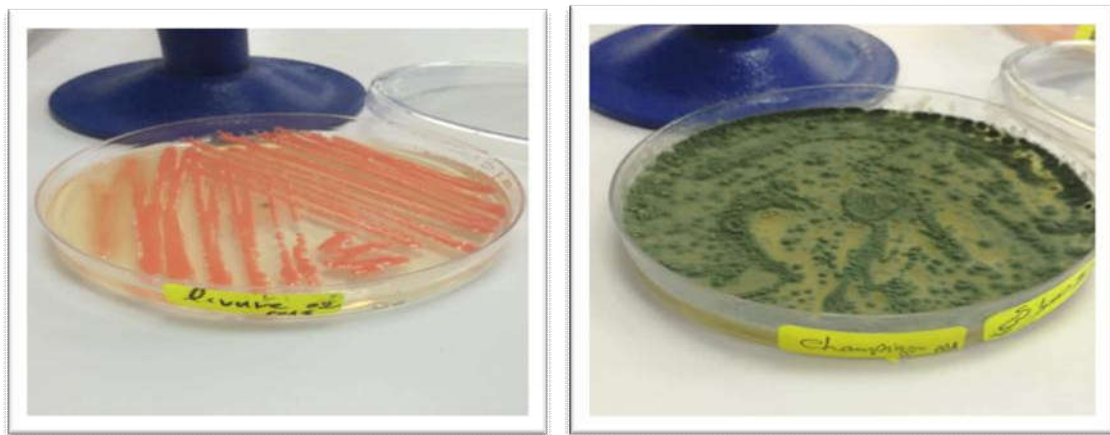


Figure 21 : *levure* et *penicillium* après repiquage

IV. Etude statistique

Chaque expérience est répétée trois fois et les valeurs sont représentées par les moyennes \pm cart type

Chapitre VI

Résultats et discussion

I. le rendement d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été préparée à partir des plantes (*thymus sp*, *Alpinia officinarum*, *Syzygium aromaticum (L)*, *Rosmarinus officinalis*, *Illicium verum (L)*, *Artemisia herba alba*) dont le rendement est présenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau5 : le rendement en huiles essentielle

Les plantes	masse d'huile essentielle (m') en g	masse de matière végétale en g	Rendement en huiles essentielle (RH)
Thymus sp	2.6276g	100.30g	2.62%
Rosmarinus	2.1358	508.36g	0.42%
Badiane	10.48g	205.77g	2.58%
Artemisia	2.2286g	253.808g	0.88%
Alpinia	0.1502g	200g	0.075%
Gorifle	1.88g	100g	1.88%

Le rendement en huile essentielle de *thymus sp* de l'ordre de 2.62%, d'*Illicium verum(l)* de l'ordre 2.58% et *Syzygium aromaticum(l)* de l'ordre 1.88%. Ce rendement est supérieur par rapport à ce obtenu de *Rosmarinus officinalis*, *Alpinia officinarum* et *Artemisia* qui est de 0.42%, 0.075%, 0.88% dans cette étude.

Le *thymus sp* par rapport aux espèces de la famille des Lamiaceae, ce rendement est supérieur à ceux obtenus de *thymus. Ciliatus*, *Thymus. algeriensis de l'Algérie*, *thymus. Capitatus* et *bleicherianus* qui ont fourni un taux 1.2%,1.13%,2.05%,1.75%respectivement [54].

Ces différences sont dues à plusieurs facteurs : l'origine géographique, les facteurs écologiques notamment climatique (la température et l'humidité), l'espèce végétale elle-même, l'organe végétal, le stade de la croissance, la période de cueillette, la conservation de matériel végétal et la méthode d'extraction [55 - 60].

Ces résultats montrent que le *thymus sp*, *Illicium*, *Syzygium* est très riche en huile essentielle par rapport aux *Rosmarinus*, *Alpinia*, *Artemisia*.

II. Résultats de l'activité antibactérienne

II.1. Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne aux six huiles essentielles.

II.1.1 Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne l'HE de *thymus sp.*

La figure (22) montre l'effet de l'HE de *Thymus* vis-à-vis des quatre souches bactériennes étudiées.

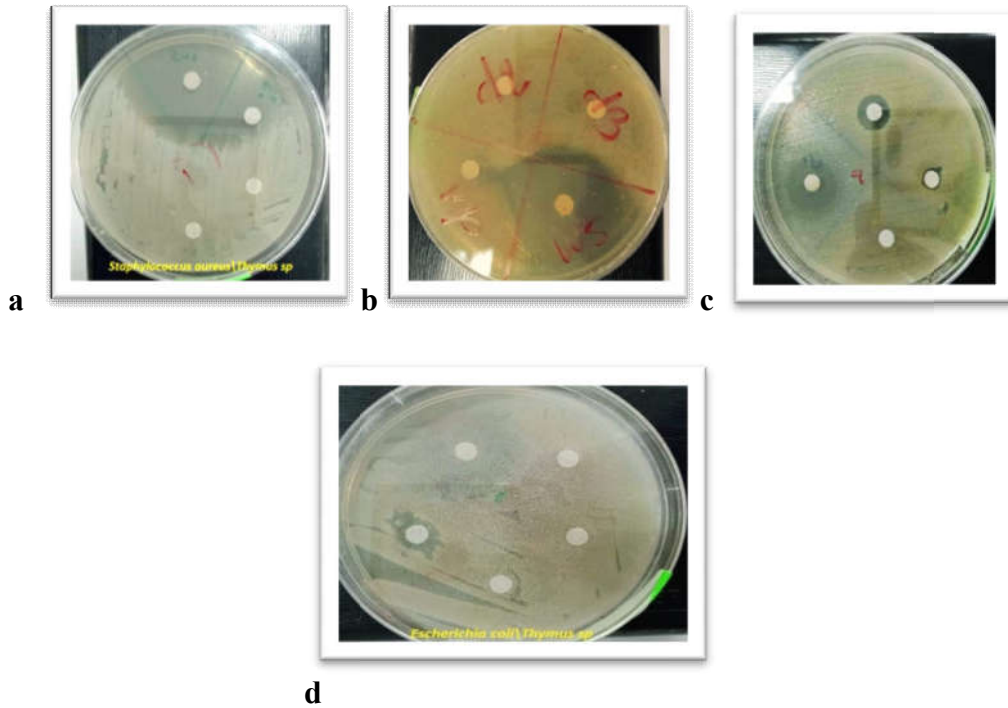


Figure22 : Effet de l'huile essentielle de *Thymus sp* sur les quatre souches bactériennes testées (a : *Staphylococcus aureus*, b : *Bacillus subtilis*, c : *klebsiella*, d : *E. coli*)

Le tableau suivant montre les diamètres d'inhibition des souches bactériennes à l'huile essentielle de *Thymus sp.*

Tableau6 : résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE de *Thymus sp* sur les quatre souches bactériennes testées.

Les Souches	Type	Zone d'inhibition (diamètre en mm)			
		SM	d1	d2	d3
<i>E. coli</i>	Gram ⁻	21.53	8.57	0	0
<i>Klebsiella sp</i>	Gram ⁻	18.88	11.24	4.49	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram ⁺	22.72	21.84	3.09	0
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram ⁺	37.38	0	0	0

- Les diamètres des disques (6 mm) sont inclus dans les mesures des diamètres des zones d'inhibition

II.1.2 Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne l'HE de *Rosmarinus officinalis*.

La figure (23) montre l'effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis des quatre souches bactériennes étudiées.

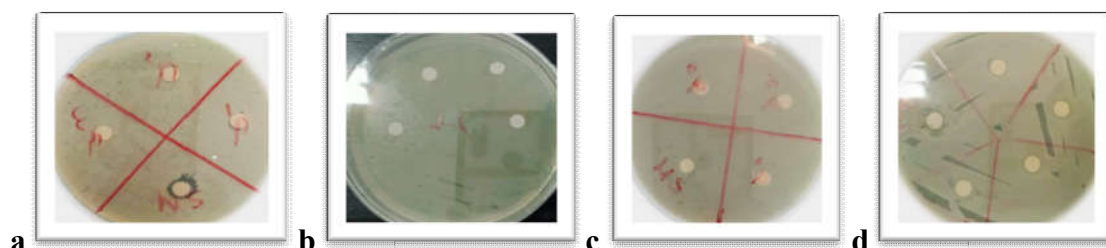


Figure23 : Effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus* sur les quatre souches bactériennes testées (**a** : *Staphylococcus aureus*, **b** : *Bacillus subtilis*, **c** : *Klebsiella*, **d** : *E. coli*)
Le tableau suivant montre les diamètres d'inhibition des souches bactériennes à l'huile essentielle de *Rosmarinus*.

Tableau7 : résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE de *Rosmarinus* sur les quatre souches bactériennes testées.

Les Souches	Type	Zone d'inhibition (diamètre en mm)			
		SM	d1	d2	d3
<i>E. coli</i>	Gram ⁻	5.85	0	0	0
<i>Klebsiella sp</i>	Gram ⁻	7.60	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram ⁺	6.62	6.58	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram ⁺	0	0	0	0

- Les diamètres des disques (6 mm) sont inclus dans les mesures des diamètres des zones d'inhibition

II.1.3 Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne l'HE *Alpinia officinarum*

La figure (24) montre l'effet de l'HE d'*Alpinia officinarum* vis-à-vis des quatre souches bactériennes étudiées.

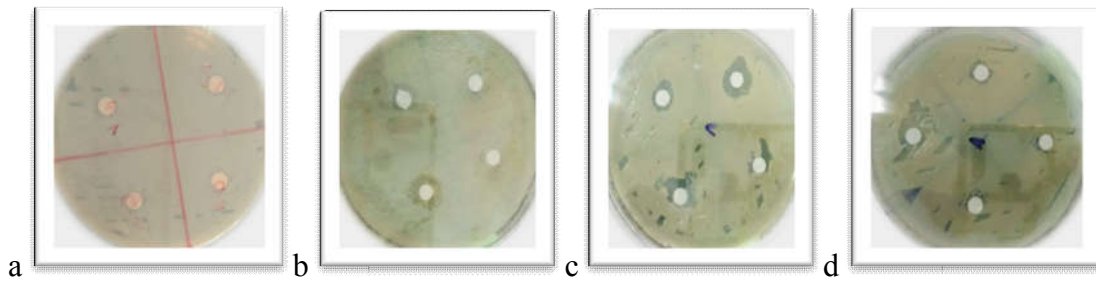


Figure24 : Effet de l’huile essentielle d’*Alpinia* sur les quatre souches bactériennes testées.

(**a** : *Staphylococcus aureus*, **b** : *Bacillus subtilis*, **c** : *klebsiella*, **d** : *E. coli*)

Le tableau suivant montre les diamètres d’inhibition des souches bactériennes à l’huile essentielle d’*Alpinia*.

Tableau8 : résultats des diamètres d’inhibition en mm de l’HE d’*Alpinia* sur les quatre souches bactériennes testées.

Les Souches	Type	Zone d’inhibition (diamètre en mm)			
		SM	d1	d2	d3
<i>E. coli</i>	Gram ⁻	7.26	4.34	2.3	2.73
<i>Klebsiella sp</i>	Gram ⁻	6.64	8.04	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram ⁺	4.12	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram ⁺	7.35	0	0	0

- Les diamètres des disques (6 mm) sont inclus dans les mesures des diamètres des zones d’inhibition

II.1.4 Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne l’HE d’*Artemisia herba alba*

La figure (25) montre l’effet de l’HE d’*Artemisia herba alba* vis-à-vis des quatre souches bactériennes étudiées.

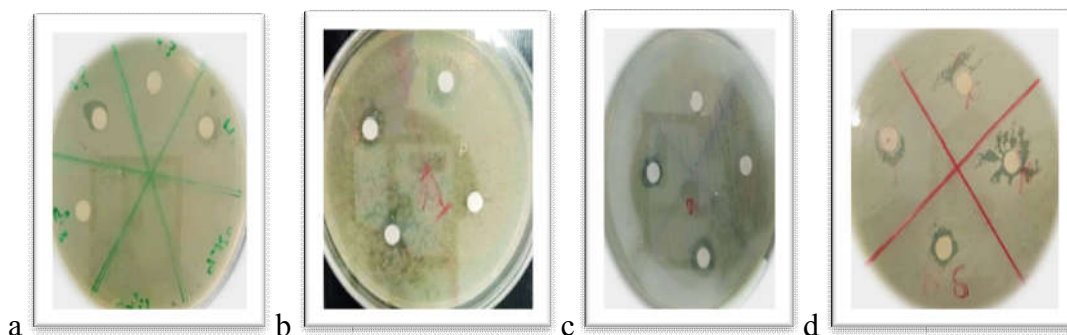


Figure25 : Effet de l’huile essentielle d’*Artemisia* sur les quatre souches bactériennes testées

(**a** : *Staphylococcus aureus*, **b** : *Bacillus subtilis*, **c** : *klebsiella*, **d** : *E. coli*)

Le tableau suivant montre les diamètres d'inhibition des souches bactériennes à l'huile essentielle d'*Artemisia*

Tableau9 : résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE d'*Artemisia* sur les quatre souches bactériennes testées.

Les Souches	Type	Zone d'inhibition (diamètre en mm)			
		SM	d1	d2	d3
<i>E. coli</i>	Gram ⁻	6.41	0	0	0
<i>Klebsiella sp</i>	Gram ⁻	7.76	6.43	4.9	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram ⁺	9.22	6.79	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram ⁺	10.82	6.85	5.49	5.31

- Les diamètres des disques (6 mm) sont inclus dans les mesures des diamètres des zones d'inhibition

II.1.5 Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne de *Syzygium aromaticum*(L)

La figure (26) montre l'effet de l'HE de *Syzygium* vis-à-vis des quatre souches bactériennes étudiées.

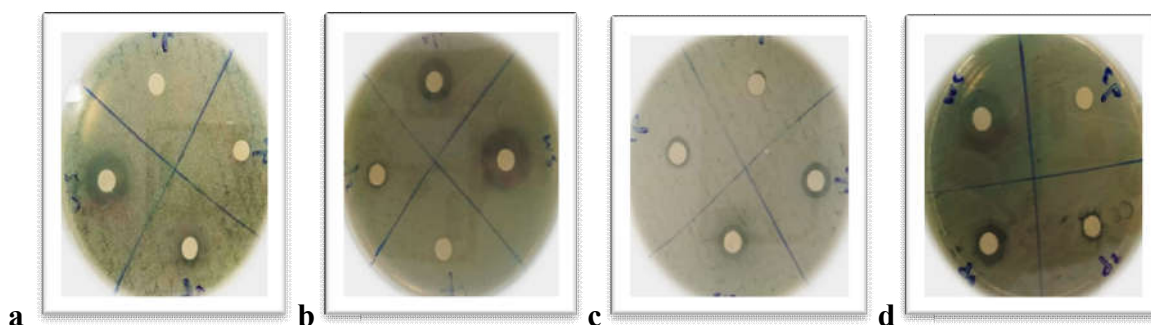


Figure26 : Effet de l'huile essentielle de *Girofle* sur les quatre souches bactériennes testées

(a : *Staphylococcus aureus*, b : *Bacillus subtilis*, c : *klebsiella*, d : *E. coli*)

Le tableau suivant montre les diamètres d'inhibition des souches bactériennes à l'huile essentielle de *Girofle*.

Tableau10 : résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE de *Girofle* sur les quatre souches bactériennes testées.

Les Souches	Type	Zone d'inhibition (diamètre en mm)			
		SM	d1	d2	d3
<i>E. coli</i>	Gram ⁻	13.13	8.34	7.22	6.28
<i>Klebsiella sp</i>	Gram ⁻	10.04	8.94	7.88	7.11
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram ⁺	13.38	6.41	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram ⁺	15.12	10.77	6.38	0

- Les diamètres des disques (6 mm) sont inclus dans les mesures des diamètres des zones d'inhibition

II.1.6 Résultats du test de sensibilité des souches bactérienne d'*Illicium verum*

La figure (27) montre l'effet de l'HE d'*Illicium verum* vis-à-vis des quatre souches bactériennes étudiées.

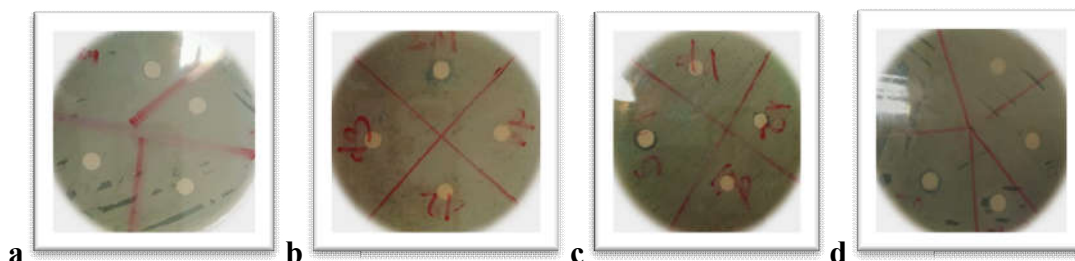


Figure27 : Effet de l'huile essentielle de *Badiane* sur les quatre souches bactériennes testées

(a : *Staphylococcus aureus*, b : *Bacillus subtilis*, c : *klebsiella*, d : *E. coli*)

Le tableau suivant montre les diamètres d'inhibition des souches bactériennes à l'huile essentielle de *Badiane*.

Tableau11 : résultats des diamètres d'inhibition en mm de l'HE de *Badiane* sur les quatre souches bactériennes testées.

Les Souches	Type	Zone d'inhibition (diamètre en mm)			
		SM	d1	d2	d3
<i>E. coli</i>	Gram ⁻	4.67	0	0	0
<i>Klebsiella sp</i>	Gram ⁻	6.35	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram ⁺	6.84	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram ⁺	5.07	0	0	0

- Les diamètres des disques (6 mm) sont inclus dans les mesures des diamètres des zones d'inhibition

Les résultats montrent des différences selon l'huile essentielle utilisée et les souches bactériennes :

***Escherichia coli* :** présente une sensibilité extrême (21mm) a *thymus sp* dans le D>20 est résistante pour *Romarin*, *Badiane*, *Artemisia* ; *Alpinia* dont le d<8mm, ainsi que sensible a *Girofle* (13mm) dont le 9<d <14mm.

***Klebsiella sp* :** présente une sensibilité extrême (20.48mm) a *thymus sp* dans le D>20 est résistante pour *Romarin*, *Badiane*, *Alpinia* dont le d<8mm, ainsi que sensible a *Girofle* (11.33mm) et *Artemisia* (9.62mm) dont le 9<d <14mm.

***Staphylococcus aureus* :** présente une sensibilité extrême (24.58mm) a *thymus sp* dans le D>20 est résistante pour *Romarin*, *Badiane*, *Alpinia* dont le d<8mm, ainsi que sensible a *Girofle* (13.54mm) et *Artemisia* (10.19mm) dont le 9<d <14mm.

Bacillus subtilis: Présente une sensibilité extrême (>20) à *thymus sp* dans le $D>20$ est résistante pour *Romarin*, *Badiane*, *Alpinia* dont le $d<8\text{mm}$, ainsi que sensible à *Artemisia* (10.19mm) dont le $9<d<14$ et très sensible à *girofle* (15.29mm) dont le $15<d<19\text{mm}$.

Donc les résultats de l'effet antibactérien de l'HE des six plantes aromatique ont été efficaces avec la plupart des souches testées selon le diamètre de zone d'inhibition.

L'espèce *thymus sp* présente une sensibilité extrême dans les quatre souches testées par rapport aux autres espèces (*Romarin*, *Alpinia*, *Girofle*, *Artemisia*, *badiane*) dans cette étude.

La grande résistance des bactéries à Gram négatif aux HE est liée à la présence de la membrane externe qui constitue une barrière d'imperméabilité efficace ; le lipopolysaccharide, empêche la diffusion des molécules hydrophobes telle que les HE (donc imperméable pour l'HE), alors que les bactéries à Gram positif sont moins protégées parce que la paroi est formée d'une couche de peptidoglycane seulement qui n'entrave que la diffusion des poids moléculaires à 50 KD [61].

III. Résultats de l'activité antifongique

Les résultats des zones d'inhibition de l'activité antifongique des huiles essentielles de *thymus sp*, *Alpinia officinarum*, *Syzygium aromaticum* (L), *Rosmarinus officinalis*, *Illicium verum* (L), *Artemisia herba alba*, sont indiquées au niveau du tableau 12 et 13.

Après 7 jours d'incubation à 25°C , nous avons mesuré les diamètres des zones d'inhibition de deux souches fongiques testées, les résultats obtenus sont représentés au niveau des figures 20 à 25.

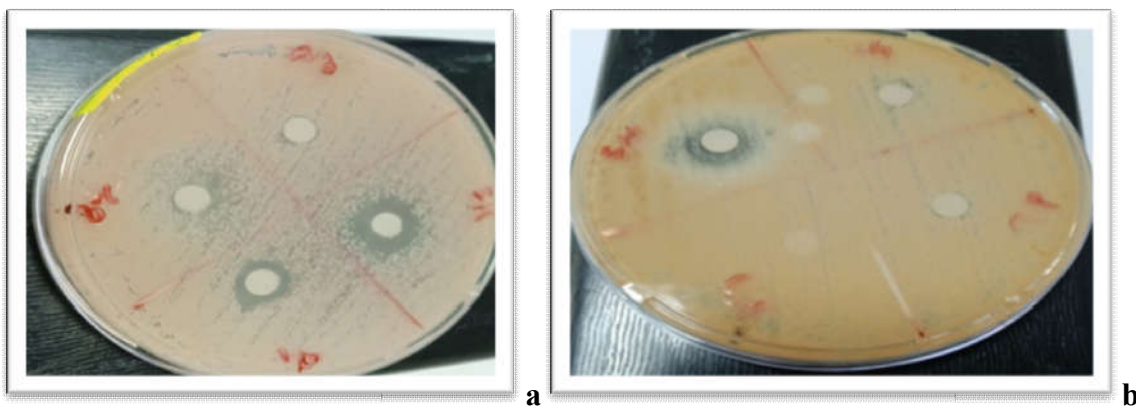


Figure 28: Zones d'inhibition (après 7 jrs) d'*Artemisia herba alba*: (a) levure (b) *penicillium*

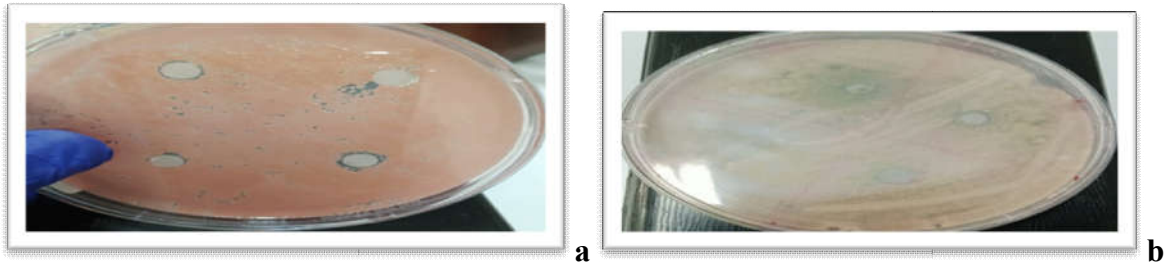


Figure29 : Zones d'inhibition (après 7 jrs) d' *Alpinia officinarum*: (a) levure (b) *penicillium*.

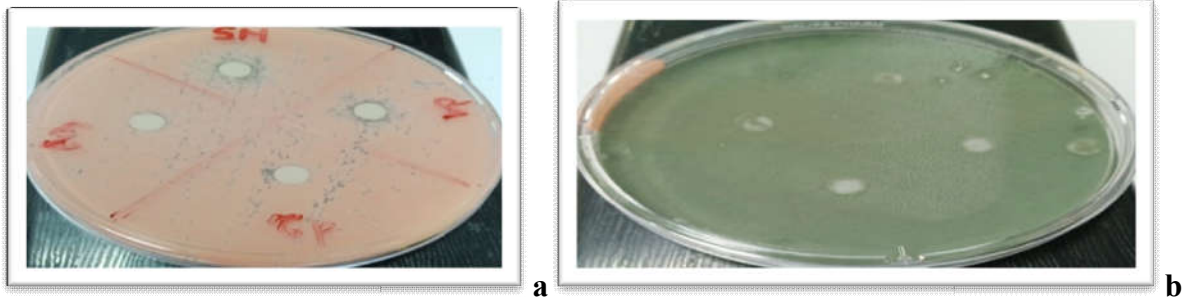


Figure30 : Zones d'inhibition (après 7 jrs) d' *Rosmarinus officinalis*: (a) levure (b) *penicillium*.

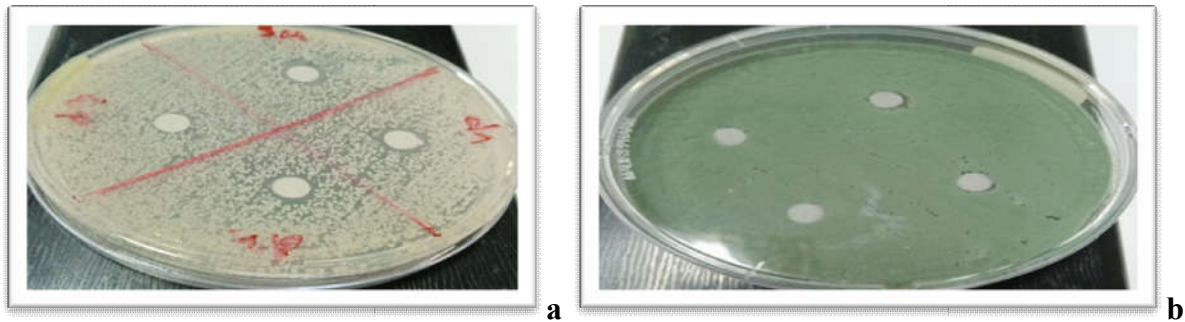


Figure31 : Zones d'inhibition (après 7 jrs) de *Thymus sp*: (a) levure (b) *penicillium*.

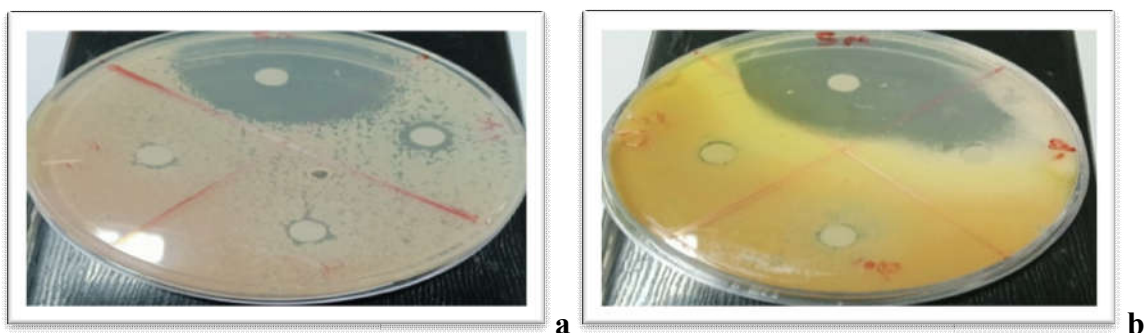


Figure32: Zones d'inhibition (après 7 jrs) de *Girofle*: (a) levure (b) *penicillium*.

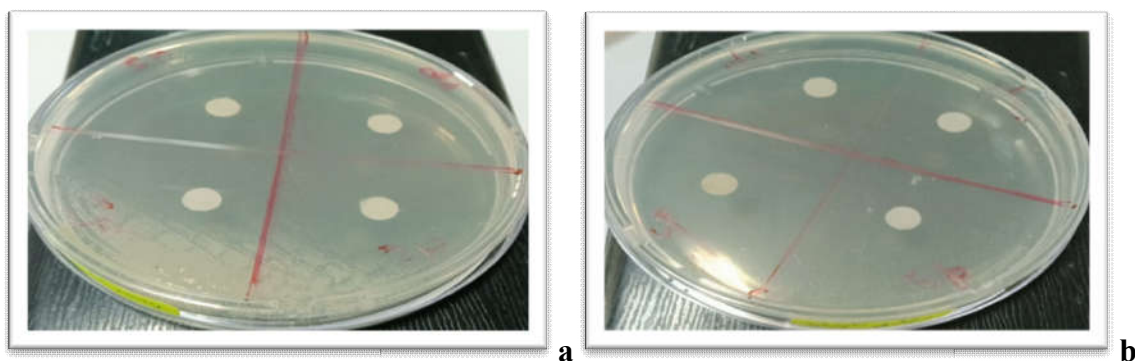


Figure33: Zones d'inhibition (après 7 jrs) d'*Illicium verum*: (a) levure (b) *penicillium*.

Tableau 12. Zones d'inhibition en (mm) après 7 jours d'incubation de levure

Souches fongique	Les huiles essentielles	Zone d'inhibition (diamètre en mm)			
		SM	d1	d2	d3
<i>Levure</i>	Thymus	7.18	2.92	5.23	0
	Badiane	>20	>20	>20	>20
	Girofle	>20	6.12	4.47	4.86
	Alpinia	6.24	0	0	0
	Artemisia	7.79	5.45	6.04	0
	Romarin	6.24	0	0	0

Tableau 13 : Zones d'inhibition en (mm) après 7 jours d'incubation de *penicillium*

Souches fongique	Les huiles essentielles	Zone d'inhibition (diamètre en mm)			
		SM	d1	d2	d3
<i>Penicillium</i>	Thymus	3.69	0	0	0
	Badiane	>20	>20	>20	>20
	Girofle	>20	0	0	0
	Alpinia	0	0	0	0
	Artemisia	10.95	0	0	0
	Romarin	0	0	0	0

Les résultats montrent des différences selon l'huile essentielle utilisée et la souche Fongique

- L'huile de badiane a montré une activité antifongique plus forte (élimination totale) contre les deux souches, par contre les HE de Romarin, Alpinia n'a pas montré d'effet fongique.
- L'huile de Girofle montrée une activité très forte dans les deux souches.
- L'huile de thymus montre une activité faible pour levure par contre cette huile n'a pas d'effet sur penicillium.

D'après la classification de [52], L'espèce Badiane présente une sensibilité extrême dans les deux souches testées par rapport aux autres espèces (Romarin, Alpinia, Girofle, Artemisia, badiane) dans cette étude.

Conclusion

Conclusion

Dans ce travail, on a tenté de contribuer à la valorisation des six plantes aromatiques (*thymus*, *Alpinia*, *Clous de Girofle*, *Romarin*, *Badiane*, *Artemisia*) très utilisées en médecine traditionnelle algérienne pour leurs vertus thérapeutiques.

Les six plantes sont extraites par le procédé d'hydrodistillation en utilisant un dispositif d'extraction type Clevenger. Les rendements en huiles essentielles sont de 2.62%, 0.42%, 2.58%, 0.88%, 0.075% et 1.88% pour respectivement les huiles extraites en 2h et 4h.

Nous avons ensuite testé l'activité antibactérienne des huiles essentielles à l'aide de technique d'aromatogramme. Pour l'activité antibactérienne des HE sur quatre souches bactériennes pathogènes, les HE des *thymus* et des *clous de Girofle* ont montré une meilleure activité par rapport aux autres quatre huiles essentielles.

Pour l'activité antifongique des HE, les HE de *Badiane* et de *Clous de Girofle* ont montré une forte activité par rapport aux autres quatre huiles essentielles.

Il serait intéressant de faire des analyses spectroscopiques à savoir GC-MS-MS pour déterminer la composition chimique de chaque huile essentielle ainsi que leur séparation par HPLC préparatoire pour faire un criblage biologique.

Références bibliographiques

- [1] **Labioud R. (2016)**. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calaminthanepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.p1.
- [2] **Amarti F, Satrani B, Aafi A, Ghanmi M, Farah A, Aberchane M, El Ajjouri M, El Antry S et Chaouch A. (2008)**. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. A 6, Pp342–347.
- [3] **Mazari K, Bendimerad N, Bekhechi C et Fernandez X. (2010)**. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. Journal of Medicinal Plants Research. 4(10), Pp959-964, A18
- [4] **Goetz P et Ghedira K. (2012)**. Phytothérapie anti-infectieuse. Edition : Springer-Verlag France, Paris. Pp 4-194.
- [5] **Toure D. (2015)**. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d’ivoire. Thèse de doctorat de l’université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY.2015 ; p : 7.
- [6] **Lakhdar L**. Evaluation de l’activité antibactérienne d’huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : Etude *in vitro*. Thèse de doctorat FACULTE DE MEDECINE DENTAIRE DE RABAT. 2015 ; p : 27.
- [7] **Taleb-Toudert K**. Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de kabylie (Nord Algérien).Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *callosobruchus maculatus* (coleoptera : bruchidae).Thèse de doctorat de l’Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.2015 ; p : 11-12.
- [8] **Chouitah O**. composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Thèse de doctorat de l’université d’Oran.2012 ; p : 19.

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

[10] **Naab D & Hadibi S. (2018).** Evaluation de l'activité antimicrobienne des deux huiles essentielles *Zingiber officinale* et *Rosmarinus officinalis* en combinaison avec la nisine. Mémoire de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. p4.

[11] **Piochon M. (2008).** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. *Mémoire, Université de Québec à Chicoutimi, Canada.*

[12] **Kurkin, V.A. (2003).** Phenylpropanoids from medicinal plants. Distribution, classification, structural analysis and biological activity. *Chem. Nat. Compd.* 39:123-15

[13] **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales, 3^{ème} édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc, Lavoisier, 1120.

[14] **Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. et Chaouch A. (2010).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. Du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* A 14(1) : Pp141-148.

[15] **Caillet S., Lacroix M., (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs application potentielles en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA), INRS-Institut Armand-Frappier.8p.

[16] **Grysole J., (2005).** Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique. Pp140-162.

[17] **Bruneton J., (1999)** : Pharmacognosie – phytochimie, plantes médicinales, 2^e édition. Ed. Tec et Doc Lavoisier.

- [18] **Hoefler.C.** Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de doctorat ; université de METZ ; 1994.
- [19] **Hessas.T & Simoud.S. (2018).** Contribution a l'étude de la composition chimique et a l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus* sp. Mémoire de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou ; Pp 41-43
- [20] **Abdelli W. (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris* .Thèse de doctorat. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis.
- [21] **.Quezel, P. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No 581.965 Q8).
- [22] **Zeghib A. (2013).** Étude phytochimique et activité antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huile essentielle de quatre espèces endémiques du genre *Thymus*. Thèse de Doctorat Constantine : Université Constantine 1.
- [23] **Benzeggouta.N. (2015).** Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées. Thèse de Doctorat : Université Mentouri Constantine .Pp 32-49.
- [24] **Quezel P., Santa S. (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, *CNRS, Paris*, (1963) : p600-781-783-793.
- [25] O.P.U.NT.WS.Benston, Fleurs algeriennes.P54.
- [26] **Messaili.b. (1995).** Systématique spermaphytes .Botanique. O.P.U. Alger. 63p.
- [27] **Madadori m.k. (1982).** Les plantes médicinales .Guides vert .Salar. p624.
- [28] **Sanon. E. (1992).** Arbre et arbrisseaux en Algérie O.P.U. Ben Aknoun. Algérie N°686 Alger. p121.

- [29] **Janvolak. K., Jinistodola .L. (1983).** Plantes médicinales illustration de Francis et Severa. Traduction française 1985-by Griind. Pp256-258.
- [30] **Mostefai. A. (2012).** Contribution à une étude morphométrique de *Rosmarinus officinalis* L (Lamiacées) dans la région de Tlemcen. Mémoire de l'Université Abou bekr Belkaid – Tlemcen. p14-15.
- [31] **Boumadjen. R., Kimouche. S. (2018).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante de Romarin (*Rosmarinus officinalis*).Mémoire de Université des Frères Mentouri- Constantine .Pp26-28.
- [32] **Bousbia.N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique.
- [33] **Zermane.A. (2010).** Etude de l'extraction supercritique Application aux systèmes agroalimentaires. Thèse de Doctorat, université de Mentouri ; Constantine.
- [34] **Sedjelmassi. A. (1993).** Les plantes médicinales du Maroc, Najah et El Djadida Casa. Pp201-203.
- [35] **Boukhatem .F. (2017).** Activité antibactérienne de l'huile essentielle de deux épices : *Syzygium Aromaticum* et *Illicium Verum*. Mémoire de l'Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem. P6.
- [36] **Francis joannès.** Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed robert laffont. 2001 ; isbn. A 2-221-09207-4.
- [37] **Nabli Ma. (1989).** Essai de synthèse sur la végétation et la phytoécologie tunisiennes.Tome I. Ed. MAB (Faculté dessciences de Tunis).Pp186-188.

- [38] **Messai L. (2011)**. Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'Est algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse de Doctorat. Université de Constantine.
- [39] **Kaouane. A.; Chabane. F. (2017)**. Contribution à l'étude des activités antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de l'Armoise blanche (*Artemisia herba alba*). mémoire de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. P17.
- [40] **IPNI**. The International Plant Name Index 2014.
- [41] **Amitouche D. Chemloul L. (2012)**. Contribution à l'évaluation de l'huile essentielle et des extraits d'*Artemisia herba-alba* algérienne. Mémoire de l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. P3.
- [42] **Trabut L. (1988)**. Précis de botanique médicale, 2ème Ed, Masson et Cie Paris.
- [43] **Benmansour N., Hacene H. (2001)**. Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* provenant de différentes régions d'Algérie. Thèse de Magister de Biologie Moléculaire Cellulaire U.S.T.H.B.
- [44] **Ayad N., B Hellal., T Hellal., A Rahmani & Z Bensmira**. Qualités nutritionnelles de l'armoise blanche des parcours steppiques du sud de la préfecture de Tlemcen. *Ecologie Environnement*. 2014; 10: Pp71-74.
- [45] **Segal S., Nash H., Johansson ED., Talwar GP., Vasquez J., Coutinho E., Luukkainen T., Sundaram K**. Observations on the antigenicity and clinical effects of a candidate antipregnancy vaccine: beta-subunit of human chorionic gonadotropin linked to tetanus toxoid. 1980.
- [46] **Mohamed A H., El-Sayed M A. and Mohamed N S**. Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba alba*. *Records of natural products*. 2010;A 4:Pp 1-25
- [47] **Benjlali B., Richard et liddle P.1984**. Congrès International du soc. Ital. Phyto. Pp 131-156.

[48] **Bendjilali B., Richard H.1980.** Rivista Italiana. Eppos. 62, Pp 69-74.

[49] **Benmansour N., Hacene H.2001.** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* provenant de différentes régions d'Algérie. Thèse de Magister de Biologie Moléculaire Cellulaire U.S.T.H.B.

[50] **Dahmani-Hamzaoui N.2004.** Extraction et analyse d'huiles essentielles d'*Armoise blanche* Algérienne. Magister, U.S.T.H.B.

[51] **Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. &Roura S.I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora s organic Swiss chard. *Lebensm. –Wiss.u.-Technol.*36, Pp679-684.

[52] **Zaika L.L. (1988).**Spices and Herbs: their antimicrobial activity and its determination. *J of Food Safety.*9, Pp 97-117.

[53] **Bouguenna Idriss (2016).** Adaptation de l'antibiothérapie dans la pyélonéphrite aigue enquête de pratique .Thèse de Doctorat. Université paris Diderot-paris7.p7.

[54] **Chaibi.A., Ounissi.N(2013).**Etude « *in vitro* » de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *lavandula antinae* (Maire) de Miré et Qz. Mémoire de l'université Abbes Laghrour-Khenchela.p27.

[55] **Granger M.M.P., Passet j. &Arbouset G. (1973).**l'essence de *Rosmarinus officinalis*, influence du mode de traitement du matériel végétal.Parf.Cosm.Sav.France3(3).Pp133-137.

[56] **Rosua J.L. &Granados A.G. (1987).** Analyse des huiles essentielles d'espèces du genre *Rosmarinus l.*et leur intérêt en tant que caractère taxonomique. Plantes médicinales et phytothérapie. XXI(2).Pp138-143.

[57] Fournier G., Habib J., Reguigui A., Safta F., Guetari Ss., et Chamli R. (1989). Etude de divers échantillons d'huile essentielle de *Rosmarinus* de Tunisie. Plantes médicinales phytothérapies. XXI(3). Pp180-185.

[58] Khajeh M., Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F. & Pirmoradei M.R. (2005). comparison of essential oil composition of *ferula assa foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrosistillation methode. Food chemistry. A (91). Pp639-644.

[59] Viljoie A.M., Denirci B., Baser K.H.C., Potgieter C.J., and Edwards T.J. (2006). Micro distillation and essential oil chemistry- a useful tool for detecting hybridisation in plectranthus (Lamiaceae). South African Journal of Botany. A (72). Pp99-104.

[60] Sefidkon F., Abbasi K., Jamzad Z. & Ahmadi S. (2007). The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *satureja rechingeri* jamzad .food chemistry. A (100). Pp1054-1058.

[61] Ozturk S. & Ercisli S. (2006). The chemical composition of essential oil and in vitro antibacterial activities of essential oil and extract of *Ziziphora persica* Bunge. Journal of Ethnopharmacology. A (106). Pp372-376.