



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED
كلية علوم الطبيعة و الحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences
biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

**Extraction et Caractérisation des huiles essentielles à partir de
Cymbopogon schoenanthus dans la région de Ghardaïa**

Présentés Par :

M^{elle} BEN NADJI Safa

M^{elle} BOUZGAG Chahrazad

Devant le jury composé de :

- Président : M^{elle} ZAIME Sihem M.A.A, Université d'El Oued.
- Examineur : M^{elle} KADRI Mounira M.A.A, Université d'El Oued
- Promoteur : M^{me} MAHBOUB Nasma. M.A.B, Université d'El Oued.

Année universitaire 2017/2018-

Remerciements



Nous tenons à remercier en premier lieu « Allah » le tout puissant miséricordieux de m'avoir donné le courage et la confiance ainsi que la volonté pour préparer ce travail.

*Mes remerciements s'adressent d'abord, à notre promotrice, **M^{me} MAHBOUB Nasma**, maître de conférences **B** à l'Université Echahid Hamma-Lakhdar El-oued, pour ses conseils chaleureux, son soutien et son encadrement afin de réaliser ce modeste travail.*

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury qui ont bien voulu accepter d'examiner notre travail :

***M^{lle} ZAIME Sihem**, maître assistant **A** à l'Université Echahid Hamma-Lakhdar El-oued. Vous nos faites le grand honneur de présider ce jury. Nous vous prie de bien vouloir recevoir le témoignage de nos profonds respects.*

***M^{lle} KADRI Mounira**, maître assistant **A** à l'Université Echahid Hamma-Lakhdar El-oued. Nous vous remercions de nos honorer par votre présence en tant qu'examinatrice et pour avoir acceptée d'évaluer ce mémoire.*

Nous remercions tout le personnel du laboratoire d'université Echahid Hamma-Lakhdar El-oued, et aussi nous tenons à remercier l'équipe de laboratoire ECHIHABI d'El-Oued.

Nos remerciements vont également à tous les enseignants et tous les responsables de la faculté de sciences de la nature et de la vie.

Et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.

Chahrazad et Safa



Dédicace

Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de m'avoir guidé vers le droit chemin, de m'avoir aidé tout long de mes années d'étude, il m'a donné la force, les moyens et le courage pour terminer ce travail.

Tout d'abord je dédie ce travail à:

*mes très chers parents **Houssin** et ma mère **Ben harrath Salima** qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, pour le courage et le sacrifice qu'ils ont consentes pendant la durée de mes études en leurs souhaitant une longue vie pleine de joie. et de santé*

*A ma chère et seule sœur **El-hadja***

A mon frère Mohammed Ali

*A mon petit frère **Djebril***

A tous ma famille.

A mes amis «Wafa» et «Houda» pour leur solidarité envers moi. Et tout autre amis qui j'aime.

Chahrazad

Dédicace

Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de m'avoir guidé vers le droit chemin, de m'avoir aidé tout long de mes années d'étude,

il m'a

donné la force, les moyens et le courage pour terminer ce travail.

Tout d'abord je dédie ce travail à:

*mes très chers parents **Belguecem** et ma mère **SOUISSI Latra***

qui a œuvré pour ma

réussite, de par son amour, son soutien, pour le courage et le sacrifice

qu'ils ont consentes pendant la durée de mes études en leurs

souhaitant une longue vie pleine de joie. et de santé

A tous ma famille

Et la famille Arrigue.

Safa



Résumé

Résumé

Ce travail vise à réaliser une extraction des huiles essentielles de plante *Cymbopogon schoenanthus* et contribuer à étudier leurs paramètres physico-chimiques dont une identification des propriétés organoleptiques, mesure de pH, mesure de densité, indice de réfraction et miscibilité à l'éthanol d'une part. Et d'autre part, la mesure de l'indice d'acide, d'ester et indice d'iode. Par ailleurs, l'étude de l'activité biologique consacré à l'activité antioxydante en utilisant DPPH[•] et l'activité antibactérienne afin de savoir l'efficacité des l'huile essentielles sur certaines souches bactériennes pathogènes, telles que *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Salmonella enterica* CIP 81-3 et *Listeria innocua* CLIP 74915. Le rendement d'extraction d'huile essentielle est d'environ à 2% et possède une aspect liquide, couleur Jaune blanche et odeur rosée. Par ailleurs, les propriétés physique, on trouve le pH égale 7.4, la densité estimée à 0.8575, indice de réfraction est 1.482, et la miscibilité à l'éthanol estimée à 1V/3.2. C'est-à-dire nos H.E est basique, et soluble. Concernant, les analyses chimiques on trouve que l'indice d'acide estimée est 1.12, indice d'ester est égale 12.9, indice d'iode estimée à 0.14 et indice de saponification est égale 14.25. Ce qui conduit que les H.E possède une faible quantité d'acides libres avec un indice d'ester faible. Les résultats de l'activité antioxydante de nos huiles par l'utilisation du test DPPH[•], confirment que la valeur de IC₅₀ d'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* estimée égale 13.79 mg/ml et 0.03 mg/ml pour l'acide ascorbique. Nous concluons que l'activité antioxydante de l'acide ascorbique est beaucoup plus forte que l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*. Egalement pour l'activité antibactérienne, l'huile essentielle analysés influe sur l'inhibition vis à vis toutes les souches bactériennes utilisées à la concentration 100% et le maximum effet inhibiteur était 17.2 mm (zone d'inhibition) contre la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* 27853 (Gram-négatif).

Mots clés: *Cymbopogon schoenanthus*, huiles essentielles, Caractères physico-chimique, l'activité anti oxidante, l'activité anti bactérienne.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى استخراج الزيت الأساسي لنبات اللباد *Cymbopogon schoenanthus* ودراسة خصائصه الفيزيائية والكيميائية ، بما في ذلك تحديد الخصائص الحسية ، وقياس درجة الحموضة ، وقياس الكثافة ، ومؤشر الانكسار ، وامتزاج الإيثانول. ومن ناحية أخرى قياس مؤشر الحمض و مؤشر الاسترة واليود. اما بخصوص الدراسة البيولوجية فتمحورت حول ، دراسة النشاطية المضادة للأكسدة باستخدام DPPH• والنشاطية المضادة للبكتيريا من أجل معرفة مدى فعالية الزيت الاساسي على بعض السلالات البكتيرية الممرضة ، مثل *Escherichia coli* ATCC 25922 ، *Pseudomonas aeruginosa* 27853 ، *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ، *Salmonella enterica* CIP 81-3 ، *Listeria innocua* CLIP 74915. قدر مردود الزيت الاساسي حوالي 2٪. ومن خلال الخصائص الحسية نجد ان هذا الزيت الاساسي يملك مظهر سائل ولون أصفر ورائحة عطرية. اما بالنسبة للخصائص الفيزيائية ، نجد أن نسبة الحموضة تساوي 7.4 ، والكثافة قدرت بـ 0.8575 ، ومؤشر الانكسار هو 1.482 ، والقدرة على الامتزاج مع الإيثانول قدرت بـ 1 / 3.2. و منه فان هذا الزيت الاساسي قاعدي و قابل للذوبان. فيما يتعلق بالتحليل الكيميائي وجدنا أن مؤشر الحمض قدر بـ 1.12 ، و مؤشر الاسترة يساوي 12.9 ، و مؤشر اليود بـ 0.14 ، ومؤشر التصبن يساوي 14.25. هذا يؤدي إلى حقيقة أن الزيت الاساسي لنبات اللباد لديه كمية صغيرة من الأحماض الحرة مع انخفاض مؤشر الاسترة. اما نتائج النشاطية المضادة للأكسدة ، تؤكد أن قيمة IC₅₀ للزيت الاساسي قدرت بـ 13.79 mg / ml و بالنسبة لحمض الاسكوريك قدرت بـ 0.03 mg / ml. نستنتج أن النشاط المضاد للأكسدة لحمض الاسكوريك أقوى بكثير من النشاط المضاد للأكسدة للزيت الاساسي لنبات اللباد. اما بالنسبة للنشاطية المضادة للبكتيريا ، وجدنا ان هذا الزيت الأساسي الذي تم تحليله يقوم بتثبيط جميع السلالات البكتيرية المستخدمة عند التركيز 100٪ وكان التأثير المثبط الأقصى 17.2 مم (منطقة تثبيط) ضد السلالة البكتيرية *Pseudomonas aeruginosa*. 27853 (سالبة الجرام).

الكلمات المفتاحية: *Cymbopogon schoenanthus* ، الزيوت الأساسية ، الخصائص

الفيزيوكيميائية الفعالية المضادة للبكتيريا ، الفعالية المضادة للأكسدة.

Abstract

This work is aimed at extracting the essential oils of *Cymbopogon schoenanthus* plant and help to study their physicochemical parameters, including an identification of organoleptic properties, pH measurement, density measurement, refractive index and ethanol miscibility share. And on the other hand, measuring the acid, ester and iodine number. Furthermore, the study of biological activity devoted to antioxidant activity using DPPH• and antibacterial activity in order to know the effectiveness of essential oil on certain pathogenic bacterial strains, such as *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Salmonella enterica* CIP 81-3 and *Listeria innocua* CLIP 74915. The extraction yield of essential oil is about 2% and has a liquid appearance, color Yellow and pinkish odor. Moreover, the physical properties, we find the pH equal to 7.4, the density estimated at 0.8575, refractive index is 1.482, and the miscibility with ethanol estimated at 1V / 3.2. That is, our H.E is basic, and soluble. Regarding, the chemical analyzes we find that the estimated acid value is 1.12, ester index is equal to 12.9, iodine number estimated at 0.14 and saponification index is equal to 14.25. This leads to the fact that H.E has a small amount of free acids with a low ester number. The results of the antioxidant activity of our oils by the use of the DPPH• test, confirm that the IC₅₀ value of essential oil of *Cymbopogon schoenanthus* estimated equal 13.79 mg / ml and 0.03 mg / ml for ascorbic acid. We conclude that the antioxidant activity of ascorbic acid is much stronger than the essential oil of *Cymbopogon schoenanthus*. Also for the antibacterial activity, the essential oil analyzed influences the inhibition against all the bacterial strains used at the concentration 100% and the maximum inhibitory effect was 17.2 mm (zone of inhibition) against the bacterial strain *Pseudomonas aeruginosa* 27853 (Gram-negative).

Key words: *Cymbopogon schoenanthus*, essential oils, antioxidant activity biological activity, anti bacterial activity, Physico-chemical characters.

Liste des abréviations

A : acide ascorbique

ADN : acide désoxy ribo nucleotide

A.F.N.O.R. : Association Française de Normalisation

AMP : Ampicilline

ARN : acide ribo nucléique

ATB : antibiotique

ATP : adenine tri phosphate

ATCC : American type culture collection

[C]% : Pourcentage de concentration

°C : Degré Celsius

CFM : Céfixime

Cm : Centimètre

CPG-SM : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse

DMSO : Dimethyl sulfoxide

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

g : Gramme

Gen : Gentamicine

h : Heure

H.Es : Huiles essentielles

Ia : indice d'acide

IC50 : Concentration à 50% de DPPH perdu

mg : Milligramme

mm : millimètre

µg : Microgramme

µm : Micromètre

N : Normalité

OMS: Organisation Mondial de santé

pH : Potentiel hydrogénique

R(%) : pourcentage du rendement des huiles essentielles

R²: Coefficient de corrélation

V : Volume

Liste des Figures

N° =	Titre	Page
Figure 01	Provenance des HEs en fonction des différents partie de plantes (AFNOR, 1996)	13
Figure 02	Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des H.E.	14
Figure 03	Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des H.E.	15
Figure 04	Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des H.E.	15
Figure 05	Exemple de biosynthèse des dérivés du phénylpropane	18
Figure 06	Quelques produits cosmétiques (Samadia, 2009)	23
Figure 07	Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (Milbury et Richer, 2008).	24
Figure 08	Schéma de transformation du DPPH de sa forme active (Violet) à celle inactive (Jaune) (Villano et al., 2007).	25
Figure 09	Plan générale de la partie expérimentale	30
Figure 10	Les étapes d'extraction de huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	35
Figure 11	Réduction du radical libre DPPH (Molyneux, 2004)	41
Figure 12	Courbe d'étalonnage de DDPH de H.Es	52
Figure 13	Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique	52
Figure 14	Valeur de IC50 de l'acide ascorbique et H.Es	53
Figure 15	Zones d'inhibition (en mm) des souches bactériennes testées en fonction de déférentes concentrations d'huile essentielle	55
Figure 16	Les zones des inhibitions des bactéries à une concentration pure.	58
Figure 17	Test de corrélation de H.E de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> vis-à-vis la souche <i>Escherchia.coli</i> .	61
Figure 18	Test de corrélation de H.E de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> vis-à-vis la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
Figure 19	Test de corrélation de H.E de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> vis à vis la souche <i>Salmonella enterica ssp. Arizonae</i>	62
Figure 20	Test de corrélation de H.E de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> vis à vis la <i>Klebsiella pneumoniae</i>	62
Figure 21	Test de corrélation de H.E de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> vis à vis la souche <i>Listeria innocua</i>	63

Liste des Tableaux

N° =	Titre	Page
Tableau 01	Description botanique, propriétés et usage thérapeutique de plante étudiée	32
Tableau 02	Protocole de préparation des échantillons	35
Tableau 03	Les souches bactériennes utilisées	42
Tableau 04	Rendement des H.Es obtenus par hydrodistillation	48
Tableau 05	Propriétés organoleptiques de l'HE <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	49
Tableau 06	Caractéristiques physiques des H.Es puisées dans littérature	49
Tableau 07	propriétés chimiques d'essence étudiée	50
Tableau 08	Valeur de IC50 de DDPH et acide ascorbique	53
Tableau 09 :	Zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes gram (-) testés en fonction des différents concentrations d'HEs.	54
Tableau 10	Zones d'inhibition (mm) de souche bactérienne gram (+) testé en fonction des différents concentrations d'HEs.	55
Tableau 11	les valeurs des probabilités des souches bactériennes	58
Tableau 12	Zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes testées en fonction des différents ATB et DMSO.	59

Liste des Photos

N° =	Titre	Page
Photo 01	<i>Cymbopogon schoenanthus</i> (Oued metlili, région de Ghardaïa, Sahara septentrional Est Algérien) (Mahboub, 2018).	32
Photo 02	Aspect microscopique (×40) de <i>Escherichia coli</i> (SAHED, 2016)	42
Photo 03	Aspect microscopique (×40) de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Bouamer et Guerbati, 2008).	43
Photo 04	Aspect microscopique (×40) de <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>Arizonae</i> (Atba, 2016).	43
Photo 05	Aspect microscopique (×40) de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Torres, 2012).	44
Photo 06	Aspect microscopique (×40) de <i>Listeria innocua</i> (Bovil et al, 1994)	44
Photo 07	Zones d'inhibition de déférence concentrations de H.Es sur les souches bactériennes et les ATB et DMSO.	61

Sommaire

Remerciements.....
Dédicace.....
Résumé.....
Liste des abréviations
Liste des Figures
Liste des Tableaux
Liste des Photos.....
Sommaire.....
INTRODUCTION
Première Partie Synthèse Bibliographique

Chapitre I: Les plantes médicinales

I.1. Définition des plantes médicinales	3
I.2. Rôle des plantes médicinales en moderne	3
I.3. Mode de préparation	3
I.3.1. Infusion	3
I.3.2. Décoction	4
I.3.3. Macération	4
I.3.4. Extraits (liquides et solides).....	4
I.4. Les trois niveaux d'utilisation des plantes médicinales	4
I.4.1. A niveau traditionnel	4
I.4.2. A niveau pharmacologique	4
I.4.3. A niveau clinique	5
I.5. Les métabolites des plantes médicinales	5
I.5.1. Métabolites primaires	5
I.5.2. Métabolites secondaires	6
I.6. Toxicité des plantes médicinales	8
I.6. 1. Causes de toxicité des plantes.....	8

Chapitre II: Les huiles essentielles

II.1. Définition des huiles essentielles.....	11
II.2. Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante.....	12
II.3. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles	13

II.3.1. Caractéristiques physiques	13
II.3.2. Caractérisation chimique	14
II.4. Biosynthèse	17
II.4.1. Voie des Terpenoïdes	17
II.4.2. Voie des Phenylpropanoïdes	17
II.5. Fonction	18
II.6. Mode d'action des huiles essentielles.....	18
II.7. Effets physiques et physiologiques des huiles essentielles	20
II.7.1. Effets physiologiques	20
II.7.2. Effets physiques.....	20
II.8. Conservation des huiles essentielles.....	20
II.9. Toxicité des huiles essentielles.....	20
II.10. Propriétés des huiles essentielles.....	21
II.10.1. Rôle des huiles essentielles chez les plantes	21
II.10.2. Propriétés biologiques	21
II.11. Utilisation des huiles essentielles	22
II.11.1. La voie orale	22
II.11.2. La voie cutanée.....	22
II.11.3. En pharmacie	23
II.11.4. Parfumerie et cosmétologie	23
II.11.5. Phytothérapie	23
II.12. Activités biologiques des huiles essentielles.....	24
II.12.1. Activité antioxydante	24
II.12.2. Activité antibactérienne.....	27

Deuxième partie Partie expérimental

Chapitre I: Méthodologie de travail

I.1. Matériels	31
I.1.1. Principe d'étude	31
I.1.2. Matériel d'étude	32
I.1.2.1. Matériel végétal	32
- Position systématique	34
I.1.3. Matériels de laboratoire	34
I.2. Méthodes.....	35
I.2.1. Extraction des huiles essentielles.....	35
I.2.2. Détermination des indices physico-chimiques des H.Es extraites.....	37

I.2.2.1. Propriétés physiques	37
I.2.2.2. Propriétés chimiques.....	39
I.2.3. Activités biologiques	42
I.2.3.1. Activité antioxydante	42
- Piégeage du radical libre DPPH.....	42
I.2.3.2. Calcul des IC ₅₀	43
I.2.3.3. Activité antibactérienne	43
A. Support bactérien.....	43
B. Tests d'activités antimicrobiennes	46
B.1. Principe de l'antibiogramme	46

Chapitre II: Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction	50
II.2. Caractéristiques organoleptiques.....	50
II.3. Caractéristiques physico-chimiques	51
II.3.1. Propriétés physiques	51
II.3.2. Propriétés chimiques	52
II.4. Activités biologiques	53
II.4.1. Activité antioxydante.....	53
II.4.2. Activité antibactérienne.....	56

Conclusion	65
-------------------------	-----------

Références Bibliographiques
--	--------------

Annexes.....
---------------------	--------------

INTRODUCTION

Introduction

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (**Schauenberg et Paris, 2010**).

Après quelques siècles de domination de la synthèse chimique, la pharmacologie, mais aussi la nutrition et l'agroalimentaire redécouvrent les vertus des plantes dites médicinales, ce qui est le cas de toutes les plantes. Elles sont de plus en plus considérées comme source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Mais leurs usages traditionnels n'ont jamais disparus, bien au contraire. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en 2008, 80 % de la population mondiale repose sur la médecine traditionnelle pour leurs soins primaires (**Pierangeli et al., 2009**).

Dans le bagage chimique des plantes, les huiles essentielles, les alcaloïdes et autres composés phénoliques, représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. Les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux (**Bouzouita et al., 2008**).

Une huile essentielle est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage (**Bruneton, 2009**). Les végétaux riches en essences se trouvent surtout chez les Conifères, Myrtacées, Labiées, Ombellifères et Rutacées au niveau de différents organes de la plante (**Mautrait et Raoult, 1999**).

Définition selon la norme ISO 9235 Matières premières aromatiques d'origine naturelle –vocabulaire, ces huiles ont une activité biologique et thérapeutique aussi variée, par exemple les activités antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Svoboda et Hampson, 1999**).

L'activité des huiles volatiles réside dans les centaines de molécules chimiques qui la constituent comme les terpénoïdes. Ces derniers donnent à la plante son odeur, d'autres sont responsables du parfum (**Cowan, 1999**).

Le domaine d'application des huiles essentielles sont diversifiés malgré l'arrivée sur le marché des composés de synthèse ; c'est ainsi qu'elles trouvent de nombreuses applications dans l'industrie chimique et dans le domaine de l'agroalimentaire (condiments, épices, aromatisants,...) et l'aromathérapie (parfumerie, cosmétique et savonnerie) (**Petitjean, 1974**).

De nombreuses études ont montré que l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* a plusieurs utilisations dans le traitement, cosmétique alimentaire et autres et pour cela, nous voulions confirmer cela, donc est-ce que les caractères physico-chimiques de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* permettent-elle d'être utilisée dans les domaines mentionnés si-dessus? et si la valeur du rendement correspond aux résultats des études précédentes? est-ce que cette huile affecte la croissance des souches bactériennes? et inhibe-t-elle les radicaux libres?

Notre travail est divisé en deux parties : La première partie rassemble une synthèse bibliographique et qui est subdivisée en deux chapitres : le premier chapitre contient des généralités sur les plantes médicinales et leurs propriétés et leur utilisation d'un part et d'autre part généralités sur les huiles essentielles, leur composition chimique et leur application et les différentes méthodes d'extraction. Par ailleurs, une classification et une description botanique des différentes utilisations de la plante étudiées font l'objet du deuxième chapitre.

La deuxième partie est réservée au travail expérimental, à savoir, le matériel, les méthodes, les résultats et leur discussion et en fin on termine par une conclusion générale.

Première Partie
Synthèse Bibliographiques

Chapitre I

Les plantes médicinales

I.1. Définition des plantes médicinales

Une plante est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Elles sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (**Farnsworth *et al.*, 1986**). Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains, elles continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj *et al.*, 2007**).

I.2. Rôle des plantes médicinales en moderne

Les plantes médicinales n'ont pas pour vocation première à soigner mais bien à renforcer et fortifier l'organisme, elles sont donc très efficaces en prévention. Cependant en synergie elles pourraient être le remède de bien des maux, en stimulant le système immunitaire et en apportant aussi beaucoup de vitamines et minéraux nécessaires au bon fonctionnement de notre organisme (**Boukef, 1986**).

I.3. Mode de préparation

Le mode de préparation d'un produit phytothérapeutique peut avoir un effet sur la quantité du principe actif présent. Le moment et la saison de la récolte de la plante, ainsi que le type de sol où elle pousse, peuvent également influencer son efficacité. Pour produire une préparation, on commence généralement par mouliner les parties de la plante qui ont des propriétés médicinales. La matière végétale ainsi moulue est appelée macérat. Selon le type de plante et le procédé employé, le macérat peut être séché avant d'être moulu.

On trempe ensuite le macérat dans un liquide pour en extraire les principes actifs. Ce liquide est appelé solvant, et il existe plusieurs méthodes pour effectuer cette opération (**Rabah et Bahbah, 2016**).

I.3.1. Infusion

On fait une infusion en versant de l'eau bouillante ou presque bouillante sur le macérat séché. On peut laisser reposer l'infusion sous un couvercle de quelques minutes à plusieurs heures, selon la plante qu'on emploie et la force que l'on désire obtenir. L'infusion est probablement la meilleure façon de préparer un produit puissant lorsqu'on recherche un effet léger. Par exemple, on pourrait préparer ainsi un laxatif puissant à partir de plantes (**Saunders, 2005**).

I.3.2. Décoction

On fabrique les décoctions en mélangeant le macérat et le solvant à température ambiante. On chauffe ensuite lentement le mélange ou on le fait bouillir pendant un laps de temps variable. D'une part, on ne peut préparer de décoction lorsque la chaleur détruit les principes actifs. D'autre part, la chaleur peut accentuer les effets de certains ingrédients actifs. On ne peut passer servir de micro-ondes pour ce type de préparation (Saunders, 2005).

I.3.3. Macération

La chaleur détruisant les principes actifs certaines plantes, une macération à froid est parfois plus indiquée qu'une décoction (Iserin *et al.*, 2001). Cette méthode est particulièrement indiquées pour les plantes riches en huiles essentielles et permet de profiter pleinement des vitamines et minéraux qu'elles contiennent (Ddellile, 2013).

I.3.4. Extraits (liquides et solides)

Bien que les extraits soient semblables aux teintures, ils sont plus concentrés parce que l'alcool (ou l'autre solvant) est enlevé par distillation, une opération qui peut se faire à chaud ou à froid. Les extraits liquides ont été distillés jusqu'à ce que la plus grande partie de l'alcool ait disparu. Les extraits solides ont été distillés jusqu'à ce que tous les liquides aient disparu (Saunders, 2005).

I.4. Les trois niveaux d'utilisation des plantes médicinales

I.4.1. A niveau traditionnel

En milieu rural, le tradipraticien de santé récoltait ou faisait récolté les plantes médicinales pour chaque traitement en fonction du patient avec les rituels bien précis comme respect de la plante, quantité limitée, utilisation immédiate et pas de problème de conservation (Sanogo, 2006).

I.4.2. A niveau pharmacologique

Les insuffisances de l'approche traditionnelle ont conduit à un deuxième niveau de considération avec l'étude nécessaire de la plante médicinale dans un cadre scientifique et pharmacologique. Celui-ci a permis, grâce à des démonstrations expérimentales *in vitro* ou *in vivo*, chez l'animal et/ou chez l'homme de démontrer l'activité et les propriétés des extraits totaux de la plante ou de certains de ses constituants (principes actifs), ainsi de confirmer ou d'infirmer les données issues de la tradition, et enfin d'étudier les formes galéniques (formes d'extraction et d'administration) les mieux adaptées.

L'intérêt de ce niveau d'analyse est qu'il permet une utilisation de la plante médicinale suivant des critères pharmacologique précis, et qu'il resitue son étude, et donc son utilisation, dans son seul cadre scientifique, sortant alors de l'empirisme et de ses imprécisions (**Carillon, 2009**).

I.4.3. A niveau clinique

Ces raisons conduisent alors à un troisième niveau dans l'étude et l'utilisation de la plante médicinale qui est celui de la Phytothérapie Clinique. Cette étude clinique ne se situe pas au seul niveau de la stricte pharmacologie clinique du produit, thérapeutique substitutive qui n'agit que sur le symptôme, mais doit également prendre en compte l'individu qui reçoit le traitement, avec sa réalité et sa réactivité fonctionnelle physiologique et biologique spécifique. Elle intègre de ce fait l'étude de la plante médicinale dans une physiologie du vivant, de l'individu, avec ses notions fondamentales de dynamique, d'inter-relation, de relativité et de globalité.

Elle reprend toutes les données issues de la stricte connaissance pharmacologique mais en les réintégrant dans une physiologie du vivant. De ce fait, l'approche clinique peut confirmer certaines propriétés issues de la tradition mais non retrouvées par la stricte étude pharmacologique (**Carillon, 2009**).

I.5. Les métabolites des plantes médicinales

I.5.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme. Ils ont un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal se retrouvent dans toutes les espèces (**Bediaga, 2011**).

I.5.1.1. Les sucres réducteurs

Les sucres réducteurs sont des sucres simples réactifs. On peut citer le glucose, le fructose et le maltose, représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois (cellulose) (**Delille, 2007**).

I.5.1.2. Les aminoacides

Représentent une source primaire de construction des protéines, les glucides sont des constituants universels des organismes vivants, parfois appelés hydrates de carbone, ce sont en première approximation des composés organiques carbonylé (aldéhydiques ou cétoniques) polyhydroxylés (**Cyril, 2001**).

I.5.1.3. Les lipides

Constituent aussi une source d'énergie présente dans les membranes cellulaires (**Jean, 2009**).

I.5.1.4. Les glucosides cardiaques

Présents dans de nombreuses plantes médicinales, ils ont une action directe et puissante sur le cœur. Ils l'aident à maintenir le rythme cardiaque en cas d'affaiblissement. Ces glucosides sont également diurétiques. Ils contribuent à transférer les liquides des tissus et du système circulatoire vers les conduits urinaires (**Bruneton, 1993**).

I.5.2. Métabolites secondaires

La plante biosynthétise des molécules, des métabolites secondaires qui sont des molécules spécifiques servent pour la défense (lutte contre les agressions, maladies), à attirer des insectes et des animaux pour la reproduction, la pollinisation ou encore à éloigner les prédateurs (**Diallo, 2005 ; Boumaza, 2011**).

I.5.2.1. Composés phénoliques

Les polyphénols constituent un groupes largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante. Ils sont considérés des effets prebiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques (**Chebrouk, 2009 ; Lamchouri et al., 2012**).

A- Coumarines

La coumarine est une molécule aromatique, elle est présente sous forme glycoconjuguée chez certaines graminées, sont souvent synthétisés en réponse à des attaques pathogènes, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Rhaffari et al., 2002**).

B- Flavonoïdes

Sont des dérivés phénylpropanoïdes solubles dans l'eau, souvent incolores ou jaunes, de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : C6-C3-C6, et représentent une source importante d'antioxydants dans notre alimentation et connus anciennement comme toniques veineux et protecteurs capillaires (action vitaminique) utilisée comme réductrice des hémorragies, sont dotés de propriétés biologiques remarquables qui

sont: anti-hypertensive, antiallergique, anti-inflammatoire, anti-hépatotoxique et antivirale (**Legseir, 2016**).

C- Tanins

Des substances d'origine végétale, non azotées, de structure polyphénolique, soluble dans l'eau, l'alcool, l'acétone, peu soluble dans l'éther, ayant la propriété commune de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible et imperméable en se fixant sur les protéines, leur rôle biologique comme des propriétés astringente, antiseptique, antioxydant ils permettent aussi de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections et antidiarrhéique (**Gacem, 2011**).

I.5.2.2. Les alcaloïdes

Ce sont des substances organiques d'origine naturelle, renfermant de l'azote, La plupart ont des propriétés basiques. D'une manière générale, les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques très variées ainsi que par leur toxicité. Les alcaloïdes sont utilisés comme anti cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (**Ayad, 2008**).

I.5.2.3. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des composées liquides et hautement volatiles des plantes. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire, elles sont très utilisées dans l'industrie des produits cosmétiques, pharmaceutiques et agro-alimentaire (**Ouraïni et al., 2005**).

I.5.2.4. Les saponines (saponosides)

Les saponines ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon. Sont des glycosides à poids moléculaire élevé, ils possèdent une grande variété d'activités biologiques telles que : antipyrétique, antalgique, immuno-modulatrice, anti inflammatoire, anticoagulante. Ils ont des propriétés tensioactives et biologiques importantes et sont utilisés dans l'industrie, la pharmacie et la cosmétologie (**Athamena, 2009**).

I.5.2.5. Les anthocyanes

Sont des pigments qui confèrent leurs couleurs aux fruits et aux légumes. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux (**Bekkari, 2012**).

I.5.2.6. Triterpènes

Les triterpènes sont des molécules à 30 atomes de carbone, qui sont ensuite transformé en cholestérol, c'est de plus un des constituants de la graisse de la laine de mouton. Il y a plus de 1700 triterpènes dans la nature dont la majorité sont sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la plupart des triterpènes sont des alcools, sous forme libre ou glycoside (les saponines) ou ester (**Djahra, 2014**).

I.5.2.7. Stéroïdes

Ce sont des métabolites secondaires dont l'intérêt thérapeutique et l'emploi industriel est majeur. On peut en particulier noter l'intérêt de base des contraceptifs, des anabolisants et des anti-inflammatoires, qui peuvent diminuer la valeur nutritive des fourrages ou expliquer la toxicité de certaines plantes (**Kerharo, 1950**).

I.5.2.8. Cardinolides

Ils sont de structure homogène, comprenant une génine stéroïdique Il s'agit de composés semblables aux saponosides, sont largement utilisés pour leur action sur le cœur, liée à leur activité d'inhibition des ATPases Na^+/K^+ , utilisés pour le traitement de l'insuffisance cardiaque malgré la marge thérapeutique étroite (**Sincich, 2002**).

I.5.2.9. Anthraquinones

Sont des composés chimiques obtenus à partir du goudron. Cet hydrocarbure aromatique polycyclique se trouve dans la nature, chez certains animaux (dont les insectes) et certaines plantes, l'aloès, la bourdaine, les champignons et les lichens. En médecine, on l'utilise pour ses effets laxatifs dans le traitement des troubles intestinaux (**Pousset, 1992**).

I.6. Toxicité des plantes médicinales

I.6. 1. Causes de toxicité des plantes

La toxicité des plantes médicinales peut être expliquée par :

I.6.1.1. Interactions des plantes avec les médicaments

Lorsque les plantes médicinales et les médicaments (sur ordonnance ou en vente libre) sont utilisés ensemble, ils peuvent interagir à l'intérieure du corps et entraîner des changements dans l'action des plantes et/ou des médicaments. On appelle ce genre de changement une interaction plante- médicament. Ces interactions peuvent être utiles ou nuisibles; tout dépend de la nature de l'interaction (**Rogers, 2004**).

I.6.1.2. Les altérations

La toxicité peut être aussi liée à la présence de composants qui altèrent chimiquement les préparations à base de plantes, qu'il s'agisse de végétaux ou de substances chimiques médicamenteuses (**Zekkour, 2008**).

I.6.1.3. La contamination et au frelatage des plantes

Une toxicité peut suivre l'utilisation des plantes sans que les constituants actifs de la plante, ou autrement dit, la plante elle-même, ne soit directement impliquée. En effet, la toxicité peut être reliée à la contamination des plantes, accidentellement ou intentionnellement, par des métaux lourds, des toxines, des herbicides, ou par le frelatage par des hormones, des extraits glandulaires et même par des médicaments (**Moussally, 2009**).

Chapitre II

Les huiles essentielles

II.1. Définition des huiles essentielles

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (**Baser et Buchbauer, 2010**). Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation, etc. (**Besombes, 2008**).

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec la civilisation arabe, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques (**Baser et Buchbauer, 2010**).

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice ATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (**Besombes, 2008**).

Les huiles essentielles également appelées huiles volatiles ou étherées (**Guenther, 1948**) sont les liquides aromatiques obtenus à partir de la matière végétale (fleurs, bourgeons, les graines, feuilles, brindilles, écorce, herbes, bois, fruits et racines). Ils peuvent être obtenus par expression, fermentation, enfleurage ou extraction. La méthode de la distillation à la vapeur est la plus utilisée pour la production commerciale des huiles essentielles (**Van de Braak et al., 1999**). AFNOR définit les huiles essentielles, souvent appelées essences, comme des produits odorants obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau des végétaux ou parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certains citrus, elles sont très volatiles et possèdent une valeur olfactive et gustative fortement aromatique.

D'après **Naves (1976)**, aucune des définitions des HE n'a le mérite d'être claire, ni précise. Les HE sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passant avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau.

II.2. Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1% des espèces élaborent des essences. Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles groupent et en particulier les labiés (Thym, Menthe, Lavande, Origan, Sauge, etc.), les Ombellifères (Anis, Fenouil, Angélique, Cumin, Coriandre, Persil, etc.), les Myrtacées (Myrthe, Eucalyptus) et les Lauracées (Camphrier, Laurier-sauce, Cannelle) (**Benayad, 2008**).

Les huiles essentielles peuvent se trouver dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, rhizomes, fruits et graines. La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (**Khenaka, 2011**). Ils sont produits dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans des cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiacaeae ou Asteraceae). Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes.

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (**Bruneton, 1993 ; Anton et Lobstein, 2005**) (Figure 01).

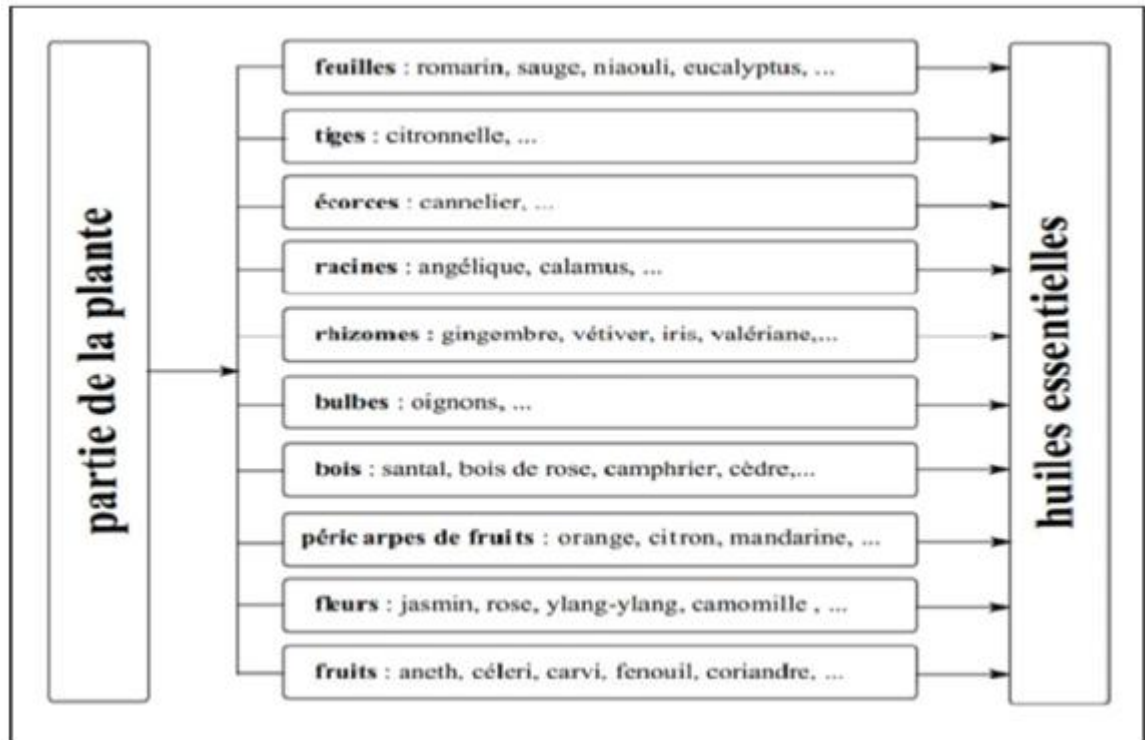


Figure 01: Provenance des HEs en fonction des différents partie de plantes
(AFNOR, 1996)

II.3. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

II.3.1. Caractéristiques physiques

Selon (Bardeau, 1976 ; Legrand, 1978; Lemberg, 1982; Bruneton, 1999), les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- ✓ Elles sont solubles dans alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur ;
- ✓ Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C ;
- ✓ Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles sassafras, de girofle ou cannelle constituent des exceptions) ;
- ✓ Elles ont un indice de réfraction élevé ;
- ✓ Elles ont des dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée ;
- ✓ Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre et le phosphore ;
- ✓ Elles réduisent certains sels ;
- ✓ Ce sont des parfums, et leur conservation est limitée ;

Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas) ;

- ✓ Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, trèsodorantes et volatiles ;
- ✓ A température ambiante, elles sont généralement lipides, incoloration bleue.

II.3.2. Caractérisation chimique

II.3.2.1. Caractéristiques chimiques

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés de phénylpropane, beaucoup moins fréquents d'autre part (**Bruneton, 1993**).

A- Terpénoïdes

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Les terpénoïdes. Dans les huiles essentielles, sont celles qui ont la masse moléculaire n'est pas élevée c'est à dire, ceux dont les molécules les plus volatils. Ils portent dans la plupart des cas la formule générale $(C_5H_8)_n$. Suivant les valeurs de n, on a les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3), les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes. Les constituants des huiles essentielles sont très variés. On y trouve en plus de terpènes, des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres (**Seenivasan, 2006**). (Figure 02) et (Figure 03).

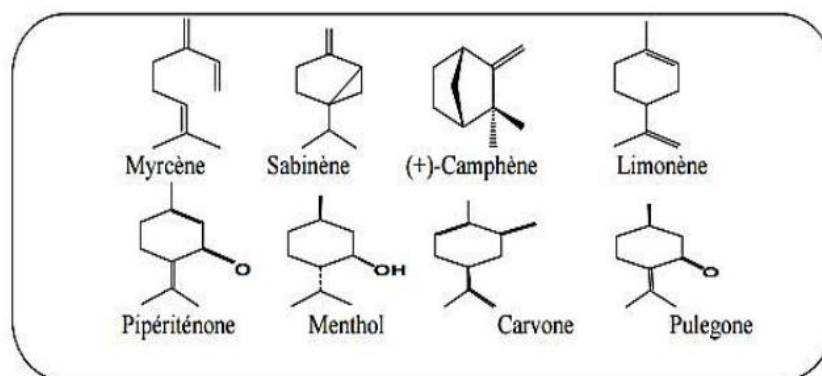


Figure 02 : Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des H.E.

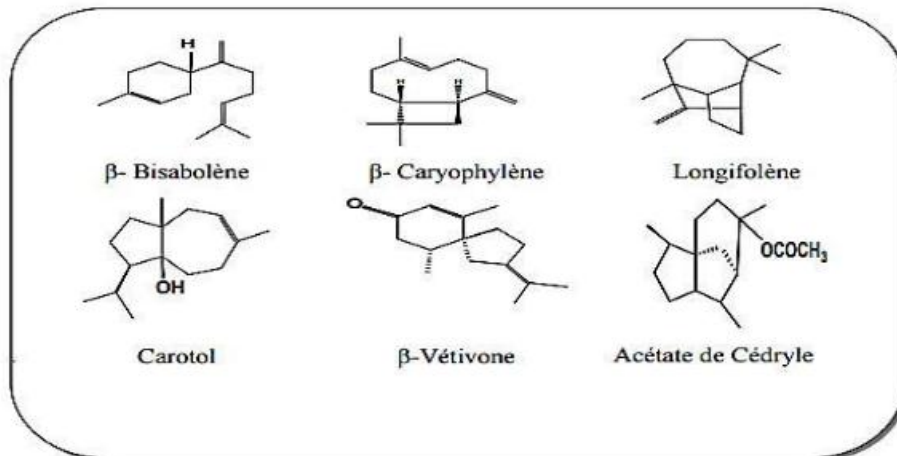


Figure 03 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des H.E.

B. Composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins de présence dans les huiles essentielles. Mais il est considéré comme un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Nous pouvons citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle (Kunleetokogum, 2003) (Figure 04).

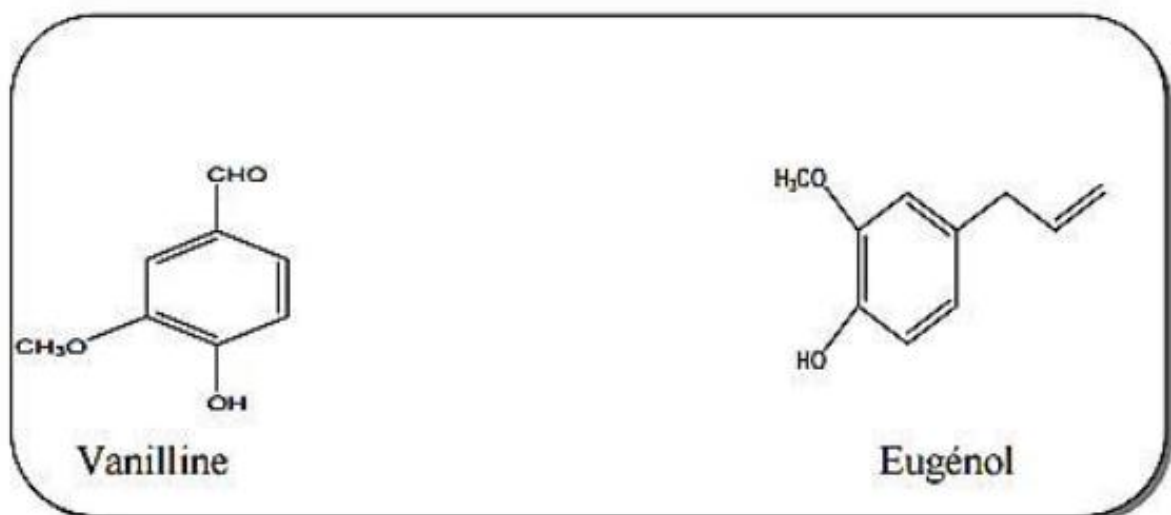


Figure 04 : Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des H.E.

C. Composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation. Ces produits peuvent être azotés, soufrés, des carotènes ou des acides gras (Teisseire, 1991).

- **Alcools:** Menthol, géraniol, linalool ;
- **Aldéhydes:** Géraniol, citronellal ;
- **Cétones:** Camphre, pipéritone ;
- **Phénols:** Thymol, carvacrol ;
- **Esters:** Acétate de géranyle ;
- **Acides:** Acide gérannique ;
- **Oxydes:** 1,8-cinéole ;
- **Phénylpropanoïdes:** Eugénol;
- **Terpènes:** Limonène, para-Cyrène ;
- **Autres:** Ethers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpène.

D. Chémotype

La connaissance des chémotypes d'une huile essentielle et leur comportement sont fondamentaux car ils permettent d'envisager l'activité pharmacologique, de prévoir aussi la pharmacocinétique et biodisponibilité. Pour une même espèce botanique, la composition chimique de l'huile essentielle n'est pas immuable. Les huiles essentielles sont élaborées par les plantes aromatiques au sein des cellules sécrétrices. Leur élaboration est totalement tributaire du rayonnement solaire en l'absence duquel le rendement en produits aromatiques et leur nature sont affectés.

En sa présence, et tout particulièrement en fonction de la présence de tel ou tel rayonnement, les types de composants pourront varier considérablement au sein d'une même espèce. Par exemple, le basilic cultivé en pleine lumière à Madagascar a un taux de chavicol de 57% alors que la même plante cultivée à l'abri de la lumière en contient 74 (Franchomme et Penoël, 1990). Cette variabilité peut être influencée également par la composition du sol et la position géographique; le *Lippium utiflora* récoltée au Togo a révélé les chémotypes à citral, à thymol (acétate de thymyle), à para-cymène, à 1-8 cinéole (Inoué et Abe, 2003).

II.4. Biosynthèse

La biosynthèse des huiles essentielles se fait suivant deux principales voies (**Mann, 1987**).

II.4.1. Voie des Terpenoïdes

Le matériau de base est l'IPP (isopentylpyrophosphate), molécule à cinq atomes de carbones ayant une structure semi-alvéolaire. Il est dérivé de l'Acétyl CoA (carrefour important), lui-même issu du PEP (phosphoenolpyruvate) provenant directement du fructose. La construction des squelettes hydrocarbonés a lieu de la même manière par la juxtaposition "tête à queue" d'unités isopréniques, unités pentacarbonés ramifiées assemblées enzymatiquement. Ainsi on trouve des squelettes hydrocarbonés à dix carbones (monoterpènes), puis à quinze carbones (sesquiterpènes) et plus rarement, à vingt carbones (diterpènes). Le processus peut se poursuivre mais dans d'autres buts que la synthèse des essences.

II.4.2. Voie des Phenylpropanoïdes

La synthèse des huiles essentielles par la voie des phenylpropanoïdes commence par un métabolite du fructose, le PEP (phosphoenolpyruvate). Elle aboutit à un très grand nombre de substances aromatiques, via une série d'acides, dont l'acide shikimique (d'où son nom, voie shikimique) et l'acide cinnamique. Les métabolites terminaux, importants en thérapeutique, sont les acides aromatiques suivants: acides salicylique, cinnamique et benzoïque et leurs esters dont le salicylate de méthyle, les cinnamates, les benzoates, certains phénols (eugénol) ainsi que les coumarines,... Quelques grandes familles chimiques de molécules non volatiles, comme les tannoïdes et les flavonoïdes, se trouvent incluse dans cette voie (**Spurgeon et Porter, 1981**) (Figure 05).

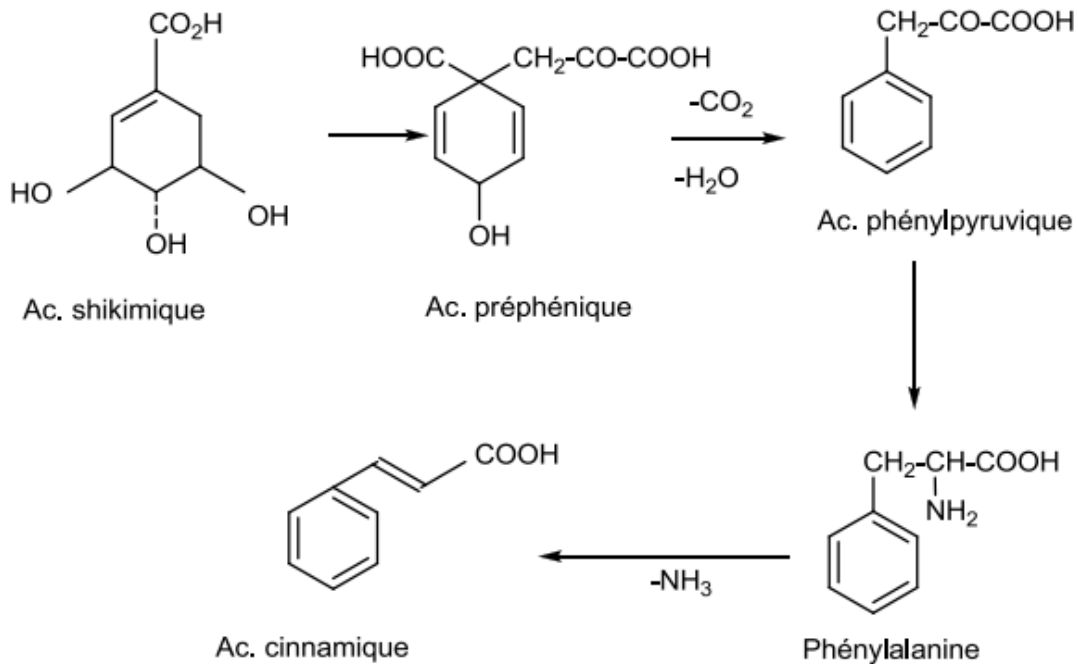


Figure 05 : Exemple de biosynthèse des dérivés du phénylpropane

II.5. Fonction

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles tant que métabolites secondaires, leur rôle exact dans le processus de la plante reste encore mal connu, les huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets «utiles» pour la plante. La fonction biologique des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure. Il est toutefois vraisemblable qu'ils ont un rôle écologique. À l'appui de cette hypothèse, on remarquera que le rôle de certains d'entre eux a été établi expérimentalement aussi bien dans le domaine des interactions végétales comme agents idiopathiques, notamment inhibiteurs de germination, que dans celui des interactions végétales –animales contre les insectes et les champignons. (Aichouchi, 2012).

II.6. Mode d'action des huiles essentielles

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson *et al.*, 2002) bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice. De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997). Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des. Cela peut induire un changement de composants actifs, en

particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne conformation de la vulnérable (membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K⁺) : ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram à négatif (*Escherichia coli*) et levure (*Candida albicans*) in vitro (Cox *et al.*, 2000 ; Carson *et al.*, 2002).

Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (Knobloch *et al.*, 1989 ; Sikkema *et al.*, 1995). Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (Wendakoon et Sakaguchi, 1995). Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides inhibition de la décarboxylation des acide aminés chez Entérobactéries.

Les études sur les mécanismes d'action de cette activité en nombre négligeable. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action d'HE. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire .Il est très probable que chacun des constituants des huiles essentielles a son propre mécanisme d'action ;d'une manière générale ,leur action se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaire.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composent de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie

Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type microorganismes:en générale, les bactéries Gram négatives (sikkema *et al.*, 1995).

II.7. Effets physiques et physiologiques des huiles essentielles

II.7.1. Effets physiologiques

Les huiles essentielles ont des effets anti-appétents, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes et acariens. Des travaux récents montrent que les mono terpènes inhibent la cholinestérase (**Keane et Ryan, 1999**).

II.7.2. Effets physiques

Les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des arthropodes à corps mous (**Isman, 2000**).

II.8. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T par exemple. Seules les essences de Citrus se gardent un peu moins longtemps (trois ans). Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque vingt degrés. Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (**norme AFNOR NF T 75-001, 1996**) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE (**norme NF 75-002, 1996**).

II.9. Toxicité des huiles essentielles

Par leur composition chimique riche, les huiles essentielles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation aléatoire autonome, surtout que le consommateur est attiré par la facilité d'emploi de ces essences en absorption interne ou en application externe, en ignorant que certaines sont plus rapidement dangereuses que les autres: absinthe, armoise, chénopode, sauge officinale, hysope, thuya, tanaïsie, aneth, rue, anis, carvi, romarin (**Bernadet, 2000**). D'autres sont à éviter durant la grossesse, ou interdites aux personnes souffrant d'épilepsie, d'hypertension ou d'affections dermatologiques (**Bremness, 1998**).

Cet aspect de la connaissance des huiles essentielles est d'autant plus important que le développement de pratiques telles que l'aromathérapie et autres, conduisent à une utilisation souvent abusive. L'automédication est dangereuse, souvent favorisée par le fait que bon nombre de ces produits sont distribués en dehors du secteur pharmaceutique (**Bruneton, 1999**).

Bien que d'origine naturelle, les huiles essentielles peuvent se révéler dangereuses pour la santé. Il est ainsi important de connaître le produit, le choisir selon des critères qualitatifs rigoureux (produit de qualité non falsifié, non contaminé par des pesticides), de respecter scrupuleusement les doses et de choisir le mode d'administration adéquat, et ce afin d'éviter la survenue d'effets indésirables, voire même des interactions avec d'autres médicaments. Ainsi, les huiles essentielles peuvent s'avérer allergisants, photosensibilisants, cytotoxiques, irritants, néphrotoxiques, hépatotoxiques, neurotoxiques.

II.10. Propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont employées depuis les temps les plus reculés pour leurs effets thérapeutiques les plus diversifiés. La diversité moléculaire des composants qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés (**Valnet, 1984**).

En effet, les hydrocarbures monoterpéniques présentent des propriétés antalgiques en usage percutané, vermifuge, emménagogue, antiseptique atmosphérique, antiparasitaire, ... Les hydrocarbures sesquiterpéniques présentent des effets anti-inflammatoires, calmants, hypotenseurs (**Amor, 2006**). Les pouvoirs offerts par les H.Es sont innombrables et variés. Il serait impossible de les mentionner tous. La mise en évidence de leur activité biologique a fait l'objet de nombreuses études (**Bakkali, 2008**).

II.10.1. Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Le rôle biologique des H.Es dans l'écologie est évident. Par leur odeur, elles interviennent dans la pollinisation. Ainsi, elles jouent un rôle attractif ou répulsif vis-à-vis des prédateurs (herbivores, insectes...). Elles peuvent paralyser les muscles masticateurs des agresseurs par les propriétés toxiques et inappétentes des substances qu'elles contiennent (**Capo et al., 1990**). Elles protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et des champignons. Elles empêchent la dessiccation de la plante (perte d'eau) par évaporation excessive et protègent la plante contre la lumière soit par diminution ou concentration. Par ailleurs leurs composés interviennent dans les réactions d'oxydo-réduction, comme donneurs d'hydrogène. Par exemple l'isoprène réagit rapidement avec l'ozone et les radicaux hydroxyles. Aussi, elles émettent l'excès de carbone et d'énergie (**Sharkay et al., 2001**).

II.10.2. Propriétés biologiques

Le spectre d'action des H.Es est très étendu, car elles agissent vis-à-vis d'un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. En outre, certaines essences douées d'une activité antifongique s'opposent au développement des

champignons, des moisissures en les détruisant. Ces activités sont par ailleurs variables d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche à l'autre (**Kalemba et al., 2003**).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (**Kalemba et al., 2004**) sauf quelques exceptions, comme par exemple *Aeromonas hydrophila* et *Campylobacter jejuni* qui ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles (**Wan et al., 1998**). Néanmoins *Pseudomonas aeruginosa*, bactérie à Gram négatif, reste la moins active vis-à-vis des essences végétales. Les molécules aromatiques telles que les phénols suivis par les aldéhydes puis les cétones viennent ensuite les alcools puis les éthers possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé. En général l'action de l'essence se déroule en trois étapes distinctes.

-Augmentation de la perméabilité suivie par la perte des constituants cellulaires par attaque de l'huile essentielle sur la paroi bactérienne ;

-Blocage de la production de l'énergie cellulaire et de la synthèse des composants de structure par acidification de l'intérieur de la cellule ;

-Mort de la bactérie par destruction de son matériel génétique.

II.11. Utilisation des huiles essentielles

Il existe plusieurs voies d'utilisations des H.E nous pouvons les avaler, les respirer ou les utiliser en application directe sur la peau :

II.11.1. La voie orale

Elle doit être utilisée uniquement sur conseils du médecin d'aromathérapie. Il faut jamais prendre une huile pure dans la bouche peut se produire des brûlures. Aussi, nous conseillons de ne jamais prendre plus de trois gouttes (**Scimeca, 2006 cité par Bencheikh, 2017**).

II.11.2. La voie cutanée

C'est la voie idéale car sans danger et très efficace. Généralement, les huiles sont utilisées à des concentrations très diluées. Il peut être utilisé de plusieurs façons soit massage ou simplement en application selon la zone et l'affection à traiter. D'autres formes sont aussi possibles : pommades, bain, etc. Dans tous les cas, les H.E pénètrent dans notre corps pour

atteindre la circulation sanguine afin pour être transporté jusqu'au site malade (**Festy, 2011 cité par Bencheikh, 2017**).

II.11.3. En pharmacie

L'importance des plantes aromatiques est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle-ci leur confèrent de grandes perspectives d'application. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique (**Valnet, 1984**).

II.11.4. Parfumerie et cosmétologie

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable (**Maruzzella, 1962 ; Roulier, 1992 ; Vargass et al., 1999**).

I.11.5. Phytothérapie

Les HE sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques trsatisfaisantes dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries (**Sourai, 1989 ; Kato et al., 1990 ; Schwartz et al., 1992**).

La listerine qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire (**Kato et al., 1990**).



Figure 06: Quelques produits cosmétiques (**Samadia, 2009**)

II.12. Activités biologiques des huiles essentielles

II.12.1. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Richard, 1992**). Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes de propriétés selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation (**Multon, 2002**). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène (**Madhavi et al., 1996**). Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (**Caillet et Lacroix, 2007**). (Figure 07).

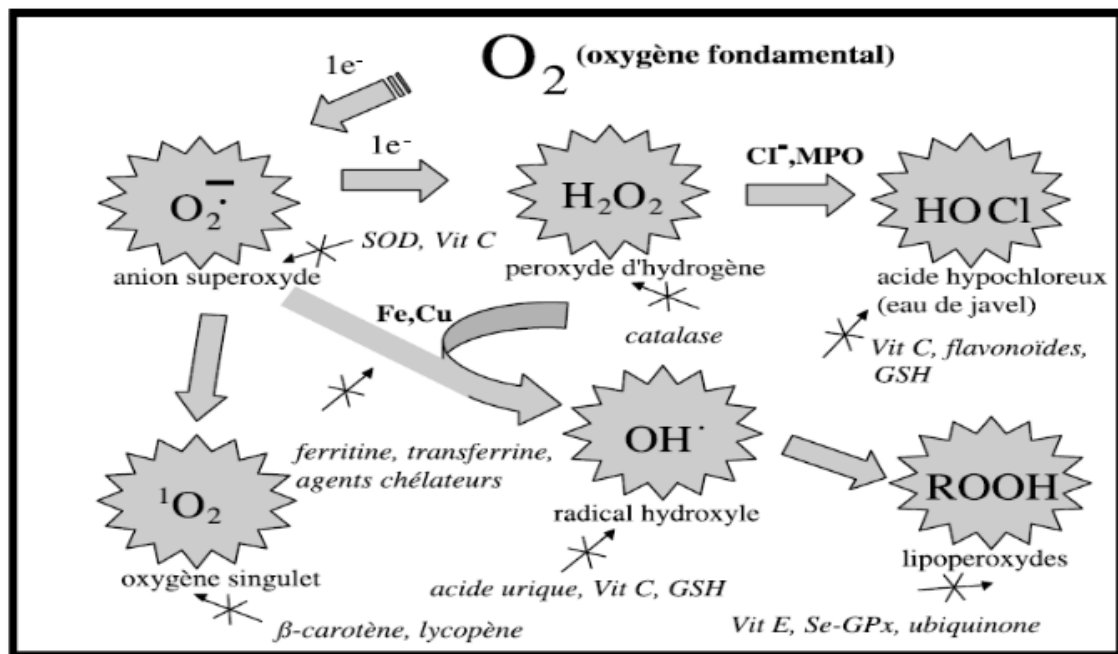


Figure 07 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants (**Milbury et Richer, 2008**).

II.12.1.1. Méthodes d'évaluation de l'antioxydant

L'examen des données bibliographiques fait apparaître de nombreuses méthodes spectrométriques de détermination de l'activité antioxydant. Parmi les tests les plus utilisés, nous présenterons ceux couramment cités et qui ont été utilisés au cours de notre étude: la méthode au DPPH (DiphénylPicrylhydrazyle) et la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

-La méthode de DPPH•

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (capteur de proton) est un radical libre, stable au cours du temps et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé quelconque (Cotelle *et al.*, 1996 ; Trouillas *et al.*, 2003), le radical DPPH en solution est coloré en violet. En présence d'antioxydant (donneurs de proton); le radical DPPH est réduit en formant une liaison moléculaire stable.

Le produit réduit présente une coloration qui tire vers le jaune. On mesure à l'aide d'un spectromètre UV à 517 nm, la diminution de coloration de la solution qui est proportionnelle à la quantité d'antioxydant. L'activité antioxydant de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition (Figure 08).

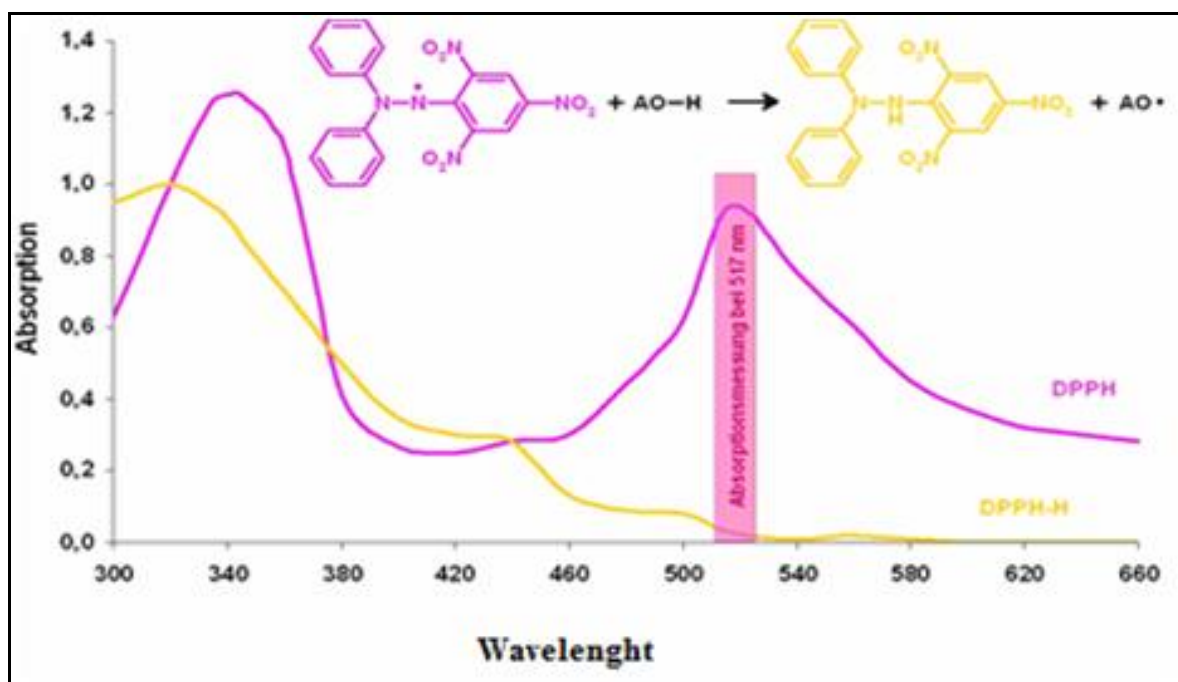


Figure 08 : Schéma de transformation du DPPH de sa forme active

(Violet) à celle inactive (Jaune) (**Villano et al., 2007**).

II.12.1.2. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Favier, 2006**).

Selon leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories : - Système de défense primaire : comme la catalase, le glutathion (GSH). Ces antioxydants préviennent la production de ROS en limitant la phase d'initiation des réactions d'oxydation. Ils agissent donc en prévention.

Système de défense secondaire : à titre exemple les tocophérols, sont capables de piéger directement les radicaux oxydants et sont ainsi des antioxydants «briseurs» de la chaîne radicalaire bloquant ainsi les réactions de propagation (**Buettner, 1993**).

II.12.1.3. Classification des antioxydants

A. Classification en fonction du type d'action

Une des classifications est basée sur le mécanisme d'action des antioxydants pour empêcher ou retarder l'oxydation. Les molécules permettant de piéger les radicaux libres sont considérées comme antioxydants primaires et celles qui n'impliquent pas directement la captation des radicaux libres sont considérées comme antioxydants secondaires. Les antioxydants secondaires agissent comme chélateurs d'ions métalliques capables de catalyser l'oxydation, kidnappeurs d'oxygène, en transformant les hydroperoxydes en espèces non radicalaires, en absorbant le rayonnement UV ou en désactivant l'oxygène singulet. Il existe aussi des antioxydants montrant une activité antioxydante uniquement en présence d'autres antioxydants (en synergie) comme l'acide citrique par exemple (**Pokorny, 2007**).

B. Classification par voie d'obtention

Une autre classification concerne la voie d'obtention des molécules antioxydantes. Elles peuvent être obtenues par :

-synthèse chimique, on parle alors d'antioxydants synthétiques,

-ou par extraction à partir de sources naturelles, on parle alors d'antioxydants naturels.

II.12.1.4. Toxicité des antioxydants

Les antioxydants sont des molécules en général faiblement toxiques. Pourtant, pour certains d'entre eux, leur utilisation à forte dose n'est pas dénuée de danger. Par exemple, le radical α -tocophérol (α -TO.) stabilisé par mésomérie, peut initier des réactions d'oxydation avec les acides gras mono et poly insaturés des phospholipides membranaires (LH, LOOH) à l'origine de radicaux libres, et peut ainsi contribuer à la phase de propagation des réactions radicalaires survenant dans la peroxydation lipidique. Ce rôle pro oxydant de l' α -tocophérol en tant qu'initiateur des réactions radicalaires n'est néanmoins possible que si le radical α -tocophéryl est présent en forte concentration dans les membranes et que la vitamine C n'assure pas sa régénération (**Pastre et Priymenko, 2007**).

II.12.2. Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**).

Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (**Cox et al., 2000 ; Carson et al., 2002**).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* aussi été rapportée (**Wendakoon et Sakaguchi, 1995**). Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides (**Cox et al., 1991**).

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le caracole peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman et Deans, 2000**).

Deuxième partie

Partie expérimental

Chapitre I
Méthodologie de travail

I.1. Matériels

I.1.1. Principe d'étude

L'intérêt porté aux plantes spontanées à caractère médicinales comme source naturelle de nombreux principes actifs, a sensiblement augmenté au cours des 20 dernières années. Ce travail s'oriente sur les caractéristiques biochimiques des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* dans la région de Ghardaïa.

L'étude porte sur l'extraction des huiles essentielles de cette plante médicinale et étude de leurs activités biologiques : antioxydante en utilisant le réactif de DPPH[•] et l'activité antibactérienne en utilisant la méthode de diffusion sur disque. En parallèle une caractérisation physicochimique se fait en étudiant leur densité, pH, indice d'acide, indice de réfraction et en calculant le rendement d'extraction de ces huiles essentielles à partir de taxon étudié (Figure 09).

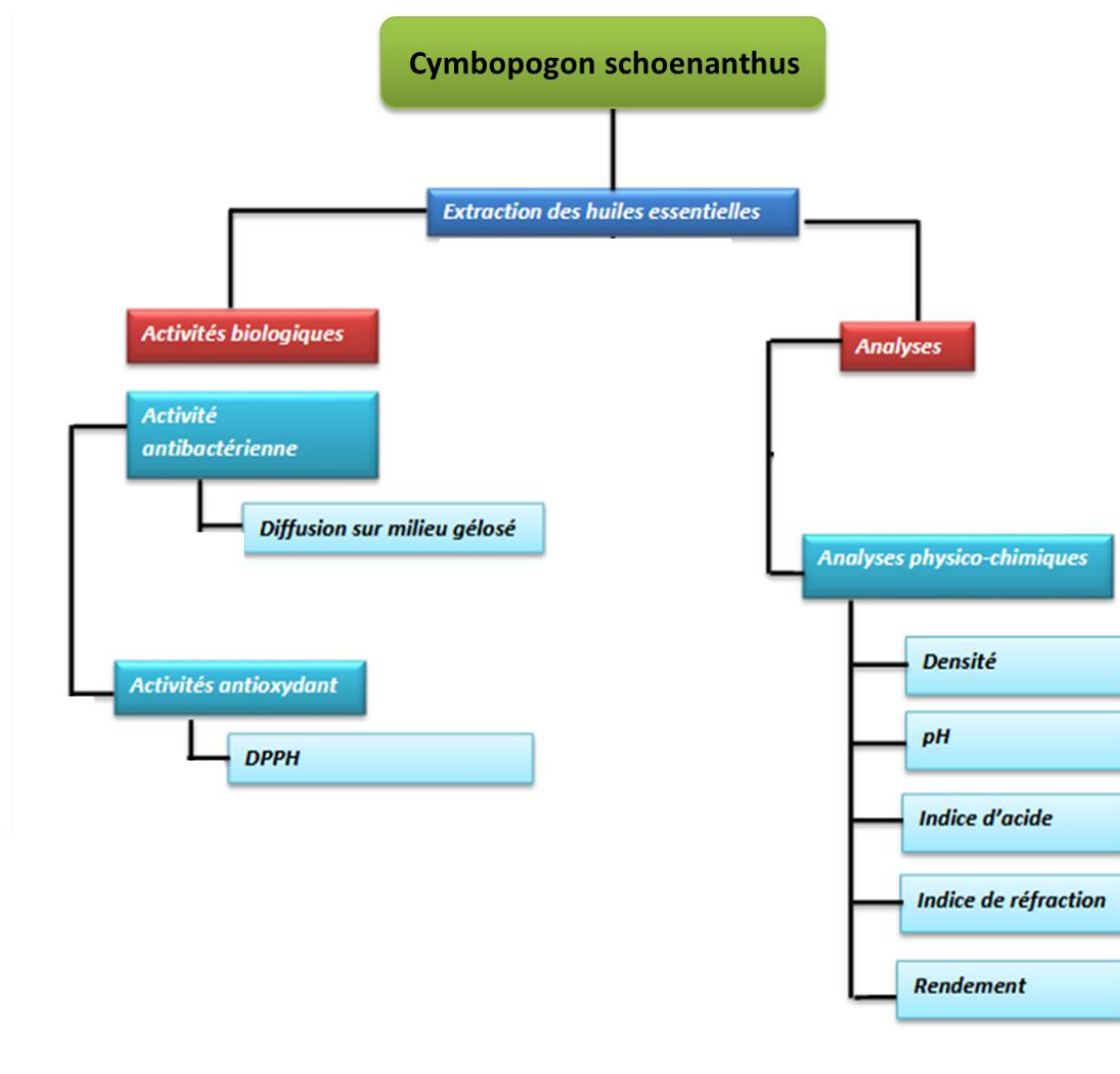


Figure 09 : Plan générale de la partie expérimentale**I.1.2. Matériel d'étude**

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued d'une part et d'autre part dans le laboratoire de contrôle et de qualité ELCHIHABI d'El Oued.


I.1.2.1. Matériel végétal

Le choix de plante médicinale d'étude est justifié, non seulement par l'utilisation de cette dernière dans la région d'étude pour la prise en charge des maladies humaines, mais aussi par le fait que peu d'études ont été réalisées sur la composition chimique et les activités biologiques de ce taxon.

La plante, fraîchement récolté. Toutes les parties ensuite séparées puis séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité. Celles-ci ont été ensuite pesées, réduites(coupée en petites parties) pour augmenter la surface de contact avec de l'eau et récupérées dans des sacs en papier afin de les conserver jusqu'au moment de l'extraction.

L'espèce investiguée est : *Cymbopogon schoenanthus*. Les informations concernant cette plante sont consignées dans le tableau 1.

Tableau 01: Description botanique, propriétés et usage thérapeutique de plante étudiée

Plante étudiée	Description botanique	Propriétés et usage thérapeutique
 <p>Photo 01 : <i>Cymbopogon schoenanthus</i> (Oued metlili, région de Ghardaïa, Sahara septentrional Est Algérien) (Mahboub, 2018).</p>	<p>Cette graminée pousse en touffes denses de 30 à 40 cm de haut, comprenant plusieurs rejets, à souche aromatique.</p> <p>Tiges nombreuses et courtes. Feuilles étroites, longues, souples d'abord, puis coriaces et s'enroule sur elle-même.</p> <p>Tiges florales nombreuses, dressées et très longues. Epis plus ou moins teinté de violet. Toute la plante, mais surtout sa partie inférieure dégage une odeur puissante et très agréable en se desséchant. Période de végétation épiaison en avril-mai (Le floch, 1983).</p> <p>Habitat : en pieds isolés sur sols caillouteux, dans les lits d'oued et les ravins (Ozenda, 1991 et Quezel et Santa, 1963).</p>	<p><i>Cymbopogon schoenanthus</i> est très réputée pour ses vertus médicinales.</p> <p>Pharmacopée: ses gaines foliaires et ses souches sont utilisées sèches ; en infusion comme diurétique et pour donner de l'appétit et en décoction pour soigner les troubles intestinaux et les intoxications alimentaires.</p> <p>Intérêt pastoral : plante broutée par les chèvres et les dromadaires (Hellali, 2007).</p>

- Position systématique

Embranchement	: Spermaphytes
Classe	: Liliopsida
Ordre	: Cyperales
Famille	: Poaceae
Genre	: Cymbopogon
Espèce	: <i>Cymbopogon schoenanthus</i> (Quezel et Santa, 1963).

-Situation géographique de *Cymbopogon schoenanthus*:

La plante est largement répandue dans le monde entier. Ils sont distribués dans chacun des tropiques. (Benhouhou et Saadoun.,1986) Et les zones semi-orbitales.(Benothman *et al.*,2013). En Algérie, il est présent dans les régions arides avec une forte baisse.(100à 150mm à année). Cette plante se trouve dans les sols sableux non salés (Benhouhou et Saadoun.,1986).

I.1.3. Matériels de laboratoire**-Appareillage et matériels**

- UV spectrophotomètre (UV-1800 SHIMADZU) ;
- Cuves de plastique et de Quartz ;
- Étuve (Mommert, Beschickung-Loadig Model 100-800) ;
- Clivenger Qol 220602 ;
- Autoclave ;
- Balance analytique ;
- Verrerie : béchers, pipettes, ballons, éprouvettes graduées, tubes à essais, lapipette et micro pipete, entonnoir, erlenmeyers.

-Les logiciels

-Logiciel Microsoft office Excel 2007, pour le calcul des concentrations à partir des courbes d'étalonnage et pour la présentation des résultats;

-Logiciel de minitape, pour la comparaison entre les souches bactériennes.

Réactifs et produits chimiques**-Solvants et réactifs**

Ethanol à 96 % ;

Phénolphtaléine $C_{20}H_{14}O_4$;

Hydroxyde de potassium (KOH) ;

Acide chlorhydrique (HCL) ;

Tétrachlorure de carbone (CCl_4) ;

Thiosulfate de sodium (NaS_2O_3) ;

-Solutions standards utilisées

-Acide ascorbique $C_6H_8O_6$ (99%) Production par (ALFA AESAR) ;

-1,1-diphényl-di-picrylhydrazyl (DDPH) $C_{18}H_{12}N_5O_6$;

I.2. Méthodes**I.2.1. Extraction des huiles essentielles**

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé à l'acétone puis rincé à l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil afin d'éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction (Figure 10).

L'hydrodistillation ou entraînement à la vapeur, est une technique d'extraction dans laquelle le solvant est l'eau. Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient (**Bruneton, 1999**).

Nous avons effectué l'hydrodistillation deux fois pour augmenter la quantité étudiée. C'était l'occasion de savoir combien de quantité nous pourrions avoir après la première et la deuxième extraction. Le tableau suivant montre les protocoles expérimentaux suivis (tableau02).

Tableau 02 : Protocole de préparation des échantillons

Première hydrodistillation		
Espèce	M.V. (g)	V H ₂ O (ml)
<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	50	750

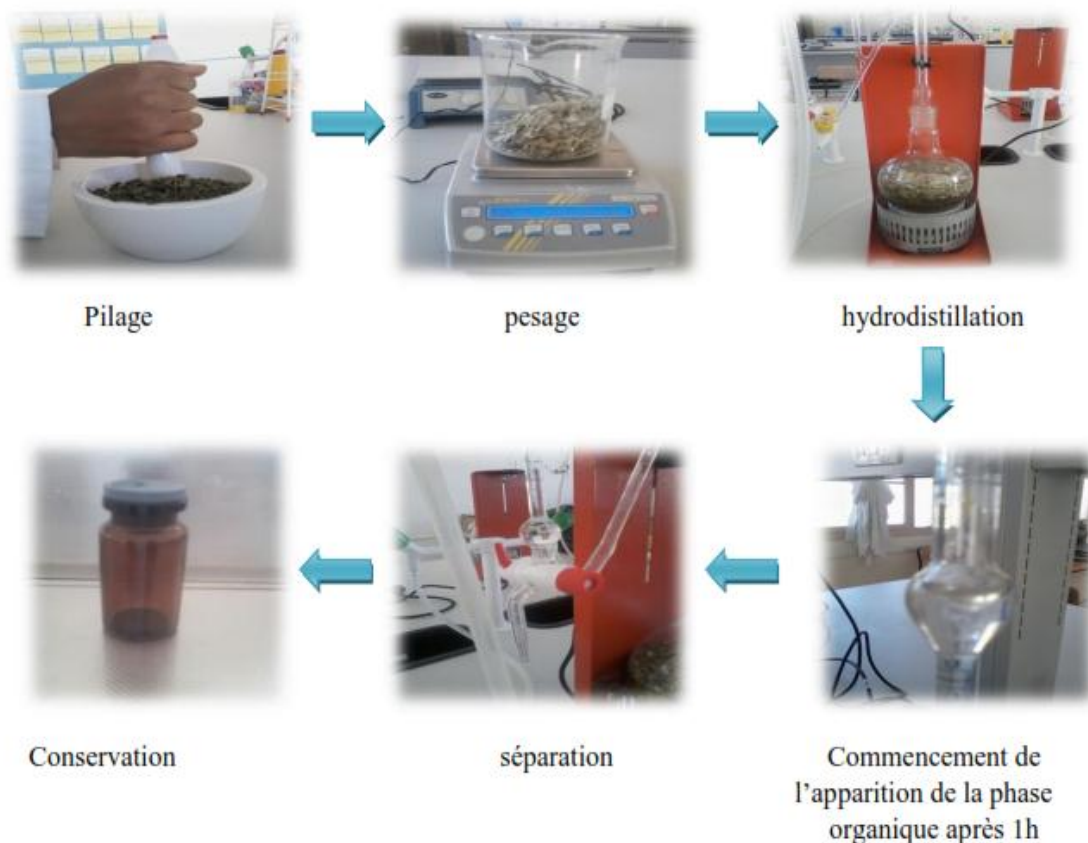


Figure 10: Les étapes d'extraction de huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*

I.2.2. Détermination des indices physico-chimiques des H.Es extraites

Les H.Es sont caractérisées par leurs propriétés physiques (densité, pouvoir rotatoire, indice de réfraction, miscibilité dans l'alcool,...) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide, d'ester, d'iode et de carbonyle) permettant d'évaluer la nature des composés organiques (acide, ester, alcène, carbonyle) présents dans l'essence.

I.2.2.1. Propriétés physiques

A. Rendement

Le rendement est le rapport de la quantité d'huile recueillie après distillation sur la quantité de la biomasse, exprimée en pourcentage. Les quantités d'huile essentielle proviennent du cumul suivre l'effet de séchage sur le rendement d'extraction.

$$R = \frac{M_{he}}{M_{vg}} \times 100$$

R : Rendement en HE en (%)

Mhe : Masse de l'huile essentielle

Mvg : Masse végétale sec

B. Caractéristiques organoleptiques

Les propriétés organoleptiques et physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Nos essais ont été effectués selon un protocole précis.

C. Détermination de pH

Le pH ou «potentiel hydrogène» mesure l'activité chimique des ions Hydrogènes H⁺ en solution. Le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Cette méthode décrit l'acidité ionique du produit à analyser, son principe consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans le produit après le réglage de la température d'étalonnage. La lecture se fait directement sur le pH-mètre. Ainsi, les H.E extraites ont été caractérisées par leur pH.

D. Densité relative

La densité de l'H.E est déterminée par le rapport entre la masse d'un certain volume de l'essence et la masse du même volume d'eau distillée pris à la même température.

La densité d'essence a été calculée à partir de la relation suivante:

$D_{20} = \frac{\text{le poids d'un certain volume de liquide}}{\text{Le poids de la même de l'eau.}}$

E. Indice de réfraction

L'indice de réfraction n_t^λ se définit comme étant le rapport entre le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré. Cet indice est mesuré à 20°C et rapporté à la raie D du sodium ($\lambda=589\text{nm}$).

La mesure de l'indice de réfraction de nos H.Es a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre de marque Atagopolystat 5A. Nous avons opéré comme suit:

-Etalonner l'appareil à l'aide d'une substance d'indice de réfraction connu à la température fixée à 27°C;

-Nettoyer les prismes et déposer quelques gouttes d'H.E entre les deux faces des prismes;

-Regarder dans l'oculaire et tourner le bouton de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule;

-Noter la valeur de l'indice par l'échelle de lecture.

F. Miscibilité à l'éthanol

La miscibilité à l'éthanol est déterminée par le volume (V) d'alcool nécessaire pour former avec 0,5ml d'H.E un mélange homogène.

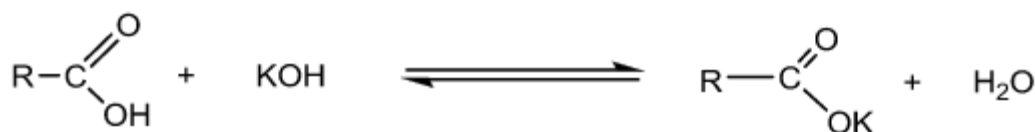
V ml d'éthanol par fractions de 0,5 ml ont été ajoutés, à l'aide d'une burette, à 0,5ml d'H.E. Après chaque ajout, le mélange est agité. Quand la solution devient limpide, on note le volume d'éthanol additionné. Nous avons employé de l'éthanol absolu pour nos essences.

I.2.2.2. Propriétés chimiques

A. Indice d'acide (Ia)

L'indice d'acide exprime le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres présents Dans 1g d'H.E.

L'hydroxyde de potassium réagit avec l'acide selon la réaction suivante:



1g d'H.E, 5ml d'éthanol à 96% et environ 5 gouttes d'indicateur coloré (phénolphtaléine) sont mis dans un erlenmeyer. Ensuite, on titre par une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,1N jusqu'à ce que la solution vire au rose.

L'indice d'acide Ia est déterminé parla formule suivante :

$$I_a = V \cdot c \cdot \frac{56,11}{m}$$

V: Volume en ml de la solution de KOH utilisé pour le titrage.

c : Concentration en mol. /L de la solution de KOH.

m : Masse en g de la prise d'essai.

B. Indice d'ester (I_e)

L'indice d'ester est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libérés par hydrolyse en milieu basique des esters contenus dans 1g d'H.E:



On introduit dans un ballon de 100 ml, 1g d'H.E et 25mL d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,5 M à l'aide d'une burette, ainsi que quelques pierres ponce.

L'ensemble est porté au reflux pendant 1h. Après refroidissement de la solution, on ajoute 20 ml d'eau distillée et 5 gouttes de phénolphtaléine.

L'excès de KOH est titré avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 0,5N jusqu'à la disparition de la couleur rose. Une opération à blanc est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment. L'indice d'ester (I_e) est calculé à l'aide de la relation suivante:

$$I_e = \frac{28,05}{m} (V_0 - V_1) - I_a$$

V₀: Volume en ml de la solution d'HCl (0,1N) mesuré pour l'essai à blanc.

V₁: Volume en ml de la solution d'HCl (0,1N) mesuré pour le calcul de I_e.

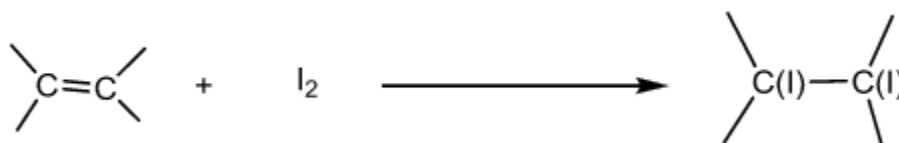
m : Masse en g de la prise d'essai.

Ia : Valeur d'indice d'acide

L'indice de saponification (Is) est déterminé à partir de Ie et Ia

C. Indice d'iode (Ii)

L'indice d'iode est la quantité d'iode susceptible d'être fixée par 100g de substance, par la rupture de la double liaison. Les deux atomes d'iode se fixent sur les deux carbones voisins.



.0.5g d'H.E, 10ml de tétrachlorure de carbone (CCl₄) et 12.5ml d'une solution d'iode (1N) sont mis dans un erlenmeyer. Ensuite, le mélange est laissé à l'abri de la lumière pendant 2h. Au terme de cette durée, 10 ml d'une solution d'iodure de potassium (KI) à 50% et 20ml d'eau distillée sont ajoutés.

L'excès d'iode est titré par une solution de thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃) 0,1 N, en présence d'empois d'amidon.

Dans les mêmes conditions que précédemment, un essai à blanc est réalisé. L'indice d'iode est calculé selon la relation ci-dessous:

$$I_i = N_T \frac{(V_0 - V_1)}{m}$$

Dont :

N_T: Normalité de la solution de thiosulfate de sodium.

V₀: Volume en ml de la solution de Na₂S₂O₃ utilisée pour l'essai à blanc.

V₁: Volume en ml de la solution de Na₂S₂O₃ utilisée pour la détermination de Ii.

m : Masse en g de la prise d'essai.

I.2.3. Activités biologiques

I.2.3.1. Activité antioxydante

- Piégeage du radical libre DPPH

Pour étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits, nous avons retenu la méthode qui utilise le DPPH[•] (diphénylpicryl-hydrazyl) comme un radical libre, selon le protocole décrit par (Takao *et al.*, 1994) et (Licina *et al.*, 2013).

Pour cette évaluation, deux approches sont appliquées : d'une part, la détermination du pourcentage d'inhibition et d'une autre part la détermination de la réduction relative du radical DPPH à un temps de référence ou la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH.

-Principe

Cette méthode est basée sur la réduction d'un radical libre très stable : le 2,2'- Diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH) [•] en présence d'un antioxydant donneur. Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène.

La réduction du radical libre (DPPH) par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence d'un donneur d'hydrogène (Burit et Bucar, 2000).

Le DPPH est initialement violet, il se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie (Figure 11).

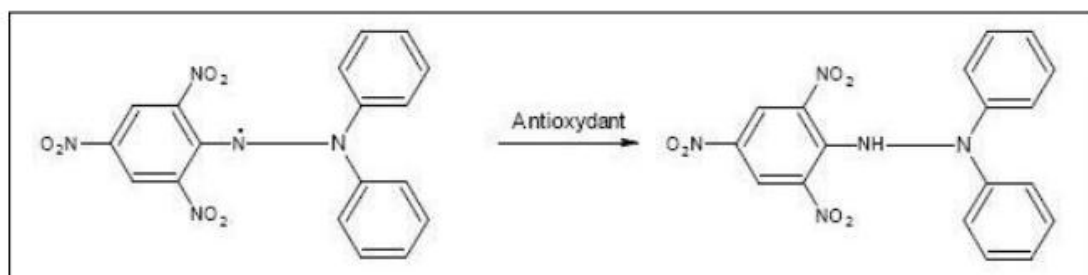


Figure 11 : Réduction du radical libre DPPH (Molyneux, 2004)

La solution mère de l'extrait est préparée dans le méthanol à une concentration de 200 mg/10ml. Des dilutions sont réalisées de façon à avoir des concentrations qui varient entre 1 et 14mg /ml. 1ml de l'extrait en solution sont ajoutés à 2 ml de DPPH.

La lecture de l'absorbance est faite à 517 nm après 15 mn d'incubation dans l'obscurité. Un blanc constitué de 1 ml de méthanol et 2 ml de la solution de DPPH. La vitamine C (acide ascorbique) est utilisée comme control positif. La solution radicalaire de DPPH est préparée fraîchement.

L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité anti-radicalaire en pourcentage ou l'absorbance du mélange réactionnel qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant est reliée avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) suivant cette relation :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs Control}} \times 100$$

Abs control : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai). Abs échantillon : Absorbance du composé d'essai. Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence dans notre expérience c'est l'acide ascorbique (Vitamine C).

I.2.3.2. Calcul des IC₅₀

Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la concentration effective EC₅₀ ou IC₅₀. Ce paramètre IC₅₀ est défini comme étant la concentration d'extrait nécessaire qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. L'IC₅₀ est calculée graphiquement par la régression linéaire de graphe tracé ; pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (Molyneux, 2004).

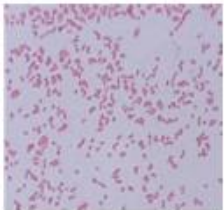
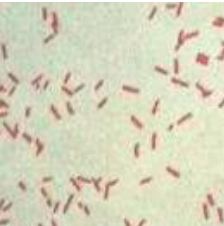
I.2.3.3. Activité antibactérienne


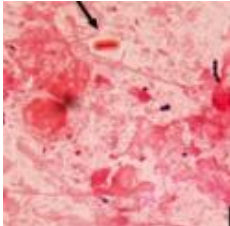
A. Support bactérien

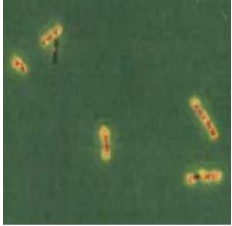
L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle *Cymbopogon schoenanthus* été évaluée sur cinq souches bactériennes Ces souches sont : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria*

innocua CLIP 74915, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Salmonella enterica* ssp .*Arizonae* CIP 81-3 et *Klebsiella pneumoniae* ATTCC 700603. Les souches bactériennes apportée à l'hôpital HAKIM SAADAN -BISKRA (Tablesau 03).

Tableau 03 : Les souches bactériennes utilisées

Aspect microscopique	Taxonomie	Description
<p>ATCC: 25922</p>  <p>Photo 02: Aspect microscopique (×40) de <i>Escherichia coli</i> (SAHED, 2016)</p>	<p>Règne : <i>Bacteria</i> Classe : <i>Gamma Proteobacteria</i> Ordre : <i>Enterobacteriales</i> Famille : <i>Enterobacteriaceae</i> Genre : <i>Escherichia</i> Espèce: <i>Escherichia coli</i> (Kadji, 2015)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Bacilles à Gram négative. •Aero-anaérobie facultative. •Une longueur 2 à 3 µm et d' une largeur de 0.5 µm. •Hôt de la flore intestinale de l'homme et des animaux. • La température optimale 44°C.
<p>ATCC:27853</p>  <p>Photo 03: Aspect microscopique (×40) de <i>Pseudomonas</i></p>	<p>Règne: <i>Bacteria</i> Classe: <i>Gammaproteobacteria</i> Ordre: <i>Pseudomonadales</i> Famille: <i>Pseudomonadaceae</i> Genre: <i>Pseudomonas</i> Espèce: <i>aeruginosa</i> (Elmeskini, 2011)</p>	<ul style="list-style-type: none"> •Une bacille à Gram négative ubiquitaire. •Non fermentaire, aérobie stricte. •Non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. •Il mesure de 1à 5 µm de long et de 0,5 à 1 µm de large. •Présent notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques. •La température optimale de croissance

Aspect microscopique	Taxonomie	Description
<p><i>aeruginosa</i> (Bouamer et Guerbati, 2008).</p>		<p>se situe entre 30 et 37°C</p> <ul style="list-style-type: none"> • Possède un flagelle monotriche polaire. (Elmeskini, 2011)
<p>CIP 81-3</p>  <p>Photo 04 : Aspect microscopique (×40) de <i>Salmonella enterica ssp. Arizonae</i> (Atba, 2016).</p>	<p>Règne: <i>Bacteria</i>. Classe : <i>Gammaproteobacteries</i>. Ordre : <i>Enterobacteriales</i>. Famille : <i>Enterobacteriaceae</i>. Genre : <i>Salmonella</i>. Espèce : <i>Salmonella enterica</i> (Belabid, 2014)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Une bacille à Gram négative. • Une caractéristique aéroanaérobies facultatifs. • 0,3 µm à 1 µm de large et longs de 1 à 6 µm. • présente dans l'intestin des animaux. • La température optimale de croissance se situe entre 35 et 37°C. • Mobiles grâce à une ciliature péritriche (Harizi, 2009).
<p>ATCC:700603</p>  <p>Photo 05 : Aspect microscopique (×40) de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Torres, 2012).</p>	<p>Règne: <i>Bacteria</i> Classe : <i>Gamma Proteobacteria</i> Ordre : <i>Enterobacteriales</i> Famille : <i>Enterobacteriaceae</i> Genre : <i>Klebsiella</i> Espèce : <i>Pneumoniae</i> (Torres, 2012).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Bacilles à Gram négative. • Aero-anaérobies. • 0.3 à 1.0 µm de diamètre sur 0.6 à 6 µm de longueur. • Présente dans les eaux de surface, des effluents industriels, du sol, du bois, et de végétaux divers (Sekhri, 2011).

Aspect microscopique	Taxonomie	Description
<p>CLIP 74915</p>  <p>Photo 06 : Aspect microscopique (×40) de <i>Listeria innocua</i> (Bovil et al.,1994)</p>	<p>Régne: <i>Eubacteria</i> Classe: <i>Bacilli</i> Ordre: <i>Bacillales</i> Famille: <i>Listeriaceae</i> Genre: <i>Listeria</i> Espèce: <i>innocua</i> (Kaouache, 2011).</p>	<ul style="list-style-type: none"> •Petit bacille à Gram positif. •Régulier, non sporulant, de 0,4 à 0,5 de μmdiamètre sur 0,5 à 2 μm de longueur. •Toujours mobile à 20- 28° C. •Se développent bien sur les milieux usuels. •Aero-anaerobique (Euzeby, 2000).

B. Tests d'activités antimicrobiennes

Les tests d'activités antimicrobiennes sont réalisés par la technique par contact direct (méthode de diffusion sur milieu gélosé).

B.1. Principe de l'antibiogramme

L'antibiotique présent dans le disque migre dans la gélose qui a étéensemencée par la souche bactérienne à étudier. Il se forme une zone circulaire autour du disque de gélose imbibée d'antibiotique dont la concentration décroît quand on s'éloigne du disque. Dans cette zone, la croissance des bactéries est ou n'est pas inhibée par la concentration d'antibiotique à

laquelle elles sont soumises. Les bactéries qui peuvent se multiplier forment des colonies visibles à l'œil nu après quelques heures de développement.

B.2. Préparation des boîtes de gélose

- Préparation zone stérile

- Désinfecter la paillasse à l'eau de javel diluée
- Utiliser un bec bunsen ou un bec électrique pour réaliser une zone stérile.

- Fusion de la gélose

- Réchauffer le contenu des bouteilles de Mueller Hinton :

Couler la gélose dans les boîtes organisées dans la zone stérile limitée aux 15 cm autour du bec. (20 à 25 ml par boîte soit une hauteur de 3 à 4 mm) Laisser refroidir couvercle entre-ouvert pour éliminer la vapeur d'eau. Une fois solidifiées, les boîtes de gélose peuvent être stockées quelques jours au réfrigérateur (couvercle vers le bas).

Cette méthode consiste à déposer des disques de papiers filtres imprégnés d'huile essentielle sur la surface des gélosesensemencées par le germe à tester et de mesurer les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation de 24 h à 37° C.

Les disques de papiers chromatographiques de 6 mm de diamètre, préalablement stérilisés sont déposés à la surface de géloseensemencée après avoir été chargé de 5 µl d'huile essentielle on utilise des témoins négatifs utilisant uniquement des disques placés sur gélose inoculée sans huile essentielle.

I.9.2.3. Choix des antibiotiques utilisés

Selon la recommandation du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**Casfm, 2012**), le choix des antibiotiques testés sur les différentes souches bactériennes isolées, repose d'une part, sur l'identification du genre et son profil habituel vis-à-vis des antibiotiques et d'autre part sur le spectre d'activité de chaque antibiotique. Dans notre travail les disques d'antibiotiques, utilisés pour les essais de diffusion sur disque, sont l'ampicilline, la gentamicine, Céfixime ont été sélectionnés selon leur disponibilité.

I.9.2.4. Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque souche.

Le diamètre de la zone d'inhibition exprimé en (mm) autour de chaque disque, la lecture des résultats est faite comme suit (**Djabou *et al.*, 2013**).

- Résistante (-) : diamètre ≤ 8 mm
- Modérément sensible (+) : diamètre compris entre 8 et 14mm.
- Sensible (++) : diamètre compris entre 14 et 20mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

Chapitre II

Résultats et discussion

II.1. Rendement d'extraction

Selon **Afnor (2000)** les huiles essentielles sont habituellement liquides à la température ambiante et volatiles. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieur à celle de l'eau. Les résultats de rendement de l'extraction sont illustrés dans le tableau 3.

Tableau 04: Rendement des H.Es obtenus par hydrodistillation

Plante	Rendement %
<i>Cymbopogon schoenanthus</i>	2

Le rendement de huile essentielle a été calculé par rapport le poids de la plante séchée utilisée (*Cymbopogon schoenanthus*) et leur valeur est d'environ 2%.

khadri et al, (2008), trouve avec la même plante un rendement presque 2,1% mais **khare (2007)** montre un rendement plus faible égal à 0,8%.

Akrouit et al, (2010) ont expliqué que le rendement varie selon le type, et dans le même type varie considérablement et dépend de l'emplacement et la séparation géographique et la saison de récolte. Ceci montre que certains facteurs tels que: la nature du sol, le climat, la qualité de la matière végétale utilisée peuvent influencer la sécrétion des huiles essentielles chez une plante.

II.2. Caractéristiques organoleptiques

A la lumière des résultats obtenus, on trouve que l'HE obtenue est de couleur jaune avec une odeur prononcée. Les paramètres organoleptiques de notre HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR (tableau 4).

Tableau 05: Propriétés organoleptiques de l'HE *Cymbopogon schoenanthus*

Paramètre	AFNOR	<i>Cymbopogon schoenanthus</i>
Aspect	Liquide mobile, limpide	Liquide
Couleur	Jaune ambré à jaune verdâtre	Jaune blanche
Odeur	Rosé, menthée	Rosée

II.3. Caractéristiques physico-chimiques

II.3.1. Propriétés physiques

Les méthodes physiques d'examen pour l'analyse des huiles essentielles s'attachent surtout à la détermination de la densité, l'indice de réfraction et la miscibilité à l'éthanol (Afnor, 2000). Les résultats de ces paramètres sont consignés dans le tableau 5.

Tableau 06 : Caractéristiques physiques des H.Es puisées dans littérature

Propriété Physique	PH	d_{20}	n^{20}	Miscibilité à l'éthanol
H.Es	7.4	0.8575	1.482	1V/3.2

Les résultats obtenus des analyses physicochimiques indiquent que l'échantillon analysé se trouve dans les fourchettes de référence établies par les normes Afnor. Selon **Gildo (2006)**, ces paramètres physicochimiques sont influencés par les conditions édaphiques et climatiques ainsi que les conditions de culture des plantes ; cela fait partie aussi de la complexité de la notion de chémotype. D'après les résultats mentionnés dans le tableau 5, on constate que :

Les huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* est basique (PH>7). Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et biochimiques et peut influencer les propriétés stabilisatrices d'une huile essentielle (effets antioxydant et antimicrobien). Par conséquent, ce résultat peut amener à un bon caractère stabilisateur contre les microorganismes ; ce qui permettra à ces H.Es de jouer le rôle insecticide. Sachant que la densité est parmi les caractéristiques physiques généralement utilisées dans la classification des huiles essentielles. Mais elle ne peut pas être utilisée seule

pour l'identification des huiles. Selon **Afnor NFT 75.11** Si on désire obtenir la masse volumique des huiles essentielles, il faut multiplier la densité relative par la masse volumique de l'eau $m(\text{eaux}) = 0.99823 \text{ g/ml}$.

Les résultats de notre huile essentielle sont inférieurs à celle de l'eau, est conforme à les normes proposés par AFNOR. L'indice de réfraction dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acides, de leurs degrés d'insaturation et de la température. Il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé.

L'indice de réfraction obtenu est de l'ordre 1.482. Il appartient à l'intervalle mentionné par les normes françaises des huiles essentielles.

Pour certains auteurs, le faible indice de réfraction de l'huile essentielle indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques (**Chouitah, 2012**).

La miscibilité à l'éthanol 90% est d'un volume d'huile essentielle pour trois volumes d'éthanol. Ces valeurs sont indiquées par les normes françaises (**Afnor, 2000**), qui veut dire que l'H.E est soluble.

II.3.2. Propriétés chimiques

Pour obtenir des données sur la composition et le degré de pureté des huiles essentielles, il est nécessaire d'étudier plusieurs paramètres chimiques, (**Afnor, 2000**).

Nous avons de même regroupé les propriétés chimiques de H.E également dans le tableau 6.

Tableau 07 : propriétés chimiques d'essence étudiée

Propriétés chimiques	I_a	I_e	I_i	I_s
Valeur	1.12	12.90	0.14	14.25

D'après le tableau 06, on remarque que pour les constantes chimiques, l'indice d'acide donne une idée sur le taux d'acides libres. Dans notre étude, cet indice, certes dans les normes, demeure relativement élevé. Cela peut trouver une explication dans la dégradation de l'HE

(hydrolyse des esters) durant sa conservation, ce qui est à terme préjudiciable. Inversement, un indice d'acide inférieur à 2 est une preuve de bonne conservation de l'essence (faible quantité d'acides libres). L'indice d'ester de l'H.E possède un indice plus faible, et pour l'indice d'iode est lié à l'état d'instauration des chaînes carbonées dans nos H.Es. Les valeurs d'indice d'iode sont dans la fourchette (74-94g d'I₂/100g) Norme C.O.I, donc on peut dire que cette huile est présente une valeur plus inférieure à la norme ce qui implique qu'elle est facilement altérable.

Par ailleurs, l'indice de saponification permet de caractériser le poids moléculaire et la longueur moyenne des chaînes grasses auxquelles il est inversement proportionnel (**Harper A.H., 1997**). Selon **norme C.O.I.** l'intervalle de l'indice de saponification est (184-196), les résultats de huile *Cymbopogon schenanthus* est exclue de l'intervalle donné par le norme de conseil oléicole international. Ce qui permet de dire qu'elle a un poids moléculaire de la longueur d'acide gras élevé.

La détermination des propriétés physico-chimiques (densité, indice d'acide, indice de réfraction et indice d'ester ...) est une étape nécessaire mais non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Il est donc nécessaire de la compléter par des analyses chromatographiques : GC/SM, ces dernières, sont souvent utilisées comme moyen analytique complémentaire pour l'analyse structurale des substances volatiles, elles ont été employées pour identifier qualitativement les huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*.

II.4. Activités biologiques

II.4.1. Activité antioxydante

La capacité de donation des électrons par les huiles essentielles est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique, en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH + (1,1-Diphenyl-2 picrylhydrazyl et apparence la couleur jaune.

Après avoir mesuré la densité optique d'huile essentielle et de l'acide ascorbique en utilisant le spectrophotométrie UV-visible, les résultats obtenus sont organisés en courbes standards et après calcul du taux d'inhibition I%, de l'échantillon (Figure 12) et de témoin (Figure 13) ; nous avons trouvé qu'ils étaient équivalents:

H.Es: $y=3.143x+646$ $R^2=0.977$

Acide ascorbique : $y=2050x-17.836$ $R^2=0.956$

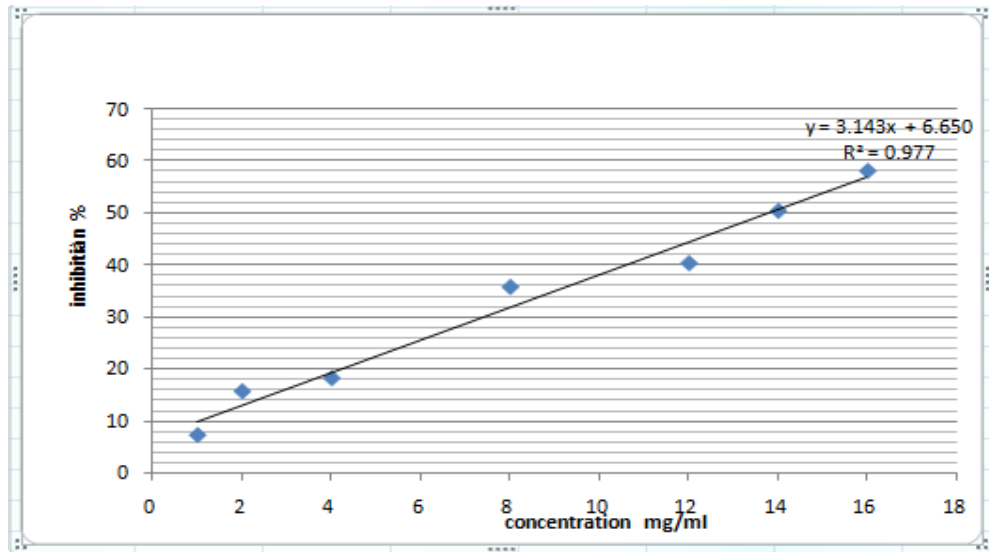


Figure 12 : Courbe d'étalonnage de DDPH de H.Es

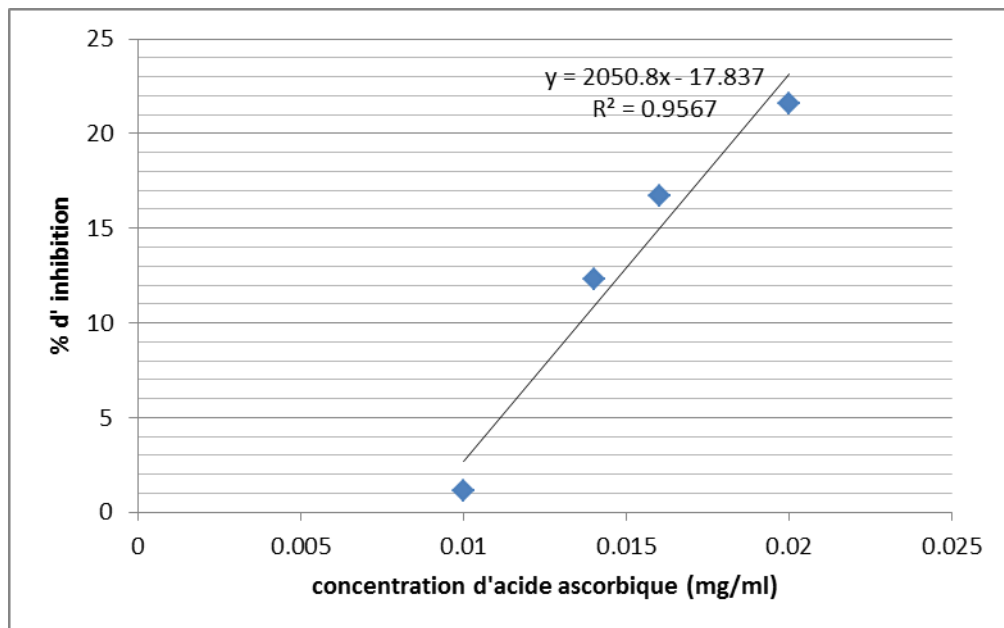


Figure 13 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

Les résultats semblent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* ; où sa concentration 16 mg/ml qui donne la meilleure activité antioxydante comparé à d'autres concentration, quand à la concentration 1mg/ ml l'activité antioxydante était aussi faible que 7.13 %.

L' IC_{50} est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (tableau 7) et figure 14.

Tableau 08 : Valeur de IC_{50} de DDPH et acide ascorbique

	H.Es	Acide ascorbique
IC_{50} mg/ml	13.79	0.03

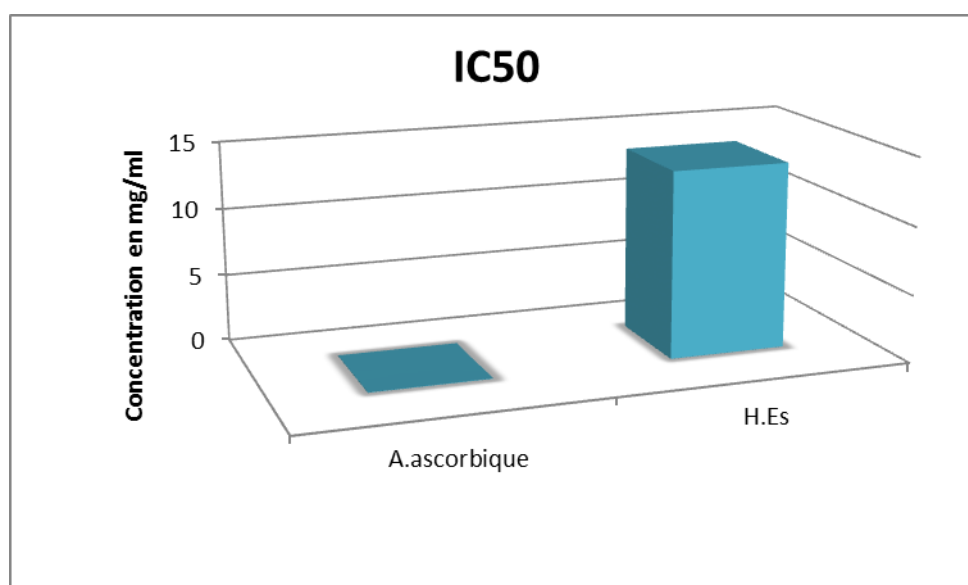


Figure 14 : Valeur de IC_{50} de l'acide ascorbique et H.Es

Benknatha, (2014), montre que plus la valeur de IC_{50} est forte, plus l'efficacité antioxydant est faible.

En comparant IC_{50} de H.Es, qui est égal à 13.79 avec la valeur de IC_{50} de l'acide ascorbique qui est égale 0.03, on trouve que l'efficacité antioxydante de H.Es est plus

inférieure à celle de l'acide ascorbique, cela indique que le pouvoir antioxydant de H.Es de *Cymbopogon schoenanthus* est faible.

Des travaux similaires réalisés par **khadri et al., (2008)** trouvent que IC_{50} de l'extrait méthanolique était estimée à 17,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dans une étude menée sur la même plante.

La différence d'activité antioxydante entre les échantillons s'explique par le comportement du proton et de l'électron (**Miliauskas et al., 2004**).

De nombreux chercheurs ont montré que la capacité inhibitrice des composés végétaux sur la racine de DDPH a une relation significative avec la structure chimique, et l'efficacité antioxydante de ces extraits peut être liée à leur composition en composés, l'efficacité de ces composés dépend du nombre de groupes hydroxyles associés à l'anneau aromatique (**Debouba et al., 2012**).

II.4.2. Activité antibactérienne

En utilisant la méthode de diffusion sur disque dans le milieu de gélose ; Afin de détecter l'effet de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* et des antibiotiques en parallèle sur plusieurs souches bactériennes appartient également au Gram + et Gram -. Les résultats obtenus sont illustrés dans les tableaux 8 et 9 (Sachant que le diamètre de zone d'inhibition compris le diamètre de disques utilisés égale 6mm).

Tableau 09 : Zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes gram (-) testés en fonction des différents concentrations d'HEs.

Les concentrations Les bactéries	25%	50%	75%	100%
<i>Escherchia coli</i>	7.1	8.8	9.5	10.1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	12.3	16	17.2
<i>Salmonella enterica</i>	6	6	6.1	6.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6	7.3

Tableau 10 : Zones d'inhibition (mm) de souche bactérienne gram (+) testé en fonction des différents concentrations d'HEs.

Les concentrations Les bactéries	25%	50%	75%	100%
<i>Listeria innocua</i>	9.2	12.2	15	15.7

Selon les tableaux ci-dessus, on observe que toutes les souches testées sont sensibles aux huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* à une concentration pure, par contre, dans les concentrations diluées, l'activité était variée, plus la concentration est faible, moins le diamètre de l'inhibition (figure 15).

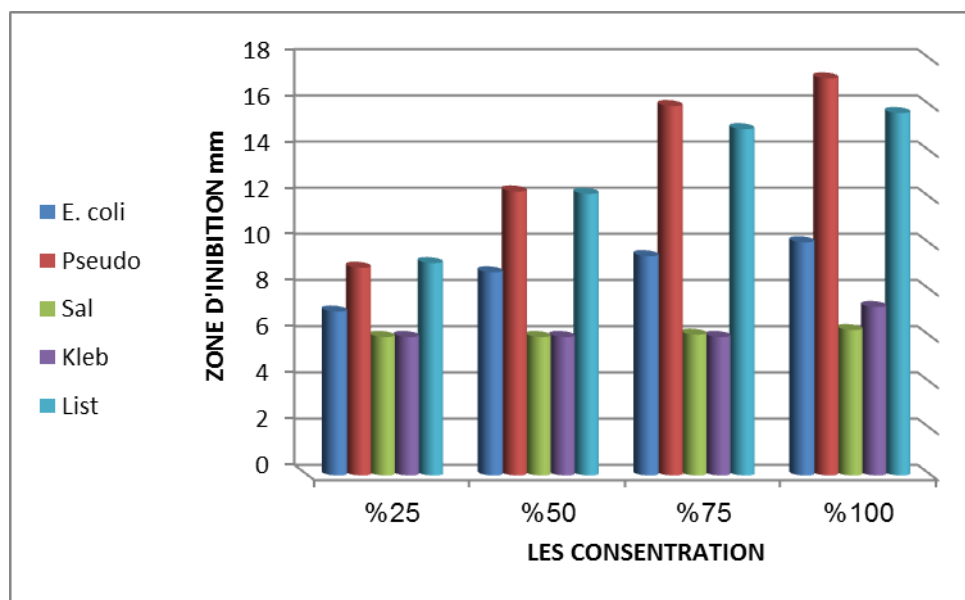


Figure 15 : Zones d'inhibition (en mm) des souches bactériennes testées en fonction de différentes concentrations d'huile essentielle

D'après tous les résultats, nous pouvons dire que l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* possède une capacité antimicrobienne faible contre les souches bactériennes testées. Ce résultat est équivalent à ceux trouvés par *Koba et al, (2004)*. Ils ont prouvé la faiblesse de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*, où cette faible efficacité est due probablement aux pertes des composés volatils de l'huile essentielle durant le stockage et/ou l'extraction.

Hashim et al, (2016) a étudié l'activité antibactérienne d'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* et ils ont trouvé que la souche de *Klebsiella pneumoniae* sensible à ce l'huile essentielle avec une zone d'inhibition de 14mm, mais dans notre étude *Klebsiella pneumoniae* possède une résistance contre notre huile.

Da Silva et al, (2018) a étudié la composition chimique et l'activité antibactérienne de huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et *Cymbopogon flexuosus* et ont trouvé que la souche de *E.coli* possède des zones d'inhibition (2.7mm et 4.5mm) respectivement. Alors c'est plus petit que ce que nous avons trouvé dans notre étude sur l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*.

Hussein (1990), ont montré que les bactéries à Gram positifs résistent mieux aux huiles essentielles, que les bactéries à Gram négatifs, ce qui est contraire aux résultats trouvés par **Inouye et al. (2001) cité par Bousbia (2011)**, et montrent que les bactéries à Gram positifs sont généralement plus sensibles aux huiles essentielles que celles à Gram négatifs. De plus, parmi les bactéries Gram positifs une plus grande résistance a été décelée pour celles qui produisent de l'acide lactique.

Bien qu'il soit généralement connu que les bactéries Gram négatif sont légèrement plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries Gram positives (**Moussa et al., 2012 cité par Hashim et al., 2016**). Ce n'est pas toujours vrai. Par exemple, dans une étude de **Deans et Ritchie (1987)**, cinquante huiles essentielles disponibles dans le commerce ont été testées contre 25 genres, et aucune différence de sensibilité n'a été trouvée entre micro-organismes Gram-négatifs et Gram-positifs (**Hashim et al., 2016**).

Bari et al, (2010) cité par Bouguerra (2012) ont confirmé la grande résistante des bactéries Gram-négatifs par rapport aux ce Gram-positifs constat peut être dû à l'action de certains composés volatiles de l'huile essentielle étudiée d'une part et à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries Gram-négatifs qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrant d'autre part (**Inouye et al., 2001; Bagamboula et al., 2004 ; Upadhyay et al., 2010 cité par Bouguerra, 2012**).

Chez les bactéries à Gram positifs, le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales exposées et à des structures polysidiques (acides lipoteichoïques et acides teichoïques) (**Labio, 2016**).

La membrane externe des bactéries gram positifs est très chargée, elle agit comme une barrière aux huiles essentielles (**Chouitah, 2012**).

Dans ce travail, les huiles essentielles testées sur les différentes bactéries à Gram positifs et négatifs ont montré une action légèrement variable. Et a montré que les HES de *Cymbopogon schoenanthus*, semblaient être préférentiellement plus actives sur les Gram négatifs, tout en exerçant une activité inhibitrice plus grande contre *Pseudomonas aeruginosa*. Notre résultat est conforme à ce que (**EL-Kamali et EL-amir, 2010**).

Les auteurs ont conclu est que le mécanisme d'action sous-jacent des huiles essentielles causée par l'inhibition de la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des polysaccharides dans les cellules fongiques et bactériennes (**Kalemba et Kunicka, 2003 cité par Hashim et al., 2016**).

Généralement, les antibiotiques ont une grande efficacité contre les bactéries. Mais l'effet de notre échantillon est considéré parfois plus efficace que l'antibiotique de référence et ce pour *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella enterica*.

Cette étude est confirmé les propriétés anti bactériennes de huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* donc, trouvé une application possible dans les traitements des différentes maladies qui provoque par ces bactéries.

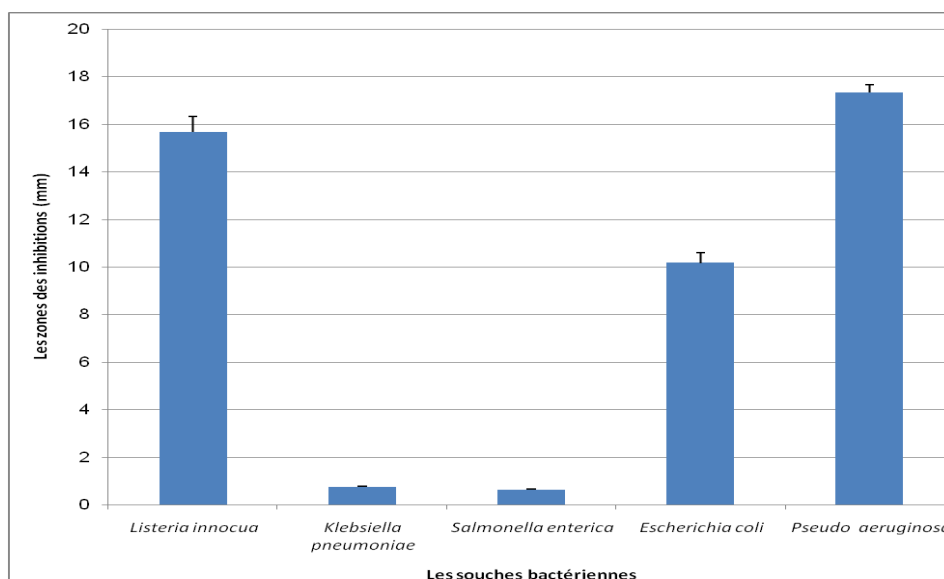


Figure 16 : Les zones des inhibitions des bactéries à une concentration pure.

La figure 16 présente la comparaison entre les valeurs de moyennes de diamètres des zones des inhibitions des bactéries (*Escherchia .coli*, *salmonella*, *Klebsiella pneumoniae* et *listéria innocua*) avec *Pseudomonas aeruginosa* à la concentration 100% (pure).

Les résultats des analyses statistiques se fait en utilisant minitab (tableau 11)

Tableau 11 : les valeurs des probabilités des souches bactériennes

Bactéries	<i>Escherchia coli</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Listeria innocua</i>
Probabilités (P)	0.007	0.000	0.000	0.199

Lorsque la valeur de (p) est inférieur à 0.05, donc il y a une différence significative ; Si la valeur de (p) supérieure à 0.05 il n ya pas une différence significative.

D'après le tableau 11, on observe que les souches *Escherchia coli*, *Salmonella enterica* et *Klebsiella pneumoniae* possèdent une différence hautement significative mais pour la souche *Listéria* il n'existe plus de signification.

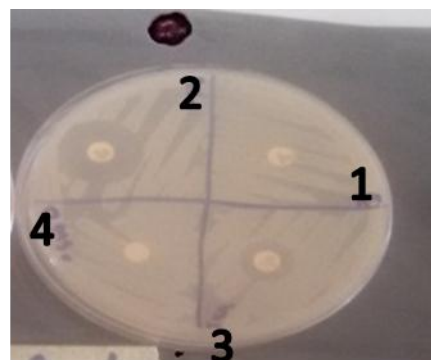
Concernant les antibiotiques utilisés, on constate que Toutes les souches se sont révélées sensible à la gentamicine avec des diamètres de zone d'inhibitions variés, dont la plus grande enregistrée sur *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'environ de 29.6mm, et la plus petite est de 18.33mm enregistré sur *Salmonella enterica*. Et aussi sensible à la Céfixime, de telle façon que la plus grande diamètre est de 27mm enregistrée sur *Escherchia coli*, et la plus petite est de 11mm enregistré sur *Pseudomonas aeruginosa* (tableau 12).

Ampicilline, n'agit que sur *Escherchia coli* avec diamètre de 23mm.

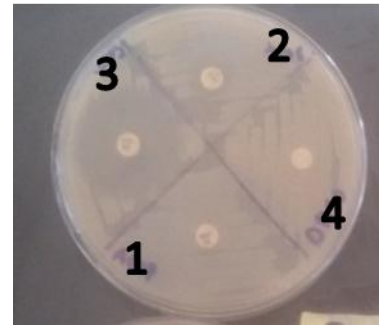
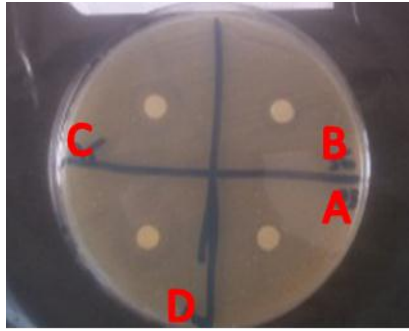
Par ailleurs, le témoin négatif utilisé (DMSO) n'a pas marqué des zones d'inhibition avec toutes les souches bactériennes (tableau 12).

Tableau 12: Zones d'inhibition (mm) des souches bactériennes testées en fonction des déférents ATB et DMSO.

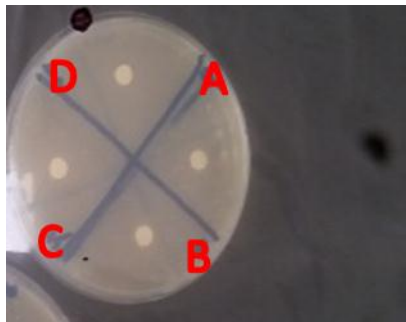
Les bactéries Les témoins	<i>Escherchia coli</i>	<i>Pseudo monas aeruginosa</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Listeria innocua</i>
AMP	23	0	0	0	45
GEN	29.5	29.6	18.33	21	23
CFM	27	11	24	13	25
DMASO	0	0	0	0	0



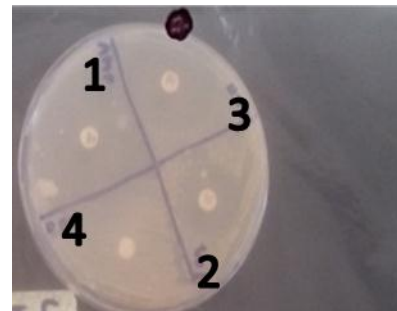
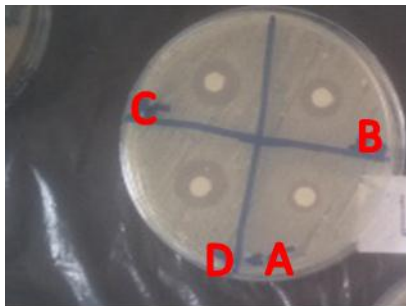
Klebsiella pneumoniae



Pseudomonas aeruginosa



Salmonella enterica



Listeria innocua



Escherichia. Coli

Photo 07: Zones d'inhibition de déférence concentrations de H.Es sur les souches bactériennes et les ATB et DMSO.

A: 25% B: 50% C: 75% D: 100%

1: AMP 2: CFM 3: G 4: DMSO

D'après les courbes illustrés dans les figures 17, 18, 19, 20 et 21et selon coefficient de corrélation linéaire de Bravais Pearson (**Zarrouk, 2012**).

Est nul ($r = 0$) lorsqu'il n'y a pas de relation linéaire entre les variables varie entre -1 et +1 sera donc forte.

Toutes les valeurs R^2 des courbes proches de +1 donc montre une forte liaison entre les deux caractères (les concentrations utilisés et les zones d'inhibition obtenus). La relation linéaire est ici croissante (c'est-à-dire que les variables varient dans le même sens).

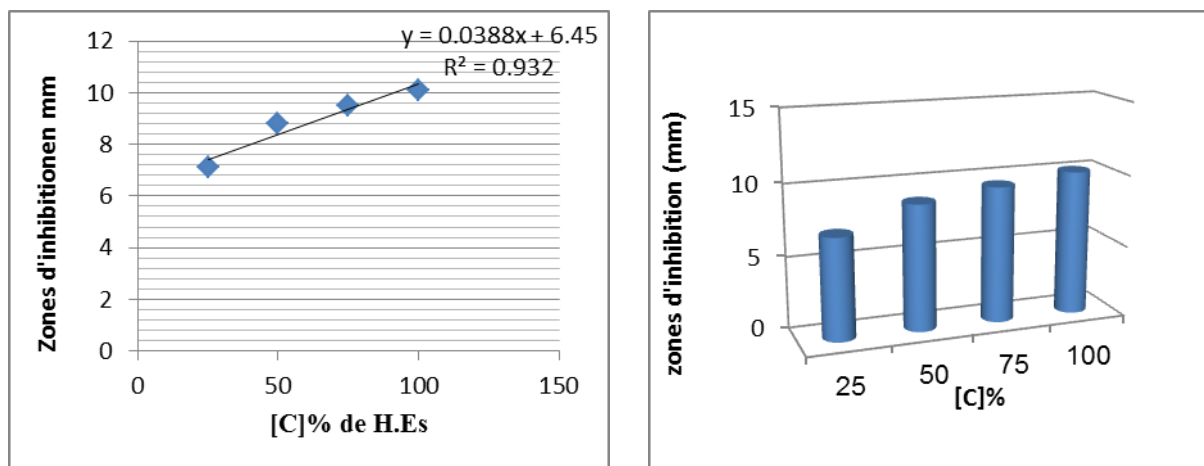


Figure 17 : Test de corrélation de H.E de *Cymbopogon schoenanthus* vis-à-vis la souche *Escherchia.coli*.

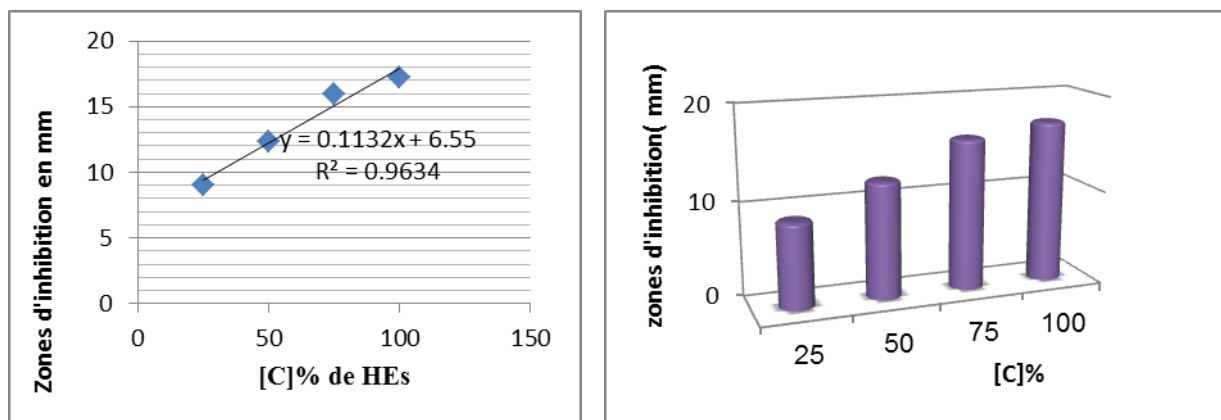


Figure 18 : Test de corrélation de H.E de *Cymbopogon schoenanthus* vis-à-vis la souche *Pseudomonas aeruginosa*

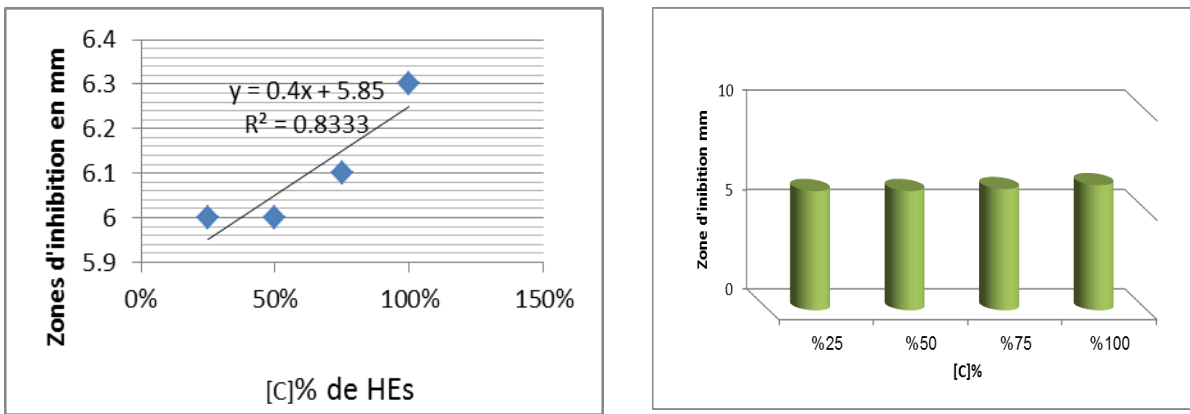


Figure 19: Test de corrélation de H.E de *Cymbopogon schoenanthus* vis à vis la souche *Salmonella enterica ssp. Arizonae*

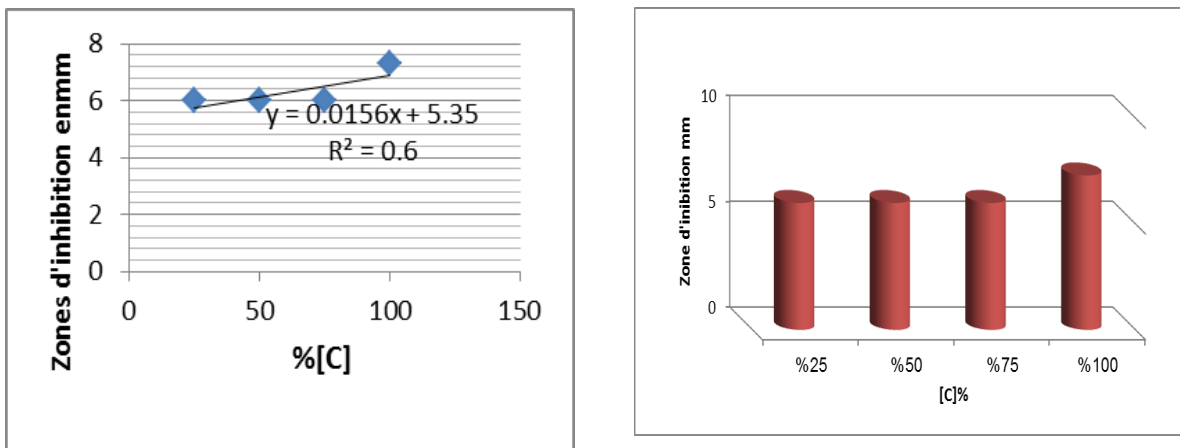


Figure 20 : Test de corrélation de H.E de *Cymbopogon schoenanthus* vis à vis la *Klebsiella pneumoniae*

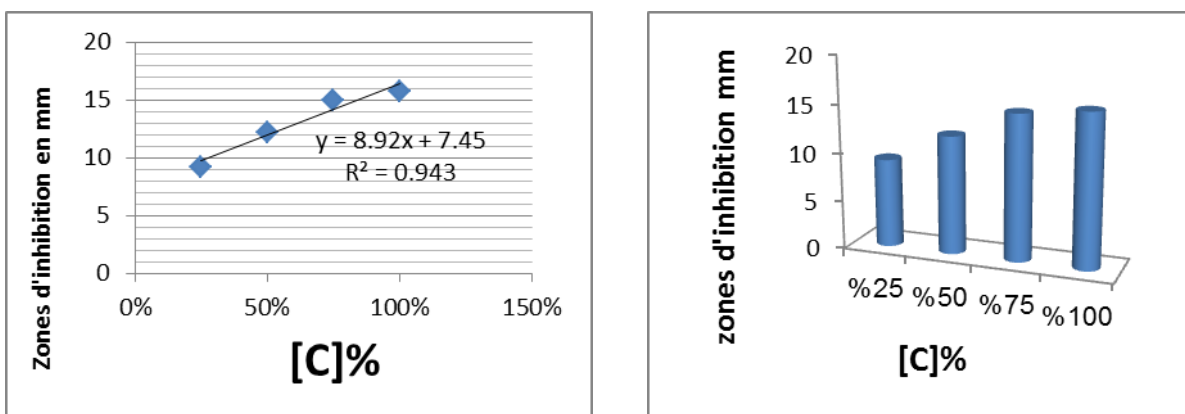


Figure 21 : Test de corrélation de H.E de *Cymbopogon schoenanthus* vis à vis la souche *Listeria innocua*

Conclusion

L'exploitation du potentiel biologique des espèces végétales revêt un intérêt important, ainsi les nouvelles démarches consistent à s'intéresser à la recherche des principes actifs dans les produits naturels d'origines végétales.

Dans le but de la valorisation d'une de plante de la famille Poaceae, une des familles les plus importantes dans la flore de l'Algérie, issue de la région de Ghardaïa, en l'occurrence *Cymbopogon schoenanthus*, nous avons effectué un travail permettant pour contribuer à la mise en évidence de l'extraction et la caractérisation des huiles essentielles.

En raison de la richesse de la plante en huiles essentielles, nous avons fait l'extraction des huiles principales de l'usine en utilisant une méthode de l'eau Hydro distillation en utilisant un dispositif clivenger, où nous avons obtenus un rendement presque 2% qui est considéré comme un bon rendement. Par ailleurs, les résultats de l'activité antioxydante de l'huile essentielle végétale en utilisant le test DDPH et fait la comparaison avec l'acide ascorbique comme standard, montrent que IC₅₀ pour l'huile essentielle était égale 13.74 mg/ml tandis que pour l'acide ascorbique était égale 0.03 mg/ml. Par conséquent, nous avons constaté que l'efficacité antioxydante d'huile essentielle était significativement inférieure à celle de l'acide ascorbique, ceci qui confirme que l'efficacité antioxydante de la plante est faible par rapport à l'acide ascorbique.

En parallèle, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle en utilisant la méthode de diffusion des disques vis-à-vis cinq souches bactériennes différentes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica ssp*, *Klebsiella pneumoniae* qui sont considéré comme des bactéries Gram- et *Listéria innocua* qui est considéré comme Gram+. où les résultats ont montré que l'huile essentielle a un effet inhibitrice sur la croissance et la propagation de ces souches bactériennes car cet effet varie selon le type de souche et la concentration utilisée, dans les différents concentrations 100%, 75% 50% et 25% , et on conclu que la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* possède la plus grande sensibilité à l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* exprimée avec un diamètre d'inhibition de 17.2 mm. Pour la souche bactérienne *Escherichia coli*, nous constatons que la sensibilité est estimée être modérée à différentes concentrations 100%, 75% et 50% avec des zones d'inhibition de 6.46 mm. La souche *Salmonella enterica ssp* a une résistance complète car aucun zones d'inhibition à les concentrations 25% et 50% et C'était résistante à les concentrations 75% et 100% avec des zones d'inhibition de 6.1 mm et 6.3 mm respectivement.

Dans ce contexte, la souche bactérienne, *Klebsiella pneumoniae* possède une résistance complète car aucunes zones d'inhibition aux concentrations 25%, 50% et 75%. Par ailleurs, *Listéria innocua* est modérément sensible aux concentrations 25% et 50% avec des zones d'inhibition de 9.2mm et 12.2mm respectivement, et aussi une résistance à les concentrations 75% et 100% avec des zones d'inhibition de 15 mm et 15.7 mm respectivement.

Notre recherche est une contribution à nous valoriser des plantes du désert dans la région pour ouvrir la voie à l'investissement de la biodiversité dans le flore algérienne en générale et dans le désert en particulier, cela passe par l'identification des espèces végétales et leur environnement différent, ainsi que par la détection de leurs substances efficaces et de leurs effets, y compris l'amélioration et la modification de leur utilisation traditionnelle.

Il est évident que l'étude ne s'arrêtera pas de ce côté, mais nous allons chercher à exploiter les moyens modernes pour extraire les substances actives dans les installation et séparées et d'identifier sa structure afin de les tester sur l'homme ,des animaux et ainsi évalué, préserver et développer.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

- **Aichouchi S., Arar H., (2012).** Contribution à l'étude de l'effet antimicrobienne des huiles essentielles de *colocynthis vulgaris* (L) schrad. Mém: Microbiologie classique. Université Kasdi Merbah Ouargla, p:57.
- **Akrouit A., Eljami H., Amouri S., Neffati M., (2010).** Screening of Antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L ., *Artemisia herba alba* Asso and *Thymus capitatus* Hoff .et link Wild in the Southern of Tunisia .Recent Research in Science and Technology.Vol.2.N (1).
- Association Française de Normalisation (AFNOR) (1982). Huiles essentielles NFT
- **Atba H., (2016).** Isolement et identification des salmonelles à partir de poulets de chair et des eaux usées. Université Hassiba Ben Bouali –Chlef, p: 27.
- **Belabidm Z., (2014).** Contribution à l'étude de la contamination des ovoproduits par *Salmonella typhi* dans la région de Tlemce. Université Abou Bekr Belkaid, p:01.
- **Bencheikh S., (2017).** Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp *Aurasianum* Labiatae. Thèse de Doctorat Université kasdi merbah ouargla p :7-10.
- **Benhouhou S.S .et Saadoun N., 1986** - Contribution à l'étude de la flore de la région de béni-abbès. undergraduate thesis. University of algiers. 241 p.
- **Ben Othman M ., Han J., El omri A ., Ksouri R., Neffati M ., Isoda H., 2013** - Antistress Effects of the ethanolic extract from *Cymbopogon schoenanthus* Growing Wild in Tunisia . Hindawi Publishing Corporation :1- 9.
- **Bouamer H., Guerbati M., (2008).** Fréquence de l'otite moyenne causée par *Pseudomonas aeruginosa* dans la région d'Ouargla(Isolement, identification, antibiogramme). Université Kasdi Merbah Ouargla, p: 7.
- **Bouguerra A., (2012).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Université Mentouri, Constantine.p:68.

- **Bousbia N., (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, p:105.
- **Caillet S., Lacroix M., (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (RESALA). p : 1- 8.
- **Carson C.F., Mee B.J., Riley T.V. (2002).** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salttolerance assays and electronmicroscopy. Antimicrob. Agents Chemother., vol 46, p:1914-1920.
- **Charles P., (2014),** Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie gériatologie et soins palliatifs. Thèse de Doctorat. Université de lorraine p: 35-40.
- **Chemloul F., (2014).** Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* de la région de Tlemcen. Mémoire de Master en Agronomie p : 3.
- **Chouitah A., (2012).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Thèse de doctorat Université d'Oran p:17-18.
- **Chouitah O., (2012).** Composition chimique et activité anti bactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Université d'Oran. p: 94.
- **Cotelle N., Bernier J.L., Catteau J.P., Pommery J., Wallet J.C. & Gaydou E.M., (1996).** Antioxidant properties of hydroxy-flavones. Free Radical Biology and Medicine. P:35- 43.
- **Cyril T., (2001).** Etude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d'un modèle cinétique, université de Montréal. p:28.
- **Da Silva L.E., Gonçalves M.V., do Amaral, W., De Quadros D.A., Reis R. A., Do Amaral L. D. P., Huergo L.F. et Garcia B. (2018).** Chemical composition and antibacterial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon flexuosus* essential oils. Universida de Federal do Paraná, PR, Brasil.

- **Davidson P., (1997).** Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: M. P. Doyle, L. R. Beuchat and T. J. Montville (eds.) ASM, Washington. Food Microbiology. 520-556 p.
- **Deans, S.G., Ritchie G., (1987).** Antimicrobial Properties of Plant Essential oils. Int.J. Food Microbiol., Vol. 5, p : 165-180.
- **Desjobert JM., Bolla JM., Costa J., Berti L., Luciani A., Muselli A. (2013).** Phytochemical composition of *Corsican Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxin producing pathogens. Food Control. P : 30: 354-363.
- **Duroux J., (2003).** Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen plant extracts used in the Limousin countryside as herbal. Food and chemistry.p : 399-407.
- **El-Kamali HH., El-Amir MY., (2010).** Antibacterial activity and phytochemical screening of ethanolic extracts obtained from selected Sudanese medicinal plants. Curr. Res. J. Biol. Sci. 2(2):143-146.
- **Elmeskini K., (2011).** Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Université Mohammed V. Rabat, Maroc, p:3-4..
- **Euzeby J., (2000).** Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire.
- **Faleiro M L., M G. Miguel., (2003).** Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of Thymus, Lett Appl Microbiol vol36 p :35-40.
- **Franchomme et Penoël., (1990).** Aromatherapy for health professionals Hormonal essential oils A few essential oils..
- **Gad SCC. (2005).** Future of Natural Products: In Drug Discovery. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- **Harizi K.,(2009).** Recherche et Identification des Bactéries Pathogènes *Salmonella* et *Listeria* dans les aliments. Université de Gabés, P: 2-3.
- **Hashim G., Almasaudi S., Azhar E., Al Jaouni S., et Harakeh, S.(2016).** Biological activity of *Cymbopogon Choenantus* essential oil. Saudi Journal of Biological Sciences.

- **Hellali N., (2007).** Evaluation de quelque modes d'extraction en fonction de la composition chimique dans la plante *Cymbopogon schoenanthus (L.)* de la région de Illizi. Université Kasdi merbah, Ouargla, Algérie. p:15.
- **Hussein, A.M.S, (1990)** .Antibacterial and antifungal activities of some Libyan aromatic plants. *Planta Medica*, Vol. 56, p : 644 – 649.
- **Isman B., (2000).** Plant essential oils for pest and disease mangement.Crop Protection19.p: 603-608
- **Kadji A., (2015).** Evaluation de dangers chimique et bacteriologique des produits thonieres semi-finis fabriqués en Côte D'ivoire: cas des longues et des miettes de thon. p:32.
- **Kaouache S., (2011).** Evaluation et taxonomie numérique de la flore *Listeria* spp. Dans un environnement d'élevage bovin. Université Mentouri Constantin, p. 3.
- **Keane S. Ryan..M., (1999).** Purification. characterization, and inhibition by monoterpenoids of acetylcholinesterase from the waxmoth, *Galleria mellonella (L.)*.*Insect Biochemistry and Molecular Biology* p:29.1097–1104.
- **Khadri A., Serralheiro M.L.M ., Nogueira J.M.F., Neffati M., Smiti S ., Araújo M.E.M., (2008).** Antioxidant and antiacetylcho linesterase activities ofessential oils from *Cymbopogon schoenanthus L.* Spreng. Determination of chemical composition by GC–mass spectrometry and 13c nmr. *Food chemistry* .Vol.109 :630–637;
- **Khare C.P., (2007).** Indian medicinal plants an illustrated dictionary. Springer p:836.
- **Kiendrebeogo.,(2008).**Polyphenol content and antioxidant activity of fourteen wild edible fruits from Burkina Faso. *Molecules*, 13: 581-594.
- **Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weigand H. & Weis N., 1989.-**Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*1 p: 119-128.
- **Koba K., Sandak., Raynaud C., Nenonene, Y. A., Millet J et Chaumont J.P. (2004).** Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon sp.* africains vis-à -vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie. VOL 206.

- **LABIO R., (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calaminthanepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Université Badji Mokhtar-Annaba. p: 78.
- **Maamri T et Meddah D., (2013).**, Inventaire des orthoptères dans deux régions phoenicicoles (Ghardaïa et Ouargla). Mémoire master académique Université Kasdi Merbah Ouargla , p :104.
- **Madhavi DL., Deshpande SS., Salunkhe DK., (1996).** Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. P: 65.
- **Multon JL., Richard Molard D., and Roquebert MF., (1998).** Moisissures des alimentpeu hydrates. Lavoisier Tec&Doc, France.
- **Naouel OUIS., (2015).** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de Doctorat Université d'Oran p:30-40.
- **OZENDA P., (1991)** Flore de Sahara, (3ème édition mise à jour et augmentée), Ed C.N.R.S. Paris, p : 662 + cartes..
- **QUEZEL P., et SENTA S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertique méridionales. Ed, tome II: Paris. P: 1170
- **Randrianarivelo R. (2010).** Etude de antimicrobienne d'une plante endemique de madagascar *Cinnamosoa Fragrans* alternative aux antibiotiques en crevetticulture.Thèse Doctorat Université d'Antananarivo p: 20
- **rar H., (2012).** Contribution à l'étude de l'effet antimicrobienne des huiles essentielles de colocynthis vulgaris (L) schrad. Mém: Microbiologie classique. Ouargla. Université Kasdi Merbah, p : 57.
- **Richard F.,(1992).** Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec. & Doc. P : 1228-1242.
- **Sahed D., (2016).** Etude de l'activité antibactérienne de quelques souches des bactéries lactiques isolées du l'ben traditionnel à l'égard des souches pathogènes responsables des infections urinaires. Université A. Mira – Bejaia, p:25.

- **Scimeca, D., Tétou M.,** Votre santé par les huiles essentielles : Le guide pratique pour prévenir et guérir tous les maux quotidiennes, les huiles essentielles pour le corps l'esprit, leur mode d'utilisation, les meilleures associations, *Ed. Alpen.* 2005, p.24-26.
- **Sekhri-arafa N. (2011).** Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. Université Mentouri de Constantine. p:19-22.
- **Simon E. (1910).** Révision des Scorpions d'Égypte. Bulletin de la Société Entomologique d'Égypte, p: 57–87.
- **Torres C. (2012).**L'effet du repiquage de *Klebsiella Pneumoniae* blés sur les caractères morphologiques, biochimique et sensibilité aux antibiotiques. Université Mohammed V – Souissi- Rabat,Marroc , p: 5-6.
- **Wendakoon C.N. & Sakaguchi M., (1995.-**Inhibition of amino acid decarboxylase activity of Enterobacter aerogenes by active components in spices. Journal of Food Protection58: 280-283. which are hormonal but not neurotoxic .journal of essential oil research.vol 13 p:102-112
- **Zani F., Massimo G., Benvenuti S., Bianchi A., Albasini A., Melegari M., Vampa G., Bellotti A. & Mazza P., (1991).** Studies on the Genotoxic Properties of Essential Oils with Bacillus subtilis rec-Assay and Salmonella/Microsome Reversion Assay. PlantaMedica57: 237-241.
- **Zarrouk F., (2012).** Etude de la relation entre deux variables (le coefficient de corrélation). Cours 9 de statistiques à distance.

Annexes



Photo 02 : Photo de UV Spectrophotomètre (photo originale).



Photo 03: Appareil (Clevenger)



Photo 03: Autoclave



Photo 04: Test de miscibilité à l'éthanol



Photo 05: Balance analytique