



*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 DESSCIENCES AGRONOMIQUES**



**MEMOIRE**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER ACADEMIQUE**

**FILIERE : Biotechnologie**

**OPTION : Biotechnologie Végétale**

**Thème**

**ACTIVITES BIOLOGIQUES DE *SALVIA ROSMARINUS* ET  
*LAVANDULA DENTATA* ENDEMIQUES DE L'ALGERIE DANS  
LA RÉGION DES AURES : CAS DE KHENCHELA**

**Présenté par :**

**ZERDOUM Nassima**

**RADJHI Romaïssa**

*Soutenu le 22/06/2024*

**Mémoire de Master académique soutenu devant le jury composé de :**

<b>Présidente</b>	<b>BOUZIANE Zahira</b>	<b>MCB</b>	<b>Univ. Abbès Laghrou – Khenchela</b>
<b>Encadrent</b>	<b>BENSIZERARA Djamel</b>	<b>MCA</b>	<b>Univ. Abbès Laghrou – Khenchela</b>
<b>Examinatrice</b>	<b>ZITOUNI WASSILA</b>	<b>MAA</b>	<b>Univ. Abbès Laghrou – Khenchela</b>

**Année universitaire 2023/ 2024**

## Résumé :

Notre étude vise à déterminer les activités antibactériennes des huiles essentielles (HEs) à partir de trois échantillons de plantes dont deux de la même espèce, à savoir le romarin (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) (romarin des régions de Kheirane et Bouhmama) et un de lavande (*Lavandula dentata* L., 1753). La productivité des HE extraites a également été comparée par deux méthodes: l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau. L'activité antibactérienne a été démontrée par la méthode de l'aromatogramme contre trois souches (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). Les résultats ont montré que les deux huiles de romarin avaient une bonne activité sur les trois souches bactériennes ; L'HE de Kheirane était plus active sur *Staphylococcus aureus* alors que l'HE de Bouhmama était plus active sur *Escherichia coli*, tandis que l'HE de lavande avait une bonne activité sur *Staphylococcus aureus*. Le rendement en huiles essentielles obtenues à partir de lavande par les deux méthodes était respectivement de 3,52 % et 0,67 %. Quant au romarin issu de Kheirane, le rendement était de 1,18% et 0,61%, tandis que pour Bouhmama, le rendement était respectivement de 1,08% et 0,75%.

Les résultats permettent de conclure que l'effet antibactérien de l'huile dépend de sa composition chimique et du type de bactéries testées. Cela nécessite, dans un futur proche, de réaliser d'autres activités biologiques sur des plantes locales en Algérie et d'extraire les HE de plusieurs manières différentes pour les comparer en termes de performances, ainsi que de soumettre les HE à la technologie de chromatographie en phase gazeuse (GC/MS). Les caractériser et déterminer leurs composants.

**Mots clés:** activité antibactérienne, huile essentielle, hydrodistillation, entraînement à la vapeur d'eau, aromatogramme, *Salvia rosmarinus*, *Lavandula dentata*..

**Abstract:**

Our study aims to determine the antibacterial activities of essential oils (EOs) from three plant samples including two of the same species, namely rosemary (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) (rosemary from the Kheirane and Bouhmama regions) and one of lavender (*Lavandula dentata* L., 1753). The productivity of the extracted EOs was also compared by two methods: hydrodistillation and steam distillation. The antibacterial activity was demonstrated by the aromatogram method against three strains (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). The results showed that the two rosemary oils had good activity on the three bacterial strains; Kheirane EO was more active on *Staphylococcus aureus* while Bouhmama EO was more active on *Escherichia coli*, while lavender EO had good activity on *Staphylococcus aureus*. The yield of essential oils obtained from lavender by the two methods was 3.52% and 0.67%, respectively. As for rosemary from Kheirane, the yield was 1.18% and 0.61%, while for Bouhmama, the yield was 1.08% and 0.75% respectively.

The results allow us to conclude that the antibacterial effect of the oil depends on its chemical composition and the type of bacteria tested. This requires, in the near future, to carry out other biological activities on local plants in Algeria and to extract the EOs in several different ways to compare them in terms of performance, as well as to subject the EOs to chromatography technology in gas phase (GC/MS). Characterize them and determine their components.

**Keywords:** antibacterial activity, essential oil, hydrodistillation, steam distillation, aromatogram, *Salvia Rosmarinus*, *Lavandula dentata*.

## ملخص:

تهدف دراستنا إلى تحديد الأنشطة المضادة للبكتيريا للزيوت العطرية من ثلاث عينات نباتية منها اثنتين من نفس النوع، وهما إكليل الجبل (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) وإكليل الجبل من منطقتي خيران و بوحمامة) وواحدة من الخزامى (*Lavandula dentata* L., 1753). تمت مقارنة إنتاجية الزيوت الأساسية المستخرجة بطريقتين: التقطير المائي والتقطير بالبخار. تم إثبات النشاط المضاد للبكتيريا بطريقة الاقراص ضد ثلاث سلالات (المكورات العنقودية الذهبية، الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية). أظهرت النتائج أن كلا من زيتي إكليل الجبل كان لهما نشاط جيد على السلالات البكتيرية الثلاثة؛ كان الزيت الأساسي لمنطقة خيران أكثر نشاطا على المكورات العنقودية الذهبية، بينما كان الزيت الأساسي لمنطقة بوحمامة أكثر نشاطا على الإشريكية القولونية، بينما كان الزيت الأساسي للخزامى أكثر نشاطا على المكورات العنقودية الذهبية. بلغت مردودية الزيوت العطرية التي تم الحصول عليها من الخزامى بالطريقتين 3.52% و 0.67% على التوالي. أما إكليل الجبل لمنطقة خيران فقد بلغ مردوديته 1.18% و 0.61%، أما في منطقة بوحمامة فقد بلغت المردودية 1.08% و 0.75% على التوالي.

تتيح لنا النتائج أن نستنتج أن التأثير المضاد للبكتيريا للزيت يعتمد على تركيبه الكيميائي ونوع البكتيريا التي تم اختبارها. وهذا يتطلب، في المستقبل القريب، القيام بأنشطة بيولوجية أخرى على النباتات المحلية في الجزائر واستخلاص زيوتها الأساسية بعدة طرق مختلفة لمقارنتها من حيث الأداء، وكذلك إخضاعها للتقنية الكروماتوغرافية في الطور الغازي (GC/MS) ليتم توصيفها وتحديد مكوناتها.

**الكلمات المفتاحية:** النشاط المضاد للبكتيريا، الزيوت العطرية، التقطير المائي، التقطير بالبخار، طريقة الاقراص، إكليل الجبل، الخزامى.

## **Remerciements**

En premier lieu nous tenons à remercier le bon dieu de nous avoir donné le courage et la foi pour la réalisation de ce travail.

Ensuite, nous adressons nos remerciements à tous les enseignants, qui sans eux, nous ne serons pas à ce stade de fin d'études. Leurs patiences et leurs consciences durant le travail sont le facteur de notre réussite.

Nous adressons nos vifs remerciements à notre encadreur Dr. BENSIZERARA D., pour son encadrement, sa confiance, son soutien et sa disponibilité et ses précieux conseils qui nous ont permis à bien mener ce travail.

Nous remercions aussi Dr. BOUZIANE Z., pour sa disponibilité de présider notre jury.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à docteur Dr. ZITOUNI W., pour l'honneur d'examiner notre travail.

Enfin nous remercions nos familles qui nous ont toujours soutenues, et qui sont la lumière de notre vie, qui ne soit jamais éclaircit sans elles.



## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À ma mère, **Hadda**, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite et qui a toujours subvenu à mes besoins. Soutien et encouragement dans les moments difficiles pour atteindre ce niveau.*

*A mon père : **Ibrahim**, qui m'a soutenu et contribué directement à la préparation de ce travail, et qui a eu à cœur de m'encourager tout au long de ma vie.*

*À mes sœurs : **Widad, Ikram** et **Kawther** pour leur tendresse, toute l'affection qu'elles m'ont témoignée et leurs précieux encouragements.*

*Dédié à mon frère et soutien : **Tarek***

*Bien sûr, sans oublier mon bel oiseau : **Muhammad Siradj**. À celle qui a ouvert avec moi la voie du succès dans notre carrière scientifique, à ma compagne : **Nassima Zerdoum**.*

*À tous ceux qui ont joué un rôle dans ma vie et contribué directement ou indirectement à la préparation de ce mémoire. Je vous dis*



# ***Merci***



## *Dédicaces*

*Le voyage n'a pas été court et il ne devrait pas l'être. Le rêve n'était pas proche et le chemin n'était pas semé d'embûches, mais je l'ai fait. Dieu soit loué, qui a facilité les débuts et nous avons atteint les fins.*

*Je dédie le fruit de mes humbles efforts à celui dont je porte le nom avec fierté, qui m'a soutenu et m'a appris que la vie est son destin et mon arme est la connaissance, qui m'a appris la patience et la persévérance malgré les difficultés, et dont les prières ont toujours m'entourait, mon cher père.*

*À ma chère perle, ma mère, qui a été une lumière dans les nuits noires, qui m'a soutenu tout au long de mon voyage et m'a facilité le voyage, ma chère mère.*

*A ceux qui m'ont appris à gravir les échelons de la vie, que la patience et la patience de mes frères **chahira** et **AbdElHalim** et **Hadjar**.*

*À mes amis au fil des années, à ceux qui ont traversé l'adversité et à ceux qui inspirent ma réussite, à ceux qui m'ont tendu la main lorsque j'en avais besoin, à mes chers amis **Khadidja**, **Wissam**, **Romaissa**, **Hassina**, **Manal**, **Donia**..*

*À mon soutien et à mes côtés constants, à celui qui m'a soutenu à tout moment, mon fiancé A.*



### Liste des abréviations

<b>HD</b>	Hydrodistillation	<b>HE</b>	Huile essentielle
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>AFNOR</b>	Association Française de Normalisation	<b>R</b>	Rendement
<b>RHE</b>	Rendement en huile essentielle en %.	<b>MH</b>	milieu Mueller Hinton
<b>D</b>	Densité	<b>µl</b>	Microlitre
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection	<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<b>%</b>	Pourcentage	<b>°C</b>	Dégré celsius
<b>cm</b>	Centimètre	<b>mm</b>	Millimètre
<i>P.aeruginosa aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas</i>	<b>(CH<sub>3</sub>OH)</b>	Méthanol
<b>(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)</b>	Sulfate de sodium	<b>(FeCL<sub>3</sub>)</b>	Chlorure du fer
<b>(CHCL<sub>3</sub>)</b>	Chloroforme	<b>(CH<sub>3</sub>COOH)</b>	Acide acétique
<b>(HCL)</b>	Chlorure d'hydrogène	<b>(NaCl)</b>	Chlorure de sodium

### Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Les étapes d'extraction d'huile essentielle.	09
Figure 02	Préparation des dilutions.	11
Figure 03	L'huile essentielle de <i>Salvia rosmarinus</i> (Kheirane « Oued El Arab »).	15
Figure04	L'huile essentielle de <i>Salvia rosmarinus</i> (Bouhmama « Assoul »).	15
Figure 05	L'huile essentielle de <i>Lavandula dentata</i> L.	16
Figure 06	Les zones d'inhibition des huiles essentiels testée ( <i>E. coli</i> ).	20
Figure 07	Les zones d'inhibition des huiles essentielles testée ( <i>Staphylococcus aureus</i> ).	20
Figure 08	Les zones d'inhibition des huiles essentielles testée ( <i>Pseudomonas</i> ).	20
Figure 09	Les zones d'inhibition des huiles essentielles testée(les répétitions).	21
Figure 10	La zone d'inhibition des huiles essentielles testée (DMSO).	21
Figure 11	Histogramme présent les zones d'inhibition pour toutes les souches bactéries de HE « romarin de la région Bouhmama ».	21
Figure 12	Histogramme présent les zones d'inhibition pour toutes les souches bactéries de HE « romarin de la région Kheirane ».	22
Figure 13	Histogramme présent les zones d'inhibition pour toutes les souches bactéries de HE « <i>Lavandula dentata</i> L ».	22

### Liste des tableaux

<b>tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 01</b>	Le cadre temporel et spatial de romarin et lavande.	04
<b>Tableau 02</b>	Matériel du laboratoire utilisé.	05
<b>Tableau 03</b>	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de ( <i>Salvia rosmarinus</i> Spenn) et ( <i>Lavandula dentata</i> L.,).	14
<b>Tableau 04</b>	Résultats des tests chimiques.	16
<b>Tableau 05</b>	Les caractéristiques physico-chimiques des HE de romarin et la lavande par les deux méthodes d'extractions.	17
<b>Tableau 06</b>	Résultats de la sensibilité des bactéries.	23

## Sommaire

Résumé	I
Remerciements	Ii
Dédicaces	iii
Liste des abréviations	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III
Table des matières	IV
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE</b>	01
<b>MATERIEL ET METHODES</b>	
1. Cadre d'étude	04
2. Matériels utilisés	04
2 .1.Matériel végétal	04
2 .2. Séchage du matériel végétal	04
2. 3. Matériel du laboratoire	05
2.4. Matériel biologique	06
3. Criblage Phytochimique	07
3.1. Test des saponosides	07
3. 2.Test des flavonoïdes	07
3.3.Test des stérols et terpènes	07
3.4.Test des Tanins	07
4.Procédé d'extraction des huiles essentielles	07
4.1. Les huiles essentielles	07
4.2.Extraction de de l'huile essentielle de ( <i>Salvia rosmarinus</i> Spenn., 1835) « région de kheirane »	08
4.3.Extraction de l'huile essentielle de ( <i>Lavandula dentata</i> L., 1753) par hydrodistillation	08
4.4.Extraction de l'huile essentielle de « <i>Lavandula dentata</i> L., 1753 » et « <i>Salvia rosmarinus</i> Spenn., 1835 » par entrainement à la vapeur d'eau	08
4.5. Plan d'extraction	09
4.6.Calcul du rendement	09
4.7.Calcul de la densité	09

5. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE	10
5. 1.Méthode de diffusion sur disque (l'aromatogramme)	10
5.2. Ré-isolément des souches bactériennes	10
5.3. Préparation du milieu de culture	10
5.4. Préparation de l'inoculum	10
5.5. L'ensemencement	11
5 .6 .Préparation des dilutions de l'HE	11
5.7. Préparation des disques	12
5.8 .Application des disques	12
5.9. Lecture de l'aromatogramme	12
<b>RESULTATS ET DISCUSSIONS</b>	
1. Caractéristiques organoleptiques	14
1.1..Caractéristiques organoleptiques des H. de ( <i>Salvia rosmarinus</i> Spenn., 1835)	15
1.2. Caractéristiques organoleptiques des H. de ( <i>Lavandula dentata</i> L., 1753)	15
2. Tests chimiques	15
3. Les caractéristiques physico-chimiques de HES de ( <i>Salvia rosmarinus</i> Spenn., 1835) et de ( <i>Lavandula dentata</i> L., 1753)	16
3.1. Extraction et détermination du rendement	18
3.2 .Densité	19
4. Pouvoir de l'activité antibactérienne	19
4.1. L'aromatogramme	19
4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	23
<b>CONCLUSION</b>	
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
	26

# *Introduction générale*

### Introduction

De tout temps et sur les cinq continents, les hommes ont utilisé les plantes pour prévenir. Ou guérir des maladies. En effet, les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme qui a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base: nourriture, abris, vêtements. Et à travers le temps, les hommes se sont soignés avec les plantes. Qu'ils avaient à leur disposition. Une plante médicinale est dotée des propriétés thérapeutiques, Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine, etc.) peut être employée dans le but de se soigner. La majorité des espèces végétales qui se développent à travers le monde ont des propriétés thérapeutiques grâce à leurs principes actifs qui influencent directement sur l'organisme. Ces propriétés sont employées à la fois en médecine traditionnelle et en phytothérapie. En réalité, elles offrent des bénéfices dont les médicaments sont souvent dépourvus. On les retrouve Dans divers secteurs (pharmaceutique, cosmétique, parfumerie, agroalimentaire...) (**SAOUDI et TOUMI, 2020**).

En Algérie, en raison de la variété de son climat et de sa position géographique stratégique, il existe un grand nombre d'espèces naturelles qui constituent un patrimoine végétal très important en raison de leurs schémas de répartition spatiale et de leur contribution à l'équilibre écologique (**DEKICHE et BENZAID, 2023**).

Le romarin (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) est récemment étudié dans les secteurs pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. Cela ressemble à de l'herbe, la plante aromatique de la famille des Labiées (Lamiacées) est connue pour ses vertus aromatiques, Antioxydants, antimicrobiens, antispasmodiques, emménagogues et anti tumoral. En plus en médecine traditionnelle (**Bekkara et al., 2007**).

La plante de la famille des Lamiacées, (*Lavandula dentata* L., 1753), est très répandue dans la Région méditerranéenne. Son huile essentielle est reconnue pour ses propriétés analgésiques, Antibactériennes, antifongiques, antidépressives, antispasmodiques, calmantes, carminatives, cicatrisantes et sédatives (**Cavanagh & Wilkinson., 2002, & Price, 2007**). Linalool est un élément bioactif aromatique et volatil qui possède une activité biologique en tant qu'antimicrobien, anti-leishmaniose, anti-inflammatoire (**Mughal, 2019**).

L'antibiorésistance s'est progressivement développée et touche désormais toutes les bactéries pathogènes en raison de l'utilisation répétée d'antibiotiques. C'est pourquoi l'utilisation des principes actifs des plantes aromatiques et médicinales présents dans les huiles essentielles (HE) et les hydrolats a suscité l'intérêt des chercheurs. Les radicaux libres se réfèrent à des atomes ou des molécules qui possèdent un électron non apparié (électrons isolés). Ces éléments sont extrêmement réactifs en raison de la tendance de cet électron à se réassocier, ce qui perturbe d'autres molécules. Les molécules ainsi modifiées se transforment en d'autres radicaux libres, ce qui entraîne une réaction en cascade. C'est généralement ce qui se produit pendant la peroxydation des lipides. Les radicaux libres sont des espèces très dangereuses, capables de causer un grand nombre de maladies, mais aussi des espèces essentielles à la vie (**BOUHENNI et BENSLIMANE, 2021**).

Effectivement, les métabolites secondaires sont et restent l'objet de nombreuses études tant in vivo qu'in vitro, en particulier la recherche de nouveaux composants naturels tels que les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles (**Hamidi, 2013**). Les huiles essentielles sont des combinaisons complexes de composés volatils fabriqués par des organismes vivants et extraits uniquement par des méthodes physiques (pressage et distillation) à partir d'une plante entière ou d'une partie de la plante d'origine taxonomique connue. Les principaux composants respectifs proviennent principalement de la biosynthèse. Cependant, il y a un grand nombre de substances uniques et une grande diversité dans la composition des huiles essentielles. Les huiles essentielles sont utilisées dans de nombreux domaines, allant du bien-être à la santé en passant par la beauté. Différentes méthodes sont utilisées pour extraire les huiles essentielles des fleurs, des écorces, des tiges, des feuilles, des racines, des fruits et d'autres parties de la plante. Elles sont devenues un élément essentiel et une fondation de différentes industries pour la production de médicaments, de produits cosmétiques et de produits agricoles (**SAOUDI et TOUMI, 2020**).

Différentes techniques d'extraction ont été développées en raison de l'importance capitale des huiles essentielles. L'hydrodistillation, l'hydrodiffusion, l'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau, expression à froid, extraction par solvant organique. Dans notre travail on a adopté deux méthodes à savoir, l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau, qui est l'un des moyens officiels d'obtenir HE. Dans ce processus d'extraction, la plante est exposée à la vapeur électrique sans macération préalable.

Les vapeurs sont saturées de matières volatiles concentrées, puis sont séparées des plus importantes, puis divisées en phase liquide (HA) et phase organique (HE). Il n'y a pas de contact

direct entre l'eau et la plante, puis entre l'eau et les aromatiques, évitant ainsi une hydrolyse directe ou des dommages pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, l'odeur de l'HE obtenue est douce et forte, longue et rapide, ce qui signifie que les notes de tête sont riches en esters. La deuxième méthode est celle d'extraction par Hydrodistillation (HD), Cela implique de plonger l'équipement dans un bain-marie et de chauffer le jus jusqu'au point d'ébullition. Au total, ont été maintenus à pression atmosphérique.

La distillation peut être effectuée avec ou sans concentration de l'eau aromatique obtenue lors de la décantation. Ce système présente les erreurs, dues à la vapeur ou à l'eau bouillante ; Certaines parties des plantes, notamment les fleurs, sont très délicates et résistantes au traitement par nettoyage à la vapeur et par hydrodistillation (**BOUKHATEM et al.,2019**). Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des deux plantes : (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) et de (*Lavandula dentata* L., 1753) .

Notre étude sera répartie en deux parties :

- ✓ Une introduction dans laquelle on présente des généralités sur les huiles essentielles, leurs compositions, activités biologiques et pharmacologiques ainsi que sur les méthodes d'extraction des huiles essentielles.
- ✓ Dans la seconde partie nous effectuerons une étude expérimentale qui est principalement axée sur :
  - L'extraction des huiles essentielles de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) et de (*Lavandula dentata* L., 1753) par deux méthodes dont l'hydrodistillation et entraînement à la vapeur d'eau.
  - L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées.

# *Matériel et Méthodes*

## 1. Cadre d'étude

Notre travail expérimental a été réalisé pendant quatre mois d'étude dans le laboratoire pédagogique de l'Université de Abbes Laghrour Khenchela. Cette étude consiste à tester l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites par deux méthodes d'extraction de (*Lavandula dentata* L., 1753) et de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) de deux régions différentes.

## 2. Matériels utilisés

### 2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal, utilisé est :

- (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835)(tiges et feuilles), récolté dans deux régions (Bouhmama "forêt Assoul" au Nord de la wilaya et (Kheirane, Oued El Arab)
- (*Lavandula dentata* L., 1753) (feuilles et de fleurs) récolté dans la commune de Khenchela (wilaya de Khenchela).

### 2.2. Séchage du matériel végétal

Les parties aériennes des espèces étudiées ont été découpées et séchées à l'obscurité dans un endroit bien aéré à une durée de 15jours.

**Tableau 01** : Cadre et spatiau-temporel du romarin et de la lavande

Nom commun	Nom scientifique	Famille Botanique	Partie récoltée	Lieu de Récolte	Date de Collecte
<b>Lavande</b>	( <i>Lavandula dentata</i> L., 1753)	<i>Lamiaceae</i>	Feuilles +Fleurs	Nord de Khenchela	2024
<b>Romarin (de Bouhmama)</b>	( <i>Salvia rosmarinus</i> Spenn., 1835)	<i>Lamiaceae</i>	Tige et feuilles+ fleurs	forêt Assoul	11Mars2024
<b>Romarin (de Kheirane)</b>	( <i>Salvia rosmarinus</i> Spenn., 1835)	<i>Lamiaceae</i>	Tige et feuille +fleurs	Au Nord "Oued El Arab"	12 Février 2024

**2.3. Matériel du laboratoire** Le tableau ci-dessous regroupe le matériel (appareils, produits et Milieux) du laboratoire utilisé :

**Tableau02 : Matériel du laboratoire utilisé.**

<b>Matériel du laboratoire</b>	<b>Utilisation</b>
<b>Appareil</b>	
Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger	Extraction des HEs
Agitateur plaque chauffante	Préparation du milieu de culture
Réfrigérateur	Conservation des échantillons
Autoclave	Stériliser les matériels et les milieux de culture
Etuve réglée à 37C°	Incubation des souches bactériennes
Micropipette (500µl)	Préparation de micro volumes
Bec bunsen	Pour créer une atmosphère stérile des instruments
Les tubes à essai et les boîtes de pétrie	Sert à déplacer ou à contenir de petites quantités de solution ou à tester des réactions chimiques sur de faibles volumes de réactifs, et les boîtes de pétrie pour la mise en culture de bactéries.
Les flacons	Préparation des solutions
Papier Whatman (Ø=6mm)	Diffusion des huiles essentielles
Ecouvillon	Pour l'ensemencement des bactéries
<b>Produits</b>	
Méthanol (CH <sub>3</sub> -OH). Sulfate de sodium(Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ). Chlorure du fer (FeCL <sub>3</sub> ). Chloroforme(CHCL <sub>3</sub> ). Acide acétique(CH <sub>3</sub> COOH). Hydroxyde d'ammonium(NH <sub>4</sub> OH) Chlorure d'hydrogène(HCL) Chlorure de sodium (NaCl) Diméthylsulfoxyde (DMSO)	Pour les tests phytochimiques
<b>Milieux de culture</b>	
Gélose nutritive	Utilise pour l'obtention des souches jeunes.
Milieu Mueller Hinton	Utilisé à l'étude antibactérienne de l'HE.

### 2.4. Matériel biologique

Les souches utilisées sont des bactéries pathogènes et contaminantes isolées des produits pathologiques provenant du laboratoire pédagogique à savoir:

#### a. *Staphylococcus aureus* ATCC25923

Le staphylocoque est une espèce de cocci à Gram positif qui a tendance à se regrouper de manière irrégulière, comme une grappe de raisin regroupée. Les colonies de *Staphylococcus aureus* sont pigmentées, ce qui en fait un germe aérobie – anaérobie facultatif. Celui-ci joue un rôle crucial dans les infections communautaires et nosocomiales : il présente une coagulase qui le distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques. La bactérie se trouve en grande quantité chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales différentes. Environ un tiers des individus chez l'homme sont des porteurs sains qui stockent la bactérie dans les muqueuses et les zones cutanées humides. Les résistances aux antibiotiques se développent rapidement et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glycopeptides (Madjour, S, 2014).

#### b. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

*Pseudomonas* est un genre de bactéries mobiles aérobies Gram négatif, de 2 à 4 µm de long, en bâtonnets renflés, avec un flagelle polaire qui joue un rôle essentiel dans la pathogénicité. Ces bactéries ont une structure asporulée et ont la capacité de générer des pigments, comme la pyocyanine (vert-bleu) (Nauciel, 2000) et la pyrorubrine (jaune-vert) qui sont fluorescentes. La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* peut produire une variété de toxines extracellulaires, telles que l'exotoxine A et des entérotoxines. Cette espèce peut également être pathogène par d'autres substances telles que l'acide hydrocyanique, des enzymes protéolytiques, des biofilms et des substances hémolytiques. La présence de toxines et de substances dangereuses est un élément clé qui contribue à la virulence élevée de *P. aeruginosa* chez divers hôtes. (YOUNES et MOHAMMED, 2016).

#### c. *Escherichia coli* ATCC 25922

Il s'agit de la principale espèce de la flore aérobie du tube digestif. La bactérie *Escherichia coli* est généralement commensale. Si les défenses de l'hôte sont affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence spécifiques, elle peut devenir pathogène (SAOUDI et TOUMI, 2020).

### 3. Criblage phytochimique

Il s'agit de méthodes qui permettent d'identifier les diverses familles chimiques présentes dans un organe végétal. Les réactions physicochimiques sont responsables de la détection de la présence des substances chimiques. Il existe de nombreux groupes phytochimiques, à l'image des alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes... etc.

#### 3.1. Test des saponosides

On ajoute 2 g de poudre de la plante à 80 ml d'eau distillée et on chauffe pendant 5 minutes. L'extrait est ensuite passé par un filtre, puis refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes. La présence de saponosides peut être signalée par la formation d'une mousse plus ou moins importante.

#### 3.2. Test des flavonoïdes

La poudre de 10 g de plante est pesée et mélangée à 150 ml d'une solution HCl (1 %). Après avoir macéré ce mélange pendant 24 heures, nous ajoutons  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 10 ml du filtrat jusqu'à obtenir une concentration basique. La présence d'un jaune pâle indique la présence des flavonoïdes.

**3.3. Test des stérols et terpènes** La poudre de 5 g de plante a été ajoutée à 20 ml de chloroforme et filtrée. On a ensuite ajouté 1 ml d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  avec précaution sur les parois du tube. Le croisement des deux phases offre une teinte verte qui témoigne de la présence de stérols insaturés et de terpènes.

#### 3.4. Test des Tanins

10 g de plante sont préparées en poudre, puis extraites à l'aide d'alcool éthylique à 50%. Ensuite, on filtre et on ajoute quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  (1 %) au filtrat. En présence de tanins, il prend une teinte verdâtre (SAOUDI et TOUMI, 2020).

### 4. Procédé d'extraction des huiles essentielles

**4.1. Extraction de l'huile essentielle de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) « région de Bouhmama » par hydrodistillation :** L'hydrodistillation de l'huile essentielle de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) a été réalisée en utilisant l'appareil de Clevenger. Une ampoule de 2 L contenant 500 g de plante sèche (romarin de Bouhmama) est placée au-dessus d'un ballon rempli d'eau distillée, puis l'ensemble est mis à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs contenant de l'huile se condensent lorsqu'elles traversent un réfrigérant et tombent dans une ampoule à décanter, où l'eau et l'huile se séparent en raison de leur différence de densité. Les huiles essentielles sont collectées dans des flacons opaques et conservées à une température de 4 °C.

### **4.2. Extraction de de l'huile essentielle de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) « région de Kheirane » par hydrodistillation**

Une ampoule de 2 litres contenant 200 grammes de romarin (région de Kheirane) séché est placée sur un ballon rempli d'eau distillée. Le ballon est relié à un appareil de type Clevenger. Le bonnet chauffant sur lequel repose le dispositif d'extraction doit être utilisé comme source de chaleur pendant 3 heures. La vapeur contenant l'huile se condense en passant dans le tube de refroidissement et tombe dans un entonnoir de séparation, où l'eau et l'huile se séparent en raison de la différence de leurs densités. Les huiles essentielles sont ensuite collectées dans des flacons opaques et conservées à une température de 4 °C.

### **4.3. Extraction de l'huile essentielle de (*Lavandula dentata* L., 1753) par hydrodistillation**

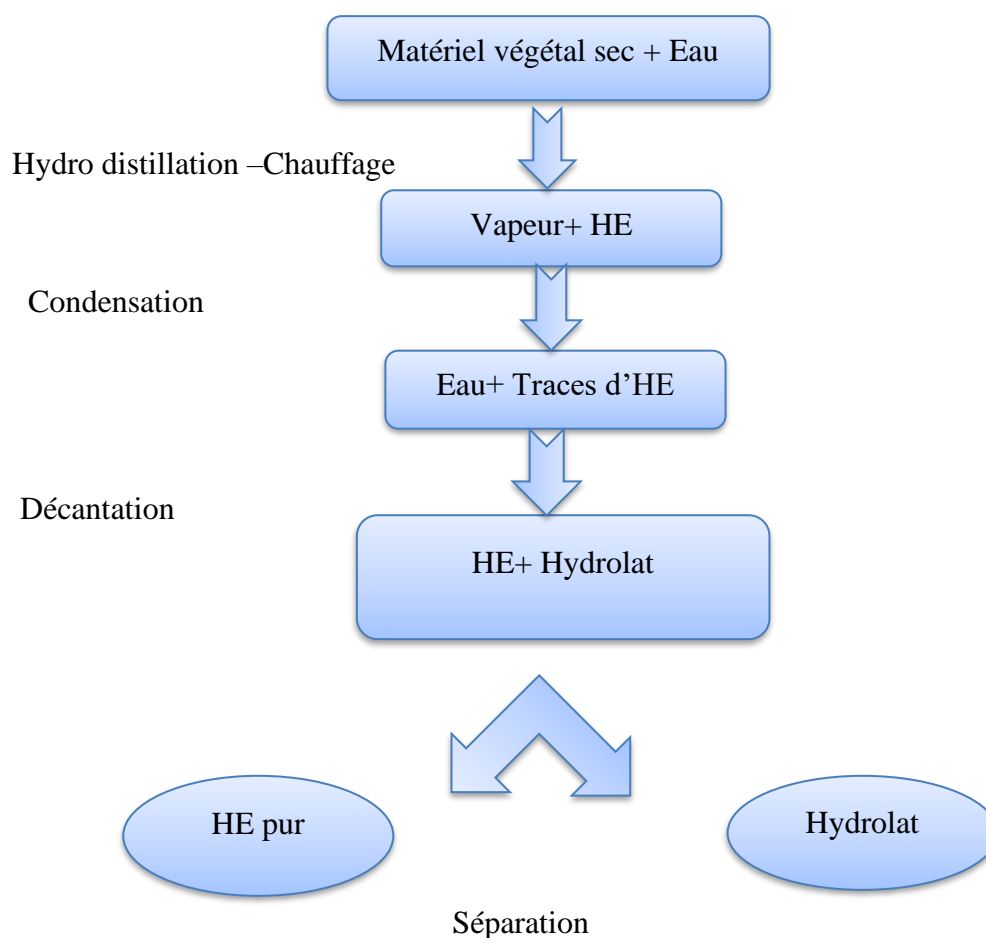
250gramme de matière végétale sèche de lavande a été préparé avec un litre d'eau dans un ballon de 2,5 litres, surmonté d'une colonne de 60 cm de long, relié à un radiateur pour faire bouillir pendant 3 heures. Les vapeurs contenant l'huile essentielle se sont condensées au fur et à mesure de leur passage. A travers le tube de refroidissement et tombe directement dans un entonnoir de séparation où l'eau et l'huile sont séparées l'une de l'autre en raison de leurs densités différentes. L'huile est collectée dans des flacons et stockée à une température de 4 °C pour éviter d'éventuels phénomènes d'oxydation ou de contamination.

### **4.4. Extraction de l'huile essentielle de «*Lavandula dentata* L., 1753 »et «*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835 » par entraînement à la vapeur d'eau**

3kg et 4 kg du matériel végétal séché de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) et 6kg de (*Lavandula dentata* L., 1753) ont été soumises à l'entraînement à la vapeur d'eau pendant trois heures selon le protocole suivant:

- Mettez environ un tiers de l'eau dans l'appareil (1/3).
- Séparez l'eau de la plante séchée avec un grillage métallique.
- Placer la plante préalablement pesée.
- Fermez hermétiquement l'appareil.
- Mettez un brûleur à flamme sous l'appareil pour le faire bouillir.
- Prélevé et séparé de l'huile est conservée dans des flacons scellés. Les huiles essentielles extraite est prise à des moments précis : 5 minutes, 10 minutes, 30 minutes, une heure, deux heures, trois heures (cinétique des huiles essentielles).

## 4.5. Plan d'extraction



**Figure01 :** Les étapes d'extraction d'huile essentielle.

**4.6. Calcule du rendement** On peut définir le rendement en huile essentielle (RHE) comme le rapport entre la quantité d'huile essentielle extraite (M') et la quantité de matière végétale utilisée. On peut mesurer le rendement en pourcentage en utilisant la formule suivante :

$$\text{RHE}(\%) = \frac{M'}{M} \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme

## 4.7. Calcule de la densité

Sa valeur est cruciale, car elle permet d'avoir une idée de la composition chimique de l'huile essentielle. L'expression suivante donne la densité.

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

**m0** : la masse du flacon vide.

**m1** : la masse du flacon rempli d'eau distillée.

**m2** : la masse du flacon rempli d'HE.

### 5. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE

Afin de démontrer l'efficacité antibactérienne de *Salvia rosmarinus* et *Lavandula dentata* L, nous avons employé la technique de diffusion sur disques et la technique de dilution avec trois souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922.

#### 5.1. Méthode de diffusion sur disque (l'aromatogramme)

L'activité antibactérienne a été mise en évidence par la méthode de diffusion appelée aussi méthode de Vincent mise au point par Schroeder et Messing en 1949 et cité par (Rhayour, 2002). On prépare une suspension bactérienne avec de l'eau physiologique (Na Cl) pour chaque souche antibactérienne pendant 18 à 24 heures. On inocule des boîtes de Pétri contenant la gélose de Mueller Hinton. Six disques de papier filtre (Whatman n° 5) stériles de 6 mm de diamètre sont placés à la surface de chaque boîte, puis ils sont imbibés de 10 µl de différentes concentrations d'huile essentielle supplémentée de DMSO (HE, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et DMSO). Il est incubé pendant 24 heures à une température de 37 °C. On appelle cette méthode **l'aromatogramme**. Si l'huile essentielle inhibe le développement microbien, une zone ou un halo clair apparaît autour du disque après 24 heures d'incubation. Il existe une concurrence entre la croissance de la bactérie et la diffusion du produit à tester dans la technique de diffusion. (BELKHIRI, 2015).

#### 5.2. Ré-isolement des souches bactériennes

Les souches bactériennes ont été prélevées etensemencées selon la méthode des stries sur une boîte de Pétri coulée avec une gélose nutritive. Ensuite, elles ont été incubées pendant 18 à 24 heures à une température de 37 °C, afin d'obtenir des souches pures et jeunes.

#### 5.3. Préparation du milieu de culture

La préparation de la gélose milieu Mueller-Hinton consiste à dissoudre 39 g de poudre de gélose dans 500 ml d'eau distillée dans un récipient placé sur une plaque chauffante. Les flacons contenant la gélose dissolue sont ensuite placés dans l'autoclave à une température de 120 °C pendant 20 minutes, puis conservés dans le réfrigérateur à une température de 4 °C avant d'être utilisés dans le milieu Mueller-Hinton. Elle est chauffée dans un bain-marie à une température de 95 C et versée dans une boîte de pétrie sur une épaisseur de 3 mm (environ 10 ml par boîte). Les géloses sont pré-séchées avant d'être utilisées (BELKHIRI, 2015).

#### 5.4. Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture de 18 heures, on racle 3 colonies bien isolées et, puis on les décharge dans de l'eau physiologique stérile pour préparer l'inoculum. Ensuite, on homogénéise la suspension bactérienne en utilisant un vortex et on ajuste sa turbidité à 0,5 Mc Farland, ce qui correspond à une densité optique de 0,08 à 0,10. (FETTAH, 2019).

### 5.5. L'ensemencement

On ensemence des boîtes de pétri stériles, préalablement coulées, en les étalant avec un râteau stérile. Le processus d'ensemencement est conçu de manière à garantir une répartition homogène des bactéries. En utilisant une pince stérile, on dépose les disques de papier filtre contenant les produits à tester à la surface de la gélose préalablement inoculée. Le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 heures d'incubation à 37 °C est utilisé pour évaluer l'activité antibactérienne. On dilue les extraits préparés dans le DMSO. Ce choix a été réalisé, car ce solvant est recommandé par la plupart des auteurs qui ont démontré qu'il n'a aucun effet antibactérien puissant. (FETTAH, 2019).

### 5.6. Préparation des dilutions de l'HE

On prépare 4 tubes en verre stériles (1/2, 1/4, 1/8, 1/16) ; le premier contient 500 µl de DMSO et 500 µl de diluant (DMSO). On ajoute dans le deuxième tube (1/4) 500 µl du premier tube (1/2) et 500 µl DMSO, agite bien. Le procédé est répété jusqu'à ce que nous ayons terminé.

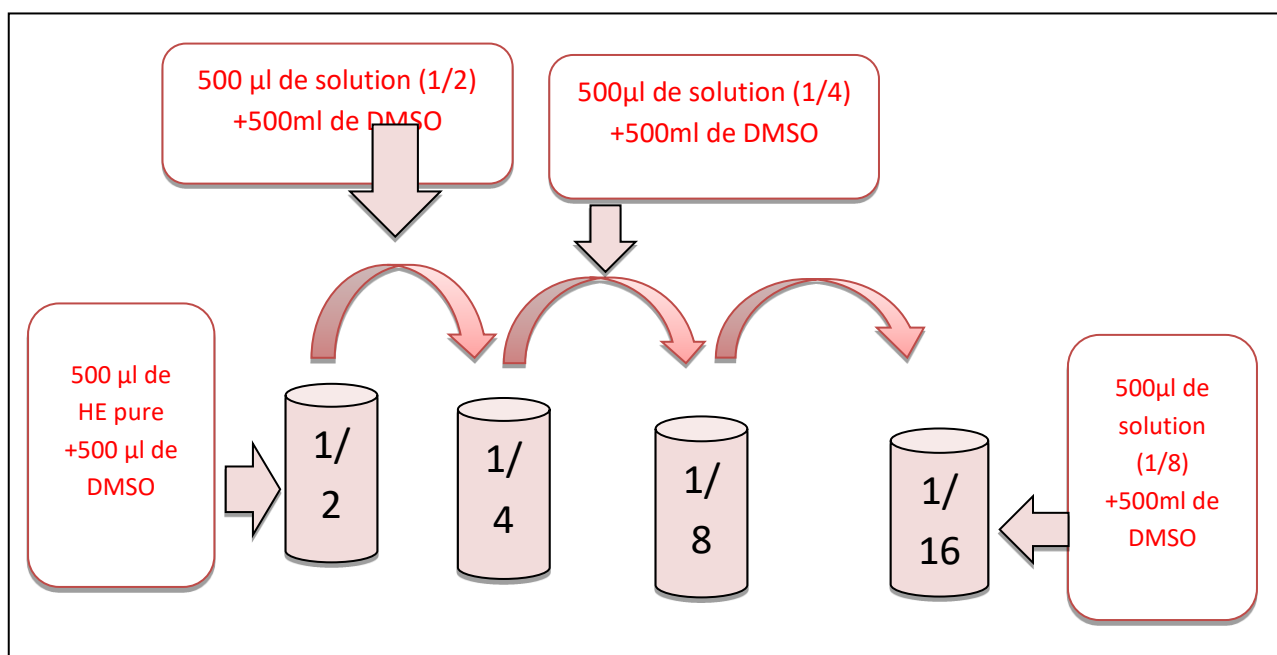


Figure 02 : Préparation des dilutions.

### 5.7. Préparation des disques

Le papier de Whatman a été coupé en morceaux de 6mm Ces morceaux doivent présenter un contour régulier afin de créer une zone d'inhibition facilement mesurable. Ces morceaux sont stérilisés dans un autoclave pendant 20 minutes à une température de 120°C (BELKHIRI, 2015).

### 5.8. Application des disques

Il est nécessaire d'utiliser une pince pour fixer 6 disques dans la boîte. En utilisant une micropipette, on remplit chaque disque avec 10 µl d'extrait. Les cinq premiers disques contiennent les dilutions (1/1,1/2,1/4,1/8,1/16) tandis que le sixième disque contient l'huile pure. Et le septième disque pour DMSO est placé dans une autre boîte de Pétri.

### 5.9. Lecture de l'aromatogramme

L'activité microbienne est indiquée par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque contenant le contenu à mesurer. Les résultats de cette opération sont représentés par le diamètre de la zone de restriction et peuvent être comparés à une croix. Diamètre du trou

- $D < 0.8\text{cm}$  ou  $8\text{mm}$  : Souches résistante (-).
- $0.99\text{cm} \leq D \leq 1.4\text{cm}$  ou  $9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$  : Souches sensible (+).
- $1.5\text{cm} \leq D \leq 1.9\text{cm}$  ou :  $15\text{mm} \leq D \leq 19\text{mm}$  Souches très sensible (++)
- $D > 2\text{ cm}$  ou  $D > 20\text{mm}$  : Souches extrêmes sensible (+++)

Évaluer de manière précise les diamètres des zones d'inhibition situées à l'extérieur de la boîte fermée. Les bactéries sont classées dans l'une des catégories suivantes : Sensible ou résistante (FERTOUT, 2016).

***RESULTATS ET  
DISCUSSIONS***

### 1. Caractéristiques organoleptiques

L'huile essentielle de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835), extraites par deux techniques: l'hydrodistillation et entrainement à la vapeur d'eau, a permis de l'obtention d'huiles caractérisées par une odeur vivifiante aromatique puissante et camphrée, une couleur jaunâtre (Oued El Arab) et jaune claire (Assoul) et par une saveur amère. Tandis que l'huile de la (*Lavandula dentata* L., 1753) est liquide de couleur jaune avec une odeur aromatique délicate très camphrée, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 03.

**Tableau03** : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) et (*Lavandula dentata* L., 1753).

	Aspect	Couleur	Odeur
L'AFNOR	Liquide mobile, Limpide	Presque incolore à jaune pâle	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine
Huile essentielle De Bouhmama	Liquide mobile	Jaune clair	Vivifiante, aromatique, puissante et camphrée
Huile essentielle de Kheirane	Liquide mobile	Jaunâtre	Vivifiante, aromatique, puissante et camphrée
Huile essentielle de Khenchela	Liquide	Jaune	Odeur très camphrée, Aromatique délicate.

Selon **BENNADJI et NASRI (2021)**. Les échantillons récoltés dans les deux sites ont été hydrodistillés, ce qui a permis d'obtenir des huiles qui se distinguent par leur odeur vivifiante et aromatique puissante, leur couleur jaunâtre (Oued El Arab) et jaune claire (Assoul), ainsi que leur saveur amère. Selon l'étude menée par **Hadjdjilani, et al., (2022)** la distillation à la vapeur d'eau de *Lavandula dentata* donne une huile essentielle liquide de couleur jaune avec une odeur aromatique délicate et très camphrée. D'après **AFNOR (2000)**, les huiles essentielles sont généralement liquides à température ambiante et volatiles, avec une coloration plus ou moins prononcée et une odeur très intense. Notre huile essentielle présente des paramètres organoleptiques conformes à ceux mentionnés dans les normes AFNOR.

### 1.1. Caractéristiques organoleptiques des H. de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835)

L'huile essentielle de romarin caractérisé par une odeur vivifiante aromatique puissante et camphrée, une couleur jaunâtre (Oued El Arab) et jaune claire (Assoul) et par une saveur amère (**Figure 03 et 04**).



**Figure03** : L'huile essentielle de (*Salvia rosmarinus* (Kheirane « Oued El Arab »).

**Figure04** :L'huile essentielle (*Salvia rosmarinus* (Bouhmama « Assoul »).

### 1.2. Caractéristiques organoleptiques des H. de (*Lavandula dentata* L., 1753)

L'HE de la lavande est d'aspect liquide de couleur jaune avec une odeur aromatique délicate très camphrée (**Figure05**).



**Figure 05** :L'huile essentielle de *Lavandula dentata* L

### 2. Tests chimiques

Les résultats des tests chimiques exposés dans le tableau 04 montrent la présence de toutes les substances bioactives testées.

**Tableau04** :Tests chimiques

<b>Principe actif</b>	<b>Résultats obtenu de Romarin (Bouhmama)</b>	<b>Résultats obtenu de Romarin (Kheirane)</b>	<b>Résultats obtenu de la lavande</b>
<b>Huile essentiel</b>	+	+	+
<b>Flavonoïdes</b>	+++	+++	++
<b>Tanins</b>	+++	+++	+++
<b>Saponosides</b>	+++	+++	++
<b>Stérolset terpènes</b>	++	++	++

Les résultats sont classé comme suit :

(+++) : Indique relativement une forte présence.

(++) : Indique relativement une moyenne présence.

(+) :Indique relativement une faible présence.

Ces tests phytochimiques facilitent l'estimation quantitative des composés chimiques pharmacologiquement actifs. Le dépistage dans cette présente étude a révélé la présence de la majorité des métabolites secondaires .Donc nos résultats de *Salvia rosmarinus* et de *Lavandula dentata* nous permettent de repérer la richesse de leurs extraits en flavonoïdes, tanins, saponosides, stérols et terpènes.

Nous résultats de *Salvia rosmarinus* est similaire avec les résultats trouvés par **Mosbah et Fattoum,(2024)** que montre leur réactions de flavonoïdes ,tannins et saponosides sont notées positifs. **Zergui ,(2012)** montrent que la richesse de *Salvia rosmarinus* en flavonoïde ,Saponosides , tannins ,Alcaloïdes. D'un autre côté, il existe d'autres résultats qui contredisent nos résultats, comme **Tahar,(2013)** montre que les fleurs de *Salvia rosmarinus* possède un résultats négatifs avec le test stérols, flavonoïdes. Alors que les feuilles possède aussi un résultats négatifs avec les saponosides.

Nos résultats opposés à résultats de **Abdouni et Mahieddine ,(2017)** que montre *Lavandula dentata* L .possède un résultat négatif pour les flavonoïdes . Aussi **Bachiri et al. ,(2016)** montre que les flavonoïdes et saponosides sont notées négatives dans cette étude.

### 3. Les caractéristiques physico-chimiques de HES de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) et de (*Lavandula dentata* L., 1753)

Les caractéristiques physico-chimiques des HE de de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) et de (*Lavandula dentata* L., 1753).sont résumés dans le tableau 05.

**Tableau05** :Les caractéristiques physico-chimiques des HE de de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) et de (*Lavandula dentata* L., 1753) par les deux méthodes d'extractions.

Propriétés	valeur pratique		Référence
Rendement de (romarin de Bouhmama) (%)	0,75(%)	1,08(%)	0.5-2%
Rendementde (romarin de Kheirane) (%)	0,61(%)	1,18(%)	0.5-2%

Rendement de (la lavande Khenchela)(%)	0,67(%)	3,52(%)	0.5-2%
Densité de (romarin de Bouhmama) (g/cm)	0.901	0.903	0.905-0.921
Densité de (Romarin de Kheirane) (g/cm)	0.915	0.917	0.905-0.921
Densité de (La lavande de Khenchela) (g/cm)	0.90	0.91	0.90-0.92

### 3.1. Extraction et détermination du rendement

On détermine les rendements des HEs en utilisant des matières végétales sèches provenant des extrémités de feuilles et des fleurs des plantes étudiées. Il est possible d'expliquer la différence de rendement par la variabilité de la récolte dans les différentes régions, en raison de divers facteurs biotiques et abiotiques tels que le climat, le type de sol, l'âge, la diversité génétique de la plante, le moment de la collecte ou encore la méthode d'extraction de l'huile. (**Kassoussi et guidadou ,2022**).

Les rendements d'extraction des HEs de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) par la méthode d'hydrodistillation des régions de Bouhmama et Kheirane sont de (1,08%), (1,18%) respectivement ils sont supérieurs que rendement obtenu par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau avec (0,61%) et (0,75%) (**tableau 03**). Nos résultats sont inférieurs à ceux de (**Chaib,2017**) (2 %) et (**Boutabia et al, 2016**) (1,60%). Alors qu'ils sont supérieurs à ceux apportés par (**Bourita et Boubelli ,2017**) ; (0.6%). Il est possible d'expliquer la disparité des rendements par la variabilité de la récolte dans les différentes régions, en raison de divers facteurs biotiques et abiotiques tels que le climat, le type de sol, l'âge, la diversité génétique de la plante, le moment de la collecte ou encore la méthode d'extraction de l'huile (**Kassoussi et guidadou ,2022**). En comparant la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau notre rendement dans les deux régions est

supérieur à celui apporté par de (**Taleb-Toudert, 2015**) (0,2%). D'après une étude menée par (**souhiet al. 2017**) sur les feuilles de (*Lavandula dentata* L., 1753) dans le sud de la Tunisie, le rendement en huile essentielle extraite par hydrodistillation était de 1,02%. Une étude supplémentaire menée par (**Bachiri et al., 2016**) a été réalisée sur la partie aérienne de *Lavandula dentata* au Maroc, dont l'extraction par hydrodistillation a donné un rendement de 2,9%. Les rendements dans ces deux études sont supérieurs que notre rendement. Diverses conditions peuvent expliquer les fluctuations du rendement et du polymorphisme chimique des huiles essentielles, telles que l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte et le stade végétatif de la plante. De plus, la nature du sol, la période de récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction et la densité (**Bouaoune, et al., 2020**).

### 3.2. Densité

La densité est l'une des paramètres physiques utilisée lors de la classification des huiles essentielles. Les résultats de densité de nos huiles essentielles (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) et (*Lavandula dentata* L., 1753) sont respectivement (romarin de Bouhmama) 0.901 et 0.903 (g/cm) ; (Romarin de Kheirane) 0.915 et 0.917 (g/cm) ; (La lavande de Khenchela) 0.90 et 0.91 (g/cm) (**tableau 5**).

Ces résultats sont conformes aux normes AFNOR (1999).

## 4. Pouvoir de l'activité antibactérienne

### 4.1. L'aromatogramme

L'activité antibactérienne des huiles obtenues est déterminée par la méthode de diffusion en milieu MH. Elle nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien contre trois bactéries de référence. Les souches bactériennes utilisées sont des souches de référence. (**FETTAH, 2019**). On peut estimer l'activité antibactérienne en mesurant le diamètre (mm) de la zone d'inhibition causée par les différentes concentrations autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. Chaque expérience est réalisée à trois reprises, simultanément et au même lieu. (**FETTAH, 2019**). En identifiant la zone d'inhibition, on peut évaluer la sensibilité ou la résistance de la souche bactérienne à l'égard des extraits prélevés. Si aucune colonie n'est observée dans la zone d'inhibition, l'extrait est bactéricide. En revanche, on parle de bactériostatique lorsqu'il y a quelques colonies, même en faible densité (**Nadjia, 2016**).

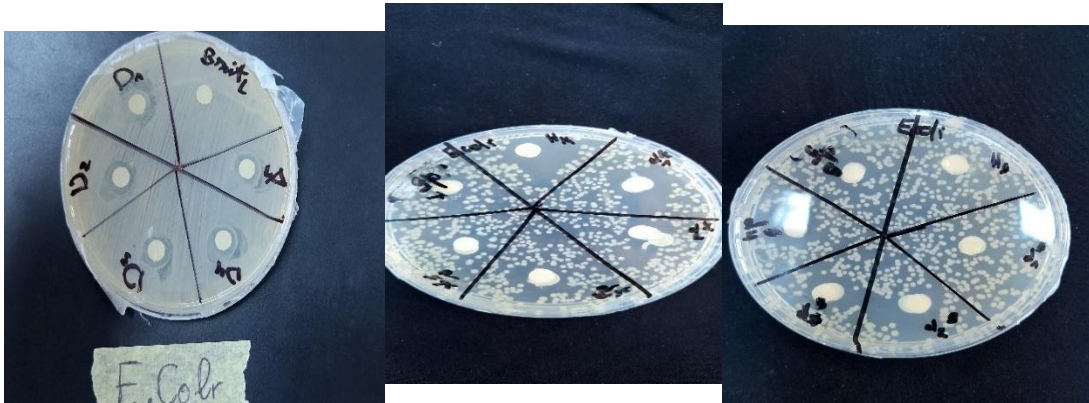


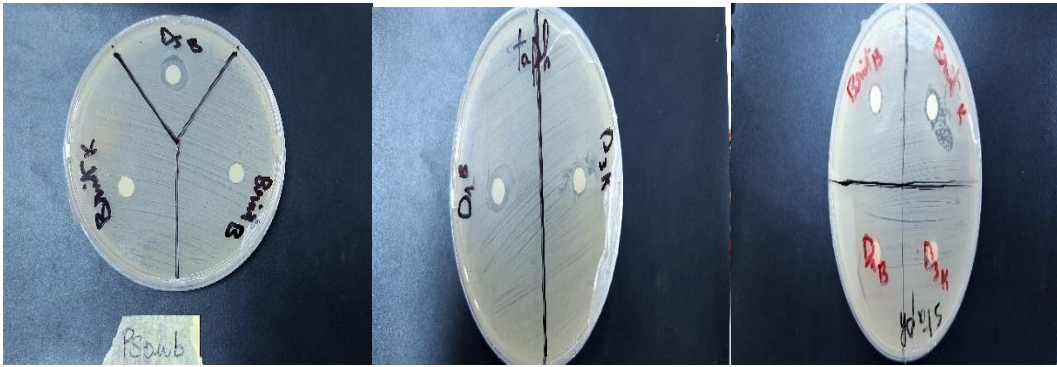
Figure06 : Les zones d'inhibition des huiles essentielles testée (*E. coli*).



Figure07 : Les zones d'inhibition des huiles essentielles testée (*Staphylococcus aureus*).



Figure08 : Les zones d'inhibition des huiles essentielles testée (*Pseudomonas aeruginosa*).

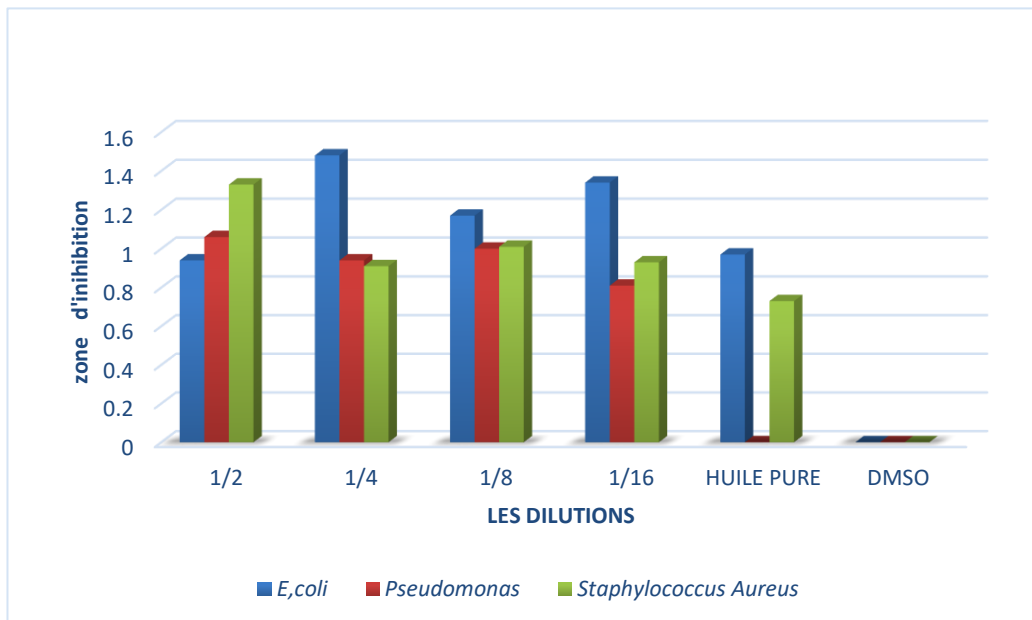


**Figure09 :** Les zones d'inhibition des huiles essentielles testée (les répétitions)

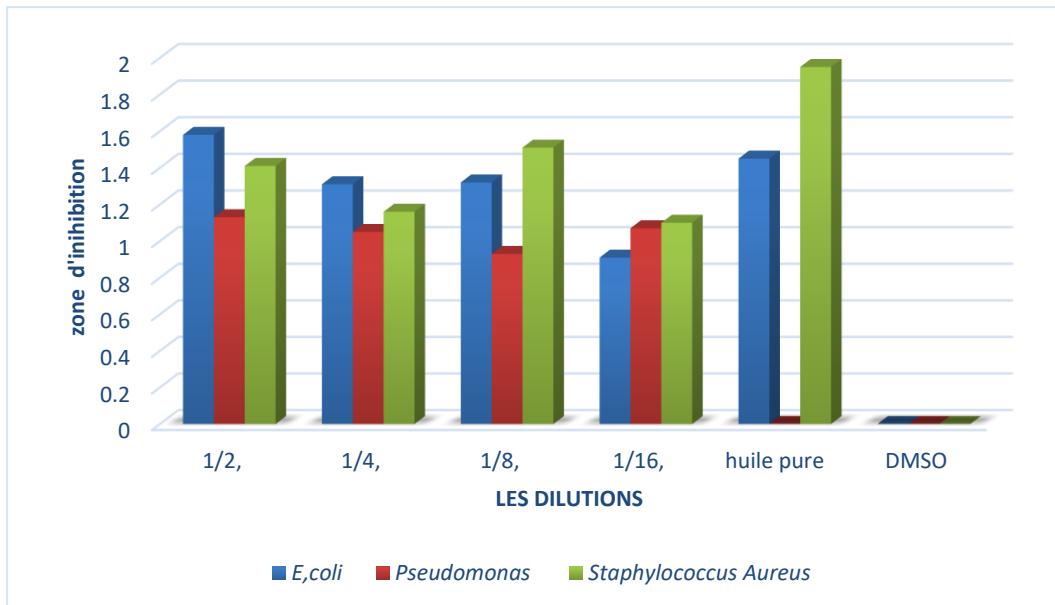


**Figure10 :** La zone d'inhibition de l'huile essentielle testée (DMSO)

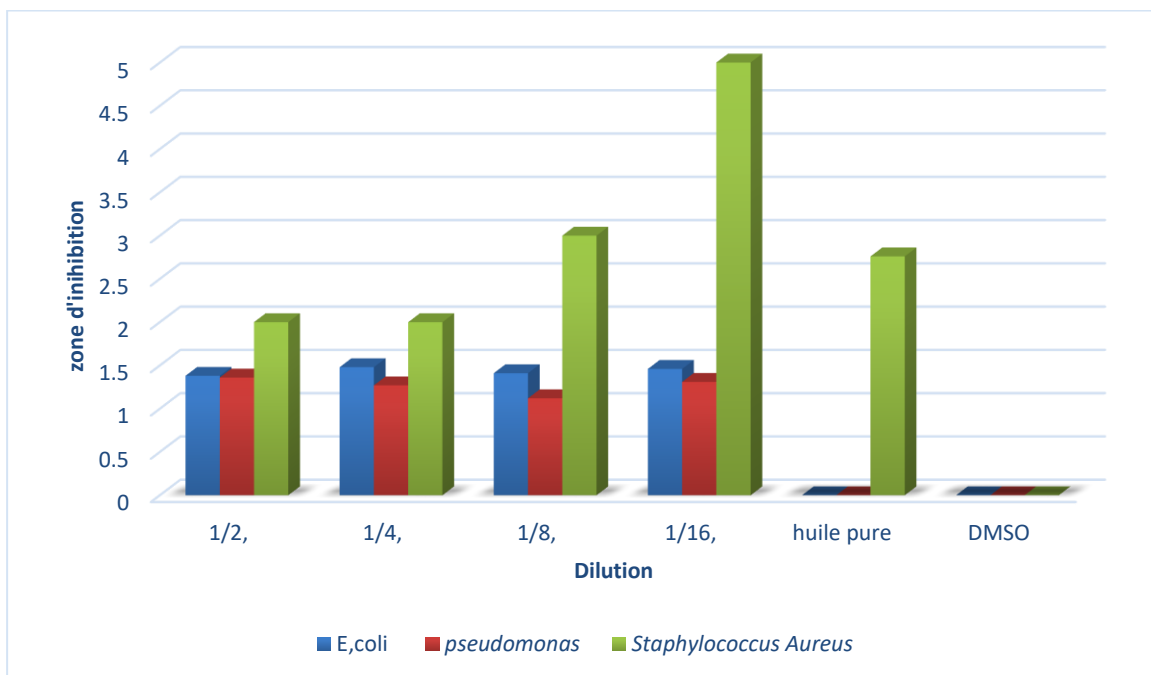
Les résultats obtenus après 24h d'incubation à l'étuve à 37 °C, sont rassemblés dans les histogrammes ci-dessous.



**Figure11 :** Histogramme présente les zones d'inhibitions pour toutes les souches bactériennes de HE de romarin de Bouhmama ».



**Figure12 :** Histogramme présent les zones d’inhibition pour toutes les souches bactéries de HE de romarin de Kheirane».



**Figure13 :** Histogramme présent les zones d’inhibition pour toutes les souches bactéries de HE de « la lavande».

l’HEsde (*Lavandula dentata* L., 1753) et (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) de Kheirane et de Bouhmama possèdent des activités antibactériennes différentes contre *E.coli* et *S.aureus* et *P.aeruginosa*. Donc la souche *staphylococcus aureus* et *E.coli* sont des souches sensibles à l’huile essentielle en trouve que la souche *S. aureus* est extrêmement sensible a l’HE de la lavande plus que la souche *E.coli* et *P.aeruginosa*. D’autre part, en trouve que la souche *S.aureus*

est plus sensible que la souche *E.coli* à l'HE de romarin de Kheirane et que *P.aeruginosa* est résistante. Mais dans l'HE de romarin de Bouhmama on trouve que la souche *E. coli* est plus sensible que *S. aureus* et *P. aeruginosa*. Le DMSO n'a aucune activité antibactérienne, donc une zone d'inhibition autour de disque imbibé par DMSO, est totalement absente. C'est le même pour l'HE pur dans les deux souches *E.coli* et *P.aeruginosa* de l'extrait de la lavande et la souche *P.aeruginosa* de romarin de Kheirane et de Bouhmama

**Tableau06** : Résultats de la sensibilité des bactéries

HE Souches Bactériennes	HE (romarin Bouhmama)	HE (romarin Kheirane)	HE ( la lavandeKhenchela)
<i>Escherichia Coli</i>	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+++
<i>Pseudomonas</i>	+	+	+

### 4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été évaluée, pour trois souches bactériennes de référence *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 2592) et *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). D'après les résultats de l'aromatogramme, il a été démontré que les huiles essentielles de (*Salvia rosmarinus* Spenn., 1835) et (*Lavandula dentata* L., 1753), ont des activités antibactériennes contre les micro-organismes choisis. Cependant, il est important de souligner que la sensibilité des souches testées diffère en fonction des dilutions. Les *S. aureus* et *E.coli* sont les bactéries les plus sensibles aux extraits du romarin de la région de Kheirane dont la zone d'inhibition était 19,51mm et 14,1mm successivement et pour Bouhmama 7,35 mm et 9,75mm. Dans une étude menée par **Boutabia et al.,(2016)** ils ont trouvé que l'effet de l'huile pure de romarin sur les souches bactériennes, a donné des résultats, dans lesquelles les

huiles essentielles des deux région Youkous et Ammacha ont inhibés la croissance de deux souches, dans la région de Ammacha ils ont trouvé 18,1mm et 16,8mm avec respectivement *S. aureus* et *E.coli* et ce sont des diamètres inférieure sa ceux de notre site d'étude kheirane, et dans la région de Youkous ils ont trouvé 17,1mm et 17,2mm avec respectivement *S. aureus* et *E.coli*, et ce sont des diamètres supérieurs a ceux de notre site d'étude Bouhmama. Par ailleurs, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la lavande dentée a montré un effet antibactérien important contre les trois souches testées avec une efficacité impressionnante vis-à-vis de la bactérie Gram (+) *S.aureus* avec 27,64mm de diamètre. Selon **Bachiri et al.,(2016)** ont montré que les huiles essentielles ont un effet puissant, notamment celle de *L. dentata* sur *staphylococcus aureus*, avec un diamètre d'inhibition allant jusqu'à 30 mm c'est plus que ce que nous avons. Et dans une autre étude de **Bachiri et al., (2017)** montrent que au Maroc l'huile essentielle de *L. dentata* a montré une forte activité antibactérienne contre les souches étudiées, notamment contre *S. aureus* avec 13,07 mm ce qui est moins que notre résultat. Nous avons opté pour le diméthylsulfoxyde (DMSO), un composé couramment employé dans les recherches en microbiologie.

Il a été soumis à un test préliminaire afin de déterminer leur impact sur l'huile essentielle et les souches microbiennes testées. Il s'est révélé inoffensif pour les microorganismes et ne perturberait donc pas la lecture des résultats, et de plus, il n'a pas provoqué de cristallisation ou de décomposition de l'huile essentielle. Les huiles essentielles agissent principalement en fonction de la structure de la paroi et de la perméabilité membranaire des bactéries. La propriété hydrophobe de l'huile essentielle permet à l'huile essentielle d'interférer avec la bicouche lipidique de la bactérie, ce qui entraîne : une augmentation de la perméabilité puis la perte des composants cellulaires; une acidification de l'intérieur de la bactérie, entravant la production d'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure; la destruction du matériel génétique, ce qui entraîne la mort de la bactérie. D'un autre côté, les bactéries Gram- présentent une plus grande résistance que les Gram+, ce qui s'explique par les variations structurales de leurs membranes externes (**Boutabia et al., 2016**)

# *Conclusion*

### Conclusion

Le présent travail est consacré à l'activité antibactériennes des huiles essentielles détermination et la comparaison des rendements, et des propriétés essentielles extraites des plantes *Salvia rosmarinus* Spenn., 1835, et *Lavandula dentata* L., 1753 par deux méthodes d'extraction ; sur trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*).

Les rendements de l'extraction des huiles essentielles de (*Lavandula dentata*) par deux méthodes sont respectivement 3.52% et 0.67%. L'huile obtenue est d'une couleur jaune clair, d'odeur caractérisée par un aspect limpide et une saveur piquante.

Quant aux huiles essentielles des deux plantes de (*Salvia rosmarinus*) des deux régions, nous avons obtenu les rendements suivants : 1.18% pour le romarin de la région de Kheirane » et 1.08 pour le romarin de la région de Bouhmama » par la méthode D'hydrodistillation, Tandis quels rendements que nous avons obtenu par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau sont (0,61%) et (0,75%) respectivement, ces huiles sont de couleurs jaunes verdâtres, et d'odeurs caractérisées par des aspects limpides et des saveurs douces. En ce qui concerne l'étude de l'activité antibactérienne, les résultats obtenus ont montré un effet antibactérien intéressant de l'huile essentielle de la lavande contre toutes les souches testées avec des zones d'inhibition allant de 11.26 mm à 23.21 mm. Le criblage phytochimique indique la richesse des feuilles en métabolites secondaires caractérisé par des réactions colorées qui a montré la présence d'une grande abondance des saponosides, flavonoïdes, tanins, stérols et terpènes.

Tandis que l'huile essentielle du romarin a démontré son effet antibactérien sur les souches, soit *Staphylococcus aureus*, soit *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres d'inhibitions faibles comprises entre 8,18 et 19,51 mm par rapport à la lavande.

La base de résultats trouvés on peut prédire que nos huiles essentielles peuvent servir comme base de lutte biologique .Ce qui nous encourage à souhaiter, dans un avenir proche, compléter les autres activités biologiques (activité antioxydante , antifongique, anti-inflammatoire ,Activité antivirale ,Activité ovicide,...) des plantes locales en Algérie et hors d'Algérie, ainsi que soumettre HEs à la technique de chromatographie en phase gazeuse (CG) et extraire L'HEs en utilisant plusieurs autres méthodes pour les comparer en termes de rendement , densité, PH...

*Références*

*Bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Abdouni F, Mahieddine M ., 2017 .Etude phytochimique et évaluation de quelques activités biologiques de deux plantes de la famille des lamiacées : *Lavandula dentata* L. et *Mentharotundifolia* L. Mémoire de master. Université Saad Dahlab .blida.P73.
- AFNORNF T 75-006,(2000). huile essentielle. Association française de normalisation. Paris. pp559-563.
- Aoues, L., Sedira, N. (2023). Etude de l'activité antioxydant de l'huile essentielle de la plante: *Lavandula angeustifolia* L. Mémoire master, Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi–Tébessa.p46-49.
- Atik Bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb Bendiab, S. A., Boti, J. B., & Casanova, J.(2007).Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. Poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé, 7(1), 6- 11.
- Bachiri, L., Echchegadda, GH., Ibjibijen, J., et Nassiri, L., « Etude Phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de lavande autochtones au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.»European Scientific Journal, V.12(30),( 2016), 313333.
- Bennadji, Y., Nasri, M. (2021). Valorisation et identification des substances bioactives du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.).Mémoires Master, Université Abbes Laghrour–Khenchela-.
- Boris. M. K. D. & Nasse. F. N. & Henri .G. D. & Leonel W. N. & Harry S. S. Julius .K. T. (2022). Extraction et Caractérisation des Huiles Essentielles de Trois Plantes Aromatiques Cultivées à l'Ouest-Cameroun : *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* et *Cymbopogon citratus*. 2, 121-133.p125.
- Bouaoune, F., Bouguetof, R., Rahmani, I. (2020). Etude de rendement et caractères Organoleptiques de l'huile essentielle d'une plante a activité anti microbienne importante *Rosmarinus off*. Mémoire Master, Université de Larbi Tébessi –Tébessa-.
- Bouhenni, R., C, Benslimane, C(2021). Evaluation d'activité antioxydante et Antibactérienne des huiles essentielles et d'hydrolat de la Sauge « *Salvia officinalis* Mémoire master, Université Ibn Khaldoun–Tiaret.
- Boukhatem, N. & Ferhat, A. & KAMELI A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature .9(2) : 1653-1659.

- Boutabia, L., et lailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., & amp ; Chefrou, A. (2016). Composition Chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 85, 174-189.
- Cavanagh, H.M.A. & amp; Wilkinson, J.M. (2002). Biological activities of lavender essential Oil. *Phytotherapy Research*, 16: 301-308.
- Chaib, M. (2017). Contribution à l'étude de l'effet de l'huile essentielle d'une plante Spontanée de la région de Tiaret (*Rosmarinus officinalis* L. 1753) dans la lutte contre un insecte des céréales en stocks (*Sitophilusoryzae* L. 1758) (Doctoral dissertation, université Ibn khaldoun-tiaret).
- Combrinck, S., Du Plooy, G. W., McCrindle, R. I., & amp; Botha, B. M. (2007). Morphology And histochemistry of the glandular trichomes of *Lippiascaberrima* (*Verbenaceae*). *Annals of botany*, 99(6), 1111-1119. doi:10.1093/aob/mcm064
- Dekiche, C., Benzaid, M.(2023). Activités biologiques des huiles essentielles de *Cupressus sempervirens*. Mémoire master, Université Tissemsilt.
- Fertout, N., Ali, L., Zoheir, M., Zohra, B. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Articles. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège [En ligne]*.
- Fettah, A. (2019). Étude Phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra, Thèse de doctorat. université Mohamed Khider Biskra.
- Hadjdilani, N., Hamrat, M., Michali, A. (2022). Caractérisation physicochimique des huiles Essentielles de *Lavandula dentata* et *Lavandula angustifolia* et évaluation de leur pouvoir Antioxydant. Mémoires Master, Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana.
- Kassoussi, D. Guidadou, F.Z. (2022). Activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante *Rosmarinus Officinalis*. Mémoire Master, Université Mohamed Khider de Biskra.
- Leitao GG. Leitao SG. Vilagag W. 2002. Quick preparative separation of natural Naphtopyranones with antioxidant activity by high-speed counter current Chromatography. *Z. Naturforsch. J.*, 57, 1051-1055.

- Madjour, S. (2014). Etude Phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *Rosmarinus officinalis*.
- Mosbah M, Fattoum S.,2014. Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux plantes médicinales *Rosmarinus officinalis* et *Cinnamomum zeylanicum*. Mémoire de master. Université 8 mai 1995 Guelma. P 39.
- Mughal, M. H. (2019). Linalool: A mechanistic treatise. Journal of Nutrition, Food Research and Technology, 2(1): 1-5.
- Saoudi, W., Toumi, M. (2020). Potentiel de valorisation de l'huile essentielle des plantes aromatiques et médicinales de la région de Bouira. Mémoires Master, université Akli mohandoulhadj-bouira.
- Souih, M., Bousnina, A. et Touati, B., « Caractérisation morphologique et chimique de Deux espèces de Lavande *Lavandula stoechas* L. Et *L. Dentata* L. en Tunisie », Annales L'INRAT, V.90, (2017), 124-137.
- Taleb-Toudert, K. (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien) : évaluation de leurs effets sur La bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Tahar K.,2013.Contribution à l'étude chimique du romarin(*Rosmarinus officinalis* L) Algérien. Mémoire de master. Université Moulay Tahar - Saida. P54-56.
- Younes, L., Mohamed, S, K. (2016). Activité antibactérienne de L'extrait phénolique de *Phoenix. Dactylifera* L, de huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L et de L'acide acétique sur deux souches de *Pseudomonas*, Mémoire master .université mouloud mammeri de Tizi-Ouzou.
- Zergui A .,2012.Etude pharmaco-toxicologique de l'extrait aqueux de romarin (*Rosmarinus officinalis*). Mémoire de master. Université « Saad Dahleb» , Blida. P 31