



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique

Université de Ghardaïa

N°
d'ordre :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière: Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Par : BEN ABBES Hadjer et SLAMAT Hafsa

Thème

**Extraction et activités biologiques des huiles essentielles de
Pituranthos chloranthus Coss. & Dur. (Apiaceae)**

Soutenu publiquement le : Juin 2018

Devant le jury :

M. DIF Guendouz	Pr	Univ. Ghardaïa	Président
M. KEMASSI Abdellah	MCA	Univ. Ghardaïa	Encadreur
M. LAKHDARI Abdelhakim	MAA	Univ. Ghardaïa	Co- Encadreur
M. KHENE Mohammed Amine	MAA	Univ. Ghardaïa	Examineur

Année universitaire 2017/2018

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parentes, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.

A mon grand père et mes grandes mères.

A mes frères : Abdelhamid, Khalid, Radouane, Mounir et Abdelkader.

A mes oncles et mes tantes.

A Mes cousines et mes cousins : Saida, Laila, Massouda , Asma Fatima zohra, Hanane, Hodifa Abdelkodos, Aymane Abdelsamed... ..

A toute la famille SLAMAT

A mes amies : Asma, Fadila, Fella, Fatima zohra , Fatiha Hadjer, Haizia, Imane, Nadia,

A tous mes collègues et les amies que je n'ai pas mentionnées

SLAMAT Hafsa

Dédicace

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant pour m'avoir donné la force, la volonté, et la patience pour atteindre mon objectif

J'ai l'honneur de dédié ce mémoire a tout ceux qui sont proche à mes yeux:

A mes parents

A mes frères et sœurs

A mes amies

A tous mes collègues de biochimie appliquée

BENABBES Hadjer

Remerciements :

Au terme de ce travail, il nous est agréable de remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Nos remerciements vont particulièrement à :

- Docteur Abdallah KEMASSI A. (MCA) à la faculté des Sciences de nature et de la vie et sciences de la terre de l'université de Ghardaïa d'avoir bien voulu diriger ce travail et pour tous ses conseils fructueux et ses encouragements.

- Mr Abdelhakim LAKHDARI (MAA) à la faculté des Sciences et Technologie de l'université de Ghardaïa d'avoir co-encadré ce travail ainsi que pour ses encouragements et les suggestions scientifiques faites par nous.

- A toute l'équipe du laboratoire de microbiologie (MSAITFA ; BEN HAMOUDA. H et MOULAI) et du laboratoire de chimie (RAZZEGK.), de nos avoir soutenus et encouragés tout au long de notre travail.

- Nous adresse nos plus sincères remerciements à tous nos collègues de biochimie appliquée, écologie et l'agronomie de l'université de Ghardaïa.

-Nous adressons mes remerciements et nos reconnaissances à tous les enseignants, les personnels et nos étudiants de l'université de Ghardaïa, qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond respect et grande considération.

-Enfin, nous remercions nos proches et amis (es). Merci à nos parents. Merci de nos avoir permis d'aller aussi loin dans nos études et de nos avoir soutenu et supporté tout au long de ces années.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Principaux souches microbiennes utilisées	23
02	le rendement et les conditions expérimentales d'extraction	29
03	Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (mm)	31
04	Valeurs des concentrations d'inhibition IC ₅₀	37

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	<i>Pituranthos chloranthus</i> dans les régions sahariennes	07
02	Montage de l'hydrodistillation	15
03	Forme libre et réduite du DPPH	25
04	Diamètres des zones d'inhibition observés au niveau des lots <i>d'Escherichia coli</i> témoins et traités par les huiles essentielles <i>P.chloranthus</i>	32
05	Diamètres des zones d'inhibition observés au niveau des lots <i>de Pseudomonas aeruginosa</i> témoins et traités par les huiles essentielles <i>P. chloranthus</i>	32
06	Diamètres des zones d'inhibition observés au niveau des lots <i>de Staphylococcus aureus</i> témoins et traités par les huiles essentielles <i>P. chloranthus</i>	33
07	Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction de l'acide ascorbique (vitamine C).	35
08	Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de l'huile essentielle extraie a partir une plante fraiche	35
09	Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de l'huile essentielleextraie a partir une plante séchée à l'omber	36
10	Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de l'huile essentielleextraie a partir une plante séchée au soleil	36

Liste des photos

N°	Titre	Page
01	Fragments de <i>Pituranthos chloranthus</i> récoltés dans Oued Zelfana (Wilaya de Ghardaïa)	20
02	Dispositif d'hydrodistillation utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle de <i>P. chloranthus</i> .	21
03	Huile essentielle de <i>P. chloranthus</i> en phase de séparation	22
04	Préparation de l'inoculum	24
05	Préparations pour le test antioxydant	25
06	Sensibilité des souches microbiennes selon la méthode de diffusion sur disque	34

Liste des abréviations

L'abréviation	Le nom complet
AFNOR	Association Française de Normalisation
DMSO	Diméthyle Sulfoxyde
DO	Densité Optique
DPPH	Di phenyl Picryl Hydrazyl
Ex	Expérience
F	Fraiche
HE	Huile Essentielle
IC₅₀	Concentration Inhibitrice à 50 %.
MH	Mueller-Hinton
R	Résistant
S	Sensible
SAL	Séchée à l'ombre
SAS	Séchée au soleil
UFC	Unité Formant Colonie

Résumé-

Notre travail porte sur l'étude de l'effet de l'état et la technique de séchage de la plante *Pituranthos chloranthus* sur les propriétés biologiques des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation. L'étude vise trois points dont le rendement en huiles essentielles, le pouvoir antioxydant (test de pouvoir réducteur, DPPH) et le pouvoir antimicrobienne.

Les rendements obtenus, montrent que le séchage à l'ombre représente la meilleure technique de séchage pour cette plante; un rendement en huiles de 1,08% est noté, suivi par la plante fraîche 0,88%. Le séchage au soleil affecte négativement le rendement en huiles essentielles; un rendement de l'ordre de 0,46% est estimé.

L'activité antimicrobienne est mise en évidence par la méthode de diffusion sur disque. L'huile essentielle de *Pituranthos chloranthus* (fraîche, séchée à l'ombre, séchée au soleil) s'est avérée inactive sur la souche bactérienne testée *Pseudomonas aeruginosa*, et les souches bactérienne *Escherichia Coli* (10mm) et *Staphylococcus aureus* (11mm) qui présentent une faible sensibilité. En effet, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 10 et 11mm. On remarque également que toutes les souches microbiennes testées sont sensibles à l'antibiotique (Ampicilline) à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*.

Les propriétés antioxydants sont estimées via le test de pouvoir réducteur, DPPH. A la concentration 0,5 µg/ml, les pourcentages d'inhibition (à neutraliser le radical DPPH) sont égales à 17,66 % pour des huiles essentielles extraite à partir d'une plante fraîche et presque le même pour les HE extraites à partir de la plante séchée à l'ombre 17,5%. Par contre, les HE extraites à partir de la plante séchée au soleil, le pourcentage d'inhibition (à neutraliser le radical DPPH) est égale à 16,52 %. La concentration IC₅₀ correspond à chaque extrait pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant est, pour la plante fraîche et séchée à l'ombre est égale à 13,11 µg/ml et 13,25 µg/ml, et la valeur IC₅₀ de l'extrait de la plante séchée au soleil est égale 14,17 µg/ml.

Mots clés: *Pituranthos chloranthus*, huiles essentielles, séchage, antioxydant, antimicrobien.

Abstract-

Much of the current search interest is in studying antioxidant and antimicrobial molecules of natural origin.

Our work focuses on the study of the effect of the state and the drying technique of the plant *Pituranthos chloranthus* on the biological properties of essential oils obtained by hydrodistillation.

The study focuses on three points including the yield of essential oils, antioxidant power (reducing power test, DPPH) and antimicrobial power.

The yields obtained show that drying in the shade represents the best drying technique for this plant; an oil yield of 1.082% is noted, followed by the fresh plant 0.88%. Sun drying negatively affects the yield of essential oils, a yield of about 0.46% is estimated.

The antimicrobial activity is demonstrated by the disk diffusion method. The essential oil of *Pituranthos chloranthus* (fresh, dried in the shade, dried in the sun) proved to be inactive on the bacterial strains tested *Pseudomonas aeruginosa*, and the bacterial strain *Escherichia Coli* (10mm) and *Staphylococcus aureus* (11mm) which have a low sensitivity. Indeed, the diameters of the inhibition zones vary between 10 and 11 mm. It is also noted that all the microbial strains tested are sensitive to antibiotics (Ampicillin) with the exception of *Pseudomonas aeruginosa*.

The antioxidant properties are estimated via the reducing power test, DPPH. At the concentration of 0.5 µg / ml, the inhibition percentages (to neutralize the DPPH radical) are equal to 17.66 % for essential oils extracted from a fresh plant and almost the same for the extracted HEs from the plant dried in the shade 17.5%. On the other hand, the HE extracted from the plant dried in the sun, the percentage of inhibition (to neutralize the radical DPPH) is equal to 16.52%. The IC₅₀ concentration corresponds to each extract to better characterize the antioxidant power is, for the fresh plant and dried in the shade is equal to 13.11 µg / ml and 13,25 µg / ml, and the IC₅₀ value of the extract of the sun-dried plant is equal to 14, 17µg / ml.

Key words: *Pituranthos chloranthus*; essential oils ; drying ; antioxidant ; antimicrobial.

المخلص-

الكثير من الاهتمام البحثي الحالي يختص في دراسة الجزيئات المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات من أصل طبيعي.

يركز عملنا على دراسة تأثير حالة وتقنية تجفيف النباتات *Pituranthos chloranthus* على الخصائص البيولوجية من الزيوت الطيارة التي تم الحصول عليها عن طريق التقطير بالبخار. وتركز الدراسة على ثلاث نقاط بما في ذلك محصول الزيوت الطيارة ، والقدرة المضادة للأكسدة (اختبار القدرة على تحييد، DPPH) والقدرة المضادة للميكروبات.

تبين النتائج التي تم الحصول عليها أن التجفيف في الظل يمثل أحسن تقنية تجفيف لهذا النبات، ويلاحظ العائد بنسبة % 1.082 ، يليه النبات الأخضر بنسبة % 0.88. التجفيف في الشمس يؤثر سلبا على العائد من الزيوت الأساسية ، ويقدر العائد حوالي % 0.46.

يتم تمييز النشاط المضاد للميكروبات من خلال طريقة الانتشار على القرص.

الزيوت الطيارة لنبات *Pituranthos chloranthus* (الخضراء والمجففة في الظل ،المجففة في الشمس) تم الوصول الى ان الزيوت الطيارة المستخلصة من هذا النبات غير نشطة على السلالة البكتيرية المختبرة *Pseudomonas aeruginosa* ، اما في ما يخص السلالة البكتيرية *Escherichia Coli* و *Staphylococcus aureus* فوجد ان لديها حساسية منخفضة حيث تتراوح أقطار التنشيط بين 10 و 11 مم . لوحظ أيضا أن كل السلالات الجرثومية حساسة للمضاد الحيوي (الأميسيلين) باستثناء *Pseudomonas aeruginosa*

يتم تقدير خصائص مضادات الأكسدة عن طريق اختبار القدرة على خفض، DPPH. عند تركيز 0.5 ميكروغرام / مل ،النسب المئوية لتنشيط (تحييد DPPH الجذري) تساوي 17.66 % للزيوت الطيارة المستخلصة من النباتات الخضراء ونفسها تقريبا للزيوت الطيارة المستخلصة من النبات المجفف في الظل 17.5 % من ناحية أخرى ،فإن الزيوت الطيارة التي استخرجت من النبات المجفف في الشمس ذات نسبة تنشيط (لتحييد DPPH الجذري) تساوي 16.52 %.

لتحديد جيد لخصائص مضادات الأكسدة تم حساب IC_{50} (وهو التركيز الذي بإمكانه تحييد 50% من الجذور الحرة) الذي يتوافق مع كل مستخلص تم الوصول الى ان الزيوت المستخلصة من النبات الأخضر والمجفف في الظل لها تقريبا نفس نسبة ال IC_{50} المساوية 13.11 ميكروجرام / مل و 13,25 ميكرو غرام /مل ،اما المستخلصة من نبات مجفف تحت الشمس تساوي 14,17 ميكروجرام / مل .

الكلمات المفتاحية : *Pituranthos chloranthus* ؛ الزيوت الطيارة ؛التجفيف ؛ مضادات الأكسدة ؛ ومضادات الميكروبات.

Table des matières

Remerciements	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste d'abréviation	
Introduction	01
Chapitre I.- Aperçu bibliographique sur <i>Pituranthos chloranthus</i>	
I.1.- Origine et synonyme de <i>Pituranthos chloranthus</i>	05
I.2.- Ecologie de <i>Pituranthos chloranthus</i>	05
I.3.- Description botanique de <i>Pituranthos chloranthus</i>	06
I.4.- Position systématique de <i>Pituranthos chloranthus</i>	06
I.5.- Importance socioéconomique de <i>Pituranthos chloranthus</i>	07
I.6.- Toxicité de <i>Pituranthos chloranthus</i>	08
I.7.- Distribution géographique	08
Chapitre II.- Chapitre II.- Généralités sur les huiles essentielles	
II.1.- Définition.....	10
II.2.- Usage des huiles essentielles	10
II.3.- Propriétés physiques des huiles essentielles	11
II.4.- Composition chimique des huiles essentielles	12
II.5.- Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	13
II.6.- Utilisation des huiles essentielles	13
II.7.- Toxicité des huiles essentielles	14
II.8.- Méthodes d'extraction des huiles essentielles	14

II.9.- Activité biologique des huiles essentielles.....	17
---	----

Chapitre III.- Matériels et Méthodes

III.1.- Matériel végétal	20
III.2.- Dispositif d'extraction.....	20
III.3.- Extraction des huiles essentielles (Hydrodistillation)	21
III.4.- Calcul du rendement	22

III.5.-Tests d'activité biologique (activité antimicrobienne et anti-oxydante)

III.5.1.-Etude du pouvoir antimicrobien	23
III.5.1.1.Souches étudiées	23
III.5.1.2.- Aromatogramme (méthode de diffusion sur disque)	24
III.5.1.2.1.-Préparation de l'inoculum	24
III.5.2. - Test de l'activité anti-oxydante	25
III.5.2.1.- Protocole expérimental	26
III.5.2.2. - Expression des résultats	27

Chapitre IV.- Résultats et Discussions

IV.1.- Calcul les rendements des huiles essentielles	29
VI.2.- Etude de l'activité antimicrobienne	30
A.- <i>Escherichia coli</i>	31
B.- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
C.- <i>Staphylococcus aureus</i>	33
VI.3.- Test de l'activité antioxydant	35
VI.3.1.- Evaluation de l'activité antiradicalaire par le DPPH.....	35
Conclusion.....	41
Références bibliographiques	

Introduction

A l'origine, la nature constituée d'êtres végétaux, servait d'alimentation aux animaux et aux hommes peuplant la terre. Mais à côté de cette fonction nutritionnelle, l'homme découvrit bien d'autres fonctions que pouvaient lui procurer les plantes, notamment le pouvoir de guérison. En effet cette faculté de guérison des plantes fut connue longtemps de nos ancêtres depuis les temps reculés. Elle deviendra plus tard la médecine traditionnelle avec toutes les avancées notoires qu'on peut lui attribuer (BELOUED, 1998)

Aujourd'hui, diverses maladies sont traitées uniquement par les seules thérapies naturelles qui font appel non seulement aux plantes aromatiques, mais aussi à leurs huiles essentielles obtenues généralement par hydrodistillation

Il existe un grand nombre d'huiles essentielles connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées. Cependant, de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique des huiles, les différentes utilisations possibles et leur coût de production

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne , Saharienne et une flore Paléo Tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botanique. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Les objectifs fixés sont l'inventaire ainsi que l'évaluation chimique et pharmaceutique des plantes médicinales algériennes dans le double but de valoriser et de rationaliser leur usage traditionnel et d'isoler des composés d'intérêt thérapeutique potentiel (BENKIKI, 2006).

Les molécules du métabolisme secondaire des plantes appartiennent à des familles chimiques très diverses telles que les terpènes, les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les stéroïdes.

Les huiles essentielles ont, à toutes époque une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer aromatiser, la nourriture ou même se soigner.

A l'heure actuelle, la recherche de nouveaux médicaments d'origine naturelle passe par l'inventaire des plantes et l'examen systématique de leur activité biologique.

Un des guides du chimiste dans la problématique d'une recherche phytochimique est la recherche à l'empirisme et plus particulièrement aux usages traditionnels liés aux activités humaines.

Pour cela, notre étude basse sur l'étude de pouvoir antimicrobienne et antioxydant d'huile essentielle de *Pituranthos chloranthus* poussant spontanément dans la région de Zelfana . Dans divers cas (fraiche, séché a l'ombre, séché au soleil) et la comparaison entre elles.

De plus, le peu de travaux effectués sur cette espèce, nous a encouragés à étudier le pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles isolées de cette plante dans divers cas (fraiche, séché a l'ombre, séché au soleil) et la comparaison entre elles afin d'enrichir les connaissances sur les activités biologiques de cette plante.

Dans la première partie, nous aborderons, l'état des connaissances bibliographiques incluant une présentation botanique de la famille des Apiacées, de l'espèce *Pituranthos chloranthus* et son usage thérapeutique. Nous étudierons également, les généralités sur les huiles essentielles. Cette étude inclus : la définition et la classification de ces derniers, leurs activités biologiques ainsi que leur biosynthèse.

Dans la deuxième partie, qui est la partie expérimentale, nous appliquerons les méthodes utilisées pour :

- L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation
- La détermination des rendements en huiles essentielles
- L'étude du l'activité biologique des huiles essentielles

Dans la troisième partie, nous discuterons les résultats obtenus lors de cette étude.

Aperçu bibliographique
sur *Pituranthos*
chloranthus

Chapitre I.- Aperçu bibliographique sur *Pituranthos chloranthus*

Le Sahara se caractérise par des conditions édapho-climatiques très contraignantes à la survie spontanée des êtres vivants. Néanmoins, cet écosystème reste un milieu vivant pourvu d'un couvert végétal particulier, adapté aux conditions désertiques les plus rudes, caractérisées par de fortes chaleurs et des pluviométries faibles et rares (QUEZEL, 1963 ; OZENDA, 1991) avec une alternance de deux saisons relativement bien marquées. Un hiver saharien court, et un été qui dépasse six mois dans l'espace saharien.

Le Sahara dispose d'une biodiversité floristique exceptionnelle, constituée de plus de 500 espèces végétales (OZENDA, 1991), dont il est dénombré 162 espèces végétales endémiques dans le Sahara septentrional seul.

Plusieurs espèces sont connues pour leurs propriétés thérapeutiques remarquables (QUEZEL, 1963).

Les plantes spontanées des zones arides sont considérées comme l'une des ressources phytogénétiques qui présentent un intérêt agronomique, économique, écologique mais aussi stratégique (UNESCO, 1960).

Nombreux sont les chercheurs qui ont fourni des efforts consentis pour l'étude de la flore, ces derniers qui sont très importants pour connaître les grands traits biologiques des plantes et leur répartition biogéographique, Cependant plusieurs aspects d'un nombre considérable d'espèces végétales restent méconnus sur certains plans : biologique, taxonomique et écologique (KOUZMINE, 2007).

I.1.- Origine et synonyme de *Pituranthos chloranthus*

Le mot *Pituranthos* dérive de 2 mots grecs, *anthus*= fleur et *Pituron*= son de blé (BENISTON, 1984), mais aussi *Deverra chlorantha* Coss. & Dur (= *Pituranthos chloranthus* Benth & Hook.) (= *Deverra denudata*) *Deverra*: déesse de l'accouchement ; *Chloranthus* : vert-fleuri. Arabe : Gouzah (Guezzah). Berbère : Tattayt (IUCN., 2005; SBF., 2011)

I.2.- Ecologie de *Pituranthos chloranthus*

Est une espèce du Sahara septentrional et central d'Afrique du nord. *Deverra chlorantha* pousse dans des habitats désertiques avec des précipitations n'excédant pas 120mm par an. La plante prospère dans des sols pierreux, des oueds non salins, parcours de lits d'oueds (Oued

Metlili), Parcours de hamadas (CHEHMA *et al.* 2005; IUCN., 2005; TOUIL *et al.*, 2006; DAHIA, 2009). Plantes pérennes broutées par le dromadaire dans le sud-ouest algérien (plante occasionnellement appréciée) (BOUALLALA *et al.* 2011)

I.3.-Description botanique de *Pituranthos chloranthus*

Les Ombellifères sahariennes sont différentes les unes des autres et leur détermination n'offre pas de grandes difficultés. Exclusivement, la distinction entre les espèces de *Pituranthos* est souvent difficile (OZENDA, 1991). En effet, elles ne se distinguent les unes des autres que par la couleur des fleurs et la taille de leur pédoncule (HABA, 2002). Le genre *Pituranthos* possède plus de vingt espèces dont certaines sont spécifiques à l'Afrique du nord (QUEZEL, et SANTA, 1962; KAABECHE, 1990), et sont souvent rencontrées dans les régions arides ou désertiques. Le potentiel floristique algérien de ce genre comporte les espèces suivantes:

- *Pituranthos chloranthus*,

- *Pituranthos scoparius* : espèce abondante dans les Aurès.

- *Pituranthos battandieri* (Maire): endémique au Sahara marocain et l'oranie (BELLAKHDAR, 1997).

QUEZEL et SANTA (1962) ont décrit le genre *Pituranthos* comme une plante vivace, totalement aphyllé, à tige très ramifiées, portant des ombelles à involucre et involucelles polyphylles est des pericarpes ovoïdes à six bandelettes. L'espèce *Pituranthos chloranthus*(Coss. et Dur.) Benth. & Hook., est une plante dont les tiges sont ramifiées dès la base, plus ou moins dichotomes et portant des ombelles longuement pédonculées; pétales verdâtres à nervures dorsales pubescentes et larges, fruits poilus (Ozenda, 1958).

I.4.- Position systématique de *Pituranthos chloranthus*

L'espèce *P. chloranthus* est classée d'après QUEZEL et SANTA (1963) et DUPON et GUIGNARD (2007) comme suit :

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiosperme

Classe : Eudicot

S/classe: Euastéridées II

Famille: Apiaceae

Ordre : Apiale.

Genre : *Pituranthos*

Espèce : *Pituranthos chloranthus* (Coss et Dur) Benth et Houk)



Figure 1 : *Pituranthos chloranthus* dans les régions sahariennes

I.5.- Importance socioéconomique de *Pituranthos chloranthus*

La médecine traditionnelle demeure le recours principal pour une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé. Elle a été transmise d'une génération à l'autre par la communication orale, posant le danger de perte d'une certaine connaissance. Les études ethnobotaniques et ethno médicinales sont aujourd'hui reconnues comme des méthodes de choix pour la connaissance des plantes médicinales et leurs utilisations.

Les espèces du genre *Pituranthos* sont utilisées en médecine traditionnelle algérienne (VERITE et *al.*, 2004; HAMMICHE et MAIZA, 2006; BENMEKHBI et *al.*, 2008; YANGUI et *al.*, 2008; KRIFA et *al.*, 2011; LOGRADA et *al.*, 2013).

Au Sahara Algérien l'espèce *Pituranthos chloranthus* est employée, en cataplasmes sur la tête, contre les céphalées (BELLAKHDAR, 1997 cité par NAIT SAID, 2007).

Les Touaregs consomment les jeunes pousses et l'intérieur des racines crues, ils l'utilisent comme aromatisant dans la viande et la galette (BOUTAGHANE et *al.* 2004). Les fleurs sont placées dans l'eau pour extraire le composant doux.

Au Maroc, les parties aériennes sont mélangées avec les cendres pour aromatiser les viandes (IUCN., 2005). Elle est également utilisée dans les assaisonnements (VERITE et al. 2004; IUCN., 2005; BENMEKHBI et al., 2008).

Les tiges de *P. chloranthus* ont été, traditionnellement, utilisés comme paille par les agriculteurs pour sécher les figues et les raisins. Cette plante a un double avantage : tout d'abord, elle est utilisée pour son arôme et le goût distinctif qui adhèrent aux fruits secs. Ensuite, elle a un effet insecticide. Dans le sud tunisien, une touffe de *P. chloranthus* était, traditionnellement, suspendue à la surface de l'eau pour désinfecter des citernes souterraines de stockage de l'eau de pluie utilisée pour les boissons (YANGUI et al., 2009).

Dans la région de Djannet (sud algérien), les gens font traiter les morsures des scorpions grâce à cette plante (DAHIA, 2009).

Les huiles essentielles obtenues des tiges et des graines de *Pituranthos scoparius* sont largement utilisées comme remède contre le rhumatisme et la fièvre. Les espèces *triradiatus* et *tortuosus*, sont utilisées par la population bédouine contre les douleurs d'estomac, les parasites intestinaux ou comme agent régulateur de la menstruation chez les femmes (NOVAK et al., 1966 et AL KADI, A. A. 1989 cité par NAIT SAID, 2007).

I.6.- Toxicité de *Pituranthos chloranthus*

Les nomades connaissent le haut pouvoir allergisant des plantes du genre *Pituranthos* pour les animaux, en période de leur floraison. En effet, le pollen des espèces *P. chloranthus* et *P. scoparius* engendrent des ophtalmies graves, quand il pénètre dans les yeux des animaux. Le dromadaire en particulier y est très sensible. Très allergisant, ce pollen rend les animaux aveugles pendant plusieurs jours. Les nomades traitent ces ophtalmies en instillant dans les yeux du dromadaire, du jus de tabac ou en introduisant du sel sous les paupières (BELLAKHDAR, 1997).

I.7.- Distribution géographique

Pituranthos chloranthus est une espèce propre à l'Afrique du Nord, qu'on rencontre dans les régions arides pré désertiques et désertiques (OZANDA, 1991).

Chapitre II.-
Généralités sur les
huiles essentielles

Chapitre II.- Généralités sur les huiles essentielles

II.1.- Définition

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles (CATIER et ROUX, 2007). Il s'agit de mélanges de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés (poches, canaux, poils). Extraites de la plante grâce à des procédés physiques, les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (TEUSCHER et ANTON, 2005).

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule (TEUSCHER et ANTON, 2005).

Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, écorces, racines, rhizomes, fruits et graines. Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation (BRUNETON, 2009).

La norme française AFNOR NF T75-006 définit l'huile essentielle comme: «un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques» (GARNERO, 1996)

II.2.-Usage des huiles essentielles

Les essences peuvent être utilisées à faibles doses comme aromatisant en pharmacie et dans l'alimentation. À doses plus élevées, elles peuvent être utilisées pour leur propriété pharmacologique, c'est le principe de l'aromathérapie. Il existe alors un risque de toxicité (CATIER et ROUX, 2007).

Les Huiles essentielles étaient souvent appelés les solutions de nettoyage naturelles et écologiques. Ils sont utilisés comme substitut aux produits chimiques, désinfecter et de diffuser un agréable parfum dans l'air (SEGVIC KLARIC et *al.*, 2007). Ils sont également utilisés pour contrôler les maladies humaines d'origine microbienne et à guérir des maladies comme l'athérosclérose et le cancer (WARNKE et *al.*, 2006). Propriétés insecticides des huiles essentielles ont été largement étudiées contre diverses espèces d'insectes (YANGUI et *al.*, 2009).

Dans le domaine alimentaire elles deviennent des épices ou des aromates. Il faut à ce propos remarquer que l'activité d'une huile essentielle peut être tout à fait différente de celle de la plante dont elle est issue (CATIER et ROUX, 2007).

II.3.- Propriétés physiques des huiles essentielles

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques : les différents indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation.

Un indice de densité

Leurs densités sont inférieures à « 1 » sauf exceptions (huiles essentielles de cannelle, girofle en particulier)

Un indice de réfraction

L'indice de réfraction (changement de direction de la lumière au passage d'un milieu à un autre) d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air à l'huile essentielle maintenue à une température constante. Cet indice peut être mesuré par un réfractomètre.

Voici à titre indicatif quelques intervalles pour les huiles essentielles suivantes:

Eucalyptus : 1.458 à 1.470

Lavande (aspic) : 1.463 à 1.468

Thym : 1.495 à 1.505

Un pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle est l'angle exprimé en milli radians et /ou degrés d'angle dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde $\lambda = (589,3 * 0,3) \text{ nm}$, correspondant aux raies D du sodium, lorsque celles-ci traversent une épaisseur de 100 mm d'HE dans des conditions déterminées de température. On peut mesurer le pouvoir rotatoire avec un polarimètre appareil de mesure de la polarisation (Propriété des ondes électromagnétiques) d'un corps

Point d'ébullition

Leur point d'ébullition varie, mais s'élève ordinairement à 160° ; quelques-unes exigent même une température plus élevée

Point de congélation

Le point de congélation des huiles essentielles varie beaucoup ; quelques-unes ne se solidifient qu'au-dessous de 0, d'autre à 0, et il en est qui sont solides à la température ordinaire de l'air (JÖNS, 2009)

Elles sont généralement incolores ou jaune pâle lorsqu'elles viennent d'être préparées, peu solubles dans l'eau mais lui communiquent leur odeur, solubles dans la plupart des solvants organiques et dans les huiles fixes et sensibles à l'oxydation et donc de conservation limitée. De ces propriétés découlent les principales précautions à prendre pour les conserver, dans des flacons de petite taille, bien bouchés, colorés ou en aluminium et si possible à basse température (CATIER et ROUX, 2007).

II.4.- Composition chimique des huiles essentielles

- C'est un mélange de molécules variées, comprenant en particulier des terpènes (hydrocarbures non aromatiques), c'est-à-dire dérivés de l'isoprène et non du benzène, et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones, ester) (CATIER et ROUX, 2007 ; HELLAL, 2011) :
- **Les composés terpéniques**

On trouve surtout des Monoterpènes. Les carbures peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques et porteurs de groupements fonctionnels variés

- Alcools : exemples, géraniol, menthol, bornéol.
- Cétones : camphre, thuyones.
- Esters : acétate d'isobornyl.
- Phénols : thymol.

- **Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane**

Ils sont moins répandus que les précédents, ce sont souvent des allylphénols quelquefois aussi des aldéhydes tels l'anéthol, l'eugénol. La vanilline est assez fréquente parmi les composés aromatiques.

- **Les composés d'origine diverses**

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatils. Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits (BRUNETON, 2009 ; HELLAL, 2011).

II.5.- Facteurs de variabilité des huiles essentielles

Selon BRUNETON (2009), de nombreux facteurs influent sur la teneur et la composition des huiles essentielles; des facteurs liés à l'espèce (la génétique, l'état nutritionnel, etc...) et d'autres liés aux conditions de l'environnement dont la température, la sécheresse, l'ensoleillement, la salinité du sol et de l'eau, le vent, les différentes agressions biotiques.

- **Influence du cycle végétatif :**

Pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long du développement.

- **Parties de la plante:**

Une plante peut donner des huiles essentielles de composition chimique très différente en fonction des organes dont elle est issue.

- **Existence de chimiotypes :**

Les chimiotypes, dits aussi races chimiques, sont très fréquents chez les plantes à huiles essentielles

- **Influence des facteurs extrinsèques:**

Il s'agit là de l'incidence des facteurs l'environnement et des pratiques culturales.

- **Influence de la durée de stockage :**

Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles.

- **Influence des procédés d'obtention :**

La labilité des constituants d'huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal.

II.6.-Utilisation des huiles essentielles

Ces produits naturels présentent un grand intérêt économique comme matière première destinée à différents secteurs d'activité (CAVALLI, 2002) tels que:

- **En pharmacie**

Les huiles essentielles peuvent être utilisés dans :

-l'aromatisation des médicaments destinés à la voie orale (ZIMING WANG,2006)

- Pour leurs actions physiologiques (Menthes, Verveine, Camomille) (HURABIELLE,1981)

- **Dans l'industrie**

Parfumerie et cosmétologie: De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles essentielles constituent des bases des parfums. Exemples: Rose, Jasmin, Vétiver, Ylang-ylang, etc... (HURABIELLE, 1981)

- **Alimentation**

Les huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie) (ZIMING WANG *et al.*, 2006 ; HURABIELLE,1981).

II.7.- Toxicité des huiles essentielles

Cet aspect de la connaissance des huiles essentielles est d'autant plus important que le développement thérapeutique telles que l'aromathérapie (définie comme le traitement des maladies par les essences de plantes ainsi que la connotation " produit naturel" attaché à ces produits conduisent à une utilisation souvent abusive. La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue; on manque aussi des données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes, tératogènes ou cancérigènes. On connaît par contre beaucoup mieux le risque de toxicité aiguë lie à une ingestion massive, en particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, sauge officinale) ou à pinocamphone (hysope). Ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation. De telles intoxications ne sont pas exceptionnelles.

D'autres Monoterpènes sont également toxiques à doses fortes, exemples: camphre, menthol (qui entraînent un risque de spasme de glotte chez le jeune enfant), cinéole, E-anéthol. Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudente face aux pratiques telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des huiles essentielles -pures et à fortes doses - par voie orale et, à fortiori, en mélange (BRUNETON,1993).

II.8.- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits obtenus soit à partir des matières premières naturelles par distillation à l'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques (AFNOR, 1992). Les huiles essentielles sont extraites principalement par les méthodes suivantes:

- Distillation
- Extraction à froid
- Extraction assistée par micro-onde
- Extraction par des solvants organiques (Soxhlet)

II.8.1.- Distillation

Il existe deux différents procédés utilisant le principe de la distillation : l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau (PIOCHON, 2008).

a- Hydrodistillation : L'hydrodistillation proprement dite est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité (AFNOR, 1992). Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. (**figure 03**) (LAGUNEZ Rivera, 2006).

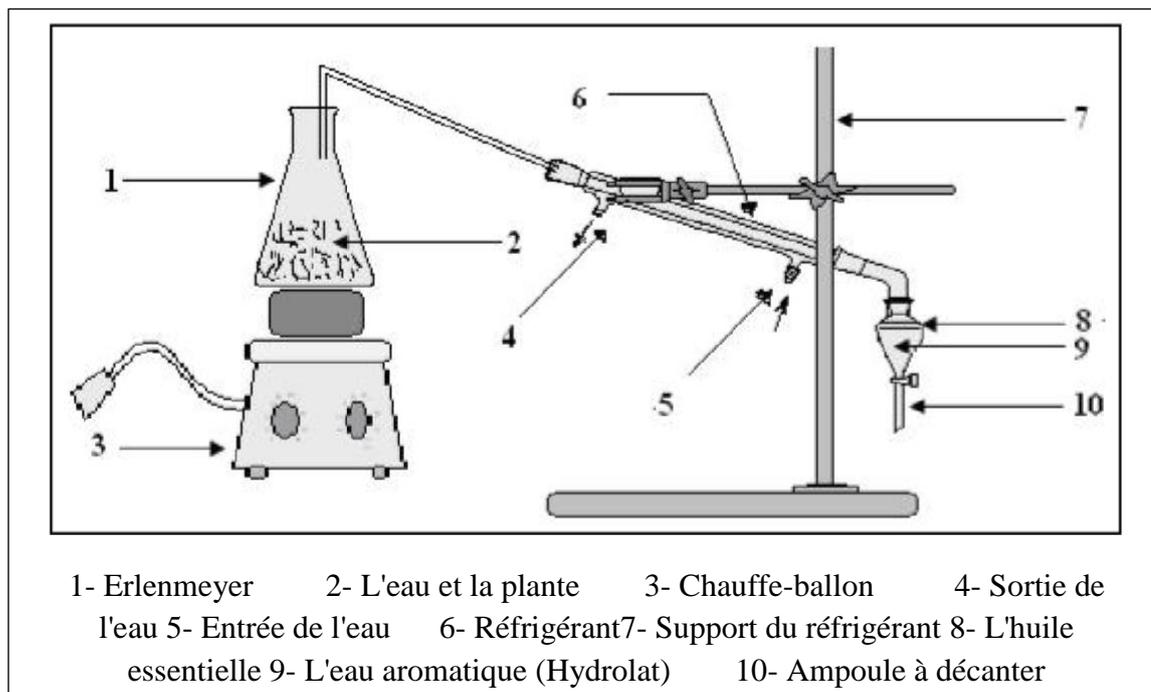


Figure 02: Montage de l'hydro-distillation

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures (8h)[(LUCCHESI et *al.*,2004),selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait(LUCCHESI,2005).Les principales raisons de cette préférence sont liées à la facilité de mise en œuvre du procédé, son sélectivité et donc la qualité des produits obtenus. Cependant l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques. C'est ainsi que pour certains végétaux fragiles, comme par exemple les pétales de fleurs, une technique d'extraction plus appropriée est utilisée. Il s'agit de la « distillation dite sèche ». Cette technique ancestrale, utilisée autrefois par les alchimistes arabes (FRENCH,1651),consiste à extraire les huiles essentielles de plantes fragiles à l'aide d'un alambic par l'effet de la chaleur du soleil. Plus récemment, en Herzégovine (KAPETANOVIC et *al.*,1984), une technique toute proche a permis l'extraction d'une huile essentielle de rose de très grande qualité, cependant cette technique, possède elle aussi ses limites. En effet, technique écologique par excellence, le chauffage par les rayons du soleil est très faiblement productif car plusieurs jours sont nécessaires pour extraire les précieuses gouttelettes d'essences de rose.

b- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles des plantes aromatiques. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (LEGUNEZRIVERA, 2006).La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique (l'huile essentielle). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (LUCCHESI, 2005).

II.8.2.- Extraction à froid

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'implique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence (ROUX, 2008).

II.8.3.- Extraction assistée par micro-onde

Le mécanisme du chauffage diélectrique repose sur le fait que les molécules polaires, telles que l'eau, ont des extrémités négatives et positives : ce sont des dipôles. En l'absence de champ électrique, les dipôles d'un milieu diélectrique se trouvent orientés au hasard sous l'effet de l'agitation thermique du milieu. Sous l'effet d'un champ électrique continu, les molécules tendent à s'orienter dans la direction du champ électrique. Plus le champ électrique est intense, moins l'agitation thermique qui tend à désorganiser l'alignement a d'importance. Lorsque toutes les molécules sont orientées, il apparaît un moment dipolaire global induit. Sous l'effet d'un champ électrique alternatif de fréquence, les dipôles s'orientent dans la direction du champ sur une demi alternance, se désorientent lorsque le champ s'annule et se réorientent dans l'autre sens pendant la seconde demi alternance : c'est la rotation dipolaire.

L'énergie électrique est convertie en énergie cinétique par la rotation des dipôles. L'énergie cinétique est transformée partiellement en chaleur : l'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interactions entre molécules. Ces forces peuvent être assimilées à des forces de frottement internes qui existent dans les contacts solide-solide. Elles s'opposent ainsi à la libre rotation des molécules. De la friction produite, naît le dégagement de chaleur (LUCCHESI,2005). Cette chaleur dilate les glandes qu'éclatante. Ce processus donc libère les huiles essentielles (LUCCHESI et *al.* 2004).

II.9.- Activité biologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques (ZIMING WANG et *al.* 2006).

En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanalaire (PELLECUER et *al.*,1980), ou au niveau de la microflore vaginale(VIOLLON et CHAUMONT,1994) et d'origine fongique contre les dermatophytes (CHAUMONT et LEGER,1989).Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques(SIVROPOULOU et *al.* 1996), qui les rapprochent donc des antiseptiques et des désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre. Par exemple dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme des antiseptiques, des antibactériens et des antifongiques (AGNIHOTRIET *al.*2003).

Le thymol est très irritant, astringent et caustique. La dose de thymol applicable sur la peau et les muqueuses est de 0,5%. Ingéré à la dose de 2 g ou à plus fortes doses, il est responsable de gastralgies avec nausées (ZAMBONELLI et *al.* 2004).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des lamiacées: thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge... etc.

L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives (AGNIHOTRI et *al.*2003).

L'activité des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique.

Les travaux de ZAKARYAET ses collaborateurs (1993) sont montrés l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait. En effet, l'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, aldéhydes et cétones).

Les composés minoritaires jouent aussi un rôle important dans l'activité des huiles essentielles et semblent agir en synergie avec les composés principaux (ZHIRI, 2006).

Les composés chimiques qui ont plus d'efficacité et, à large spectre sont d'abord les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), ensuite les alcools (l-terpinéol, terpinène-4-ol, linalol), les aldéhydes et dans une faible mesure les cétones (DORMAN et DEANS, 2000).

Matériels et Méthodes

Chapitre III.- Matériels et Méthodes

III.1.- Matériel végétal

L'organe végétal ayant servi à l'extraction de l'huile essentielle dans la présente étude est la partie aérienne de la plante *Pituranthos chloranthus* fraîche et sèche (Photo 1). La plante a été récoltée de la région de Zelfana (Wilaya de Ghardaïa) en février, Mars, Avril 2018. Elle a été récupérée dans un sac en tissu épais propre, puis divisé en trois groupes l'une reste fraîche le deuxième est séché à l'ombre et le troisième séchés au soleil après un rinçage par de l'eau de froide. Puis découpée en petits morceaux (2 à 3 cm) (Photo 1) pour servir à l'extraction de l'huile essentielle.



Photo 01 :Fragments de *Pituranthos chloranthus* récoltés dans Oued Zelfana(Wilaya de Ghardaïa)

(1 : Fragments fraîches, 2 : Fragments séchés à l'ombre, 3 : Fragments séchés au soleil)

III.2.- Dispositif d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle à partir des parties aériennes de la plante *Guezzah* est effectuée par hydrodistillation dans un montage simple dont les différentes pièces constitutives sont: un ballon à fond rond de deux litres (2L), un chauffe-ballon, un régulateur de température, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant à eau),un coude de 90°, une ampoule à décanter et un erlenmeyer (Photo 02).

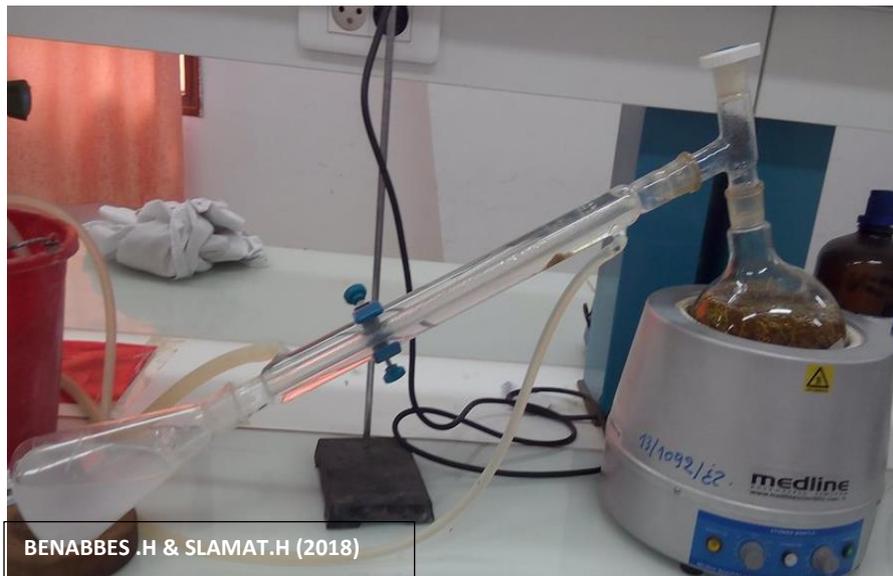
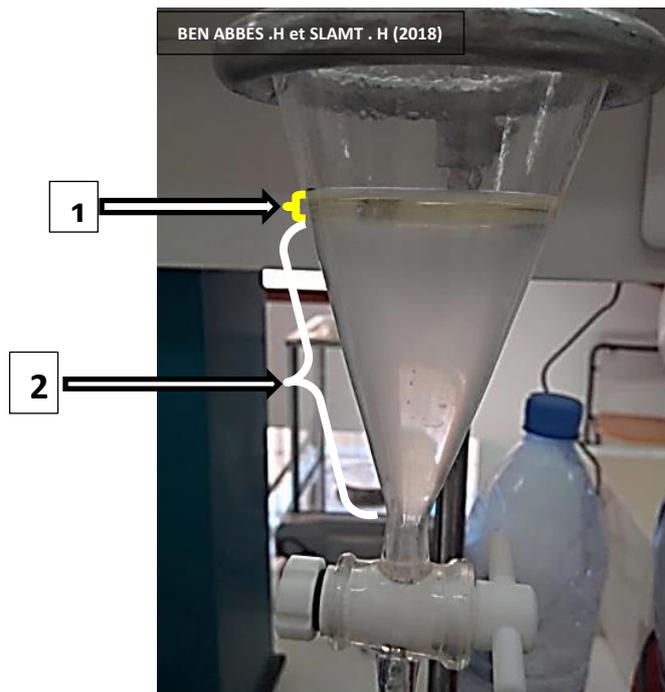


Photo 02 : Dispositif d'hydrodistillation utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle de *P. chloranthus*.

III.3.-Extraction des huiles essentielles (Hydrodistillation)

Une quantité de partie aérienne de la plante *Guezzah* coupées en morceaux sont introduites dans un ballon à fond rond de 2L imprégnés d'eau distillée (environ 1,3L). Le mélange est ensuite porté à l'ébullition environ 6 heures. Les vapeurs, entraînant avec elles l'huile essentielle, se condensent en traversant le réfrigérant et chutent dans une ampoule à décanter. Dans cette dernière se recueille deux phases (Photo 3) : le distillat avec une couche d'huile très mince, leur séparation se fait par différence de densité après décantation du mélange pendant 30 min. Après leur séparation L'huile essentielle se récupère par une seringue et conservée à 4°C dans des flacons en verre emballés avec du papier aluminium.



1- Phase organique comprenant l'huile essentielle de *P. chloranthus*.

2- Phase aqueuse (hydrolat).

Photo 03 : Huile essentielle de *P. chloranthus* en phase de séparation

III.4.- Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids des parties de la plante utilisées pour l'extraction (CAREE, 1953. Cité par MOHAMMEDI, 2006).

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle est déterminé par mesure de la quantité obtenue de l'huile essentielle durant l'hydrodistillation par unité de masse de matière traitée.

Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHEs\%} = \text{P1} / \text{P2} \times 100$$

Où :

RHEs% : rendement de l'huile essentielle en pourcentage.

P1 : poids de l'huile essentielle en g.

P2 : poids des parties utilisées de la plante en g.

III.5.-Tests d'activité biologique (activité antimicrobienne et anti-oxydante)

III.5.1.-Etude du pouvoir antimicrobien

Les traitements antimicrobiens par les plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tel que les antifongiques et les antimicrobiens et en particulier les antibiotiques décroît. Pour cela, nous avons jugés intéressant de tester ces huiles essentielles vis-à-vis de souches bactériennes, et de comparer leur activité à celle des antibiotiques utilisés.

III.5.1.1.Souches étudiées

L'huile essentielle de *Pituranthos chloranthus* a été testée contre les souches microbiennes mentionnées dans le tableau (**Tableau 01**) :

Tableau 01 : Souches bactériennes étudiées

Souches utilisées		Référence	Provenance /origine
A Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	MNHN
A Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturel, Paris

III.5.1.2.- Aromatogramme (méthode de diffusion sur disque)

Afin de tester l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disque.

Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégnés de 5 µl d'huile essentielle et 5 µl de DMSO, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé (Mueller – Hinton pour les bactéries), en boîte de pétri, préalablement ensemencées en surface en nappe avec 1 ml d'inoculum et l'excédent est éliminé par aspiration.

En parallèle, nous avons utilisé un disque témoin négatif imbibé par le DMSO (5µl) et des témoins positifs Ampicilline (Am : 30µg/disque).

Après incubation à 37°±1° C pendant 24 h pour les bactéries, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm, disque inclus.

III.5.1.2.1.-Préparation de l'inoculum

a. Pour les bactéries

Les souches, conservées sur gélose nutritive inclinée à 4°C, sont revivifiées dans du bouillon nutritif à 37° C ±1° C pendant 24 h, puisensemencées sur boites contenant de la gélose nutritive pour vérifier leur pureté. Après 24h d'incubation à 37°C, les souches bactériennes sontensemencées sur bouillon nutritif puis remettre en incubation à 37° ± 1° C pendant 18 h. De cette dernière culture, on prélève quelques gouttes et on les mets dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0.9. La suspension bactérienne est bien homogénéisée, et la densité optique lue à 625 nm est justifiée à 8 % à 10 %, soit environ 10⁸ UFC/ml (PESSINI et *al.* 2003 cité par BEN ABDELKRIM,2013).



Photo 04 : Préparation de l'inoculum

➤ Incubation

Les boites de pétrie préalablement coulées dans des conditions aseptiques sont incubées pendant 24 h à 37°C pour les bactéries.

➤ Lecture

Après 24 heures d'incubation, il est mesuré avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle graduée sur le fond de la boite de pétrie.

- Les résultats des mesures des zones d'inhibition sont comparés avec les valeurs critiques citées dans la littérature. Selon le diamètre des zones d'inhibition, les souches bactériennes

testées sont classées selon leurs réponses à l'antibiotique (Ampicilline)en 3 catégories dont:

- Sensible (si le diamètre est ≥ 21) ;
- Intermédiaire (si le diamètre est entre 16 et 20) ;
- Résistante (si le diamètre est < 16) (SFM, 2012).

Nous avons considéré qu'une huile essentielle a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 15 mm (ROSSI, 2003).

III.6.- Test de l'activité anti-oxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer les activités anti-oxydantes des extraits volatils des plantes aromatique. L'activité anti-radicalaire de l'huile essentielle de *P. chloranthus* a été évaluée par la capacité de balayage du radical libre DPPH.

Cette méthode décrite pour la première fois par BLOIS (1958) et modifiée par la suite par BRAND WILLIAMS et *al.* (1995), MASUDA et *al.* (1999) et MOLYNEUX (2004) consiste à suivre la réduction du radical libre DPPH (2,2- diphenyl -1- picrylhydrazyl) par un antioxydant à l'aide de spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence de l'huile essentielle.

Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés de l'huile essentielle à piéger ces radicaux libres indépendamment de toute activité enzymatique. Ce test nous permet donc d'obtenir des informations sur le pouvoir anti radicalaire direct de notre huile essentielle.

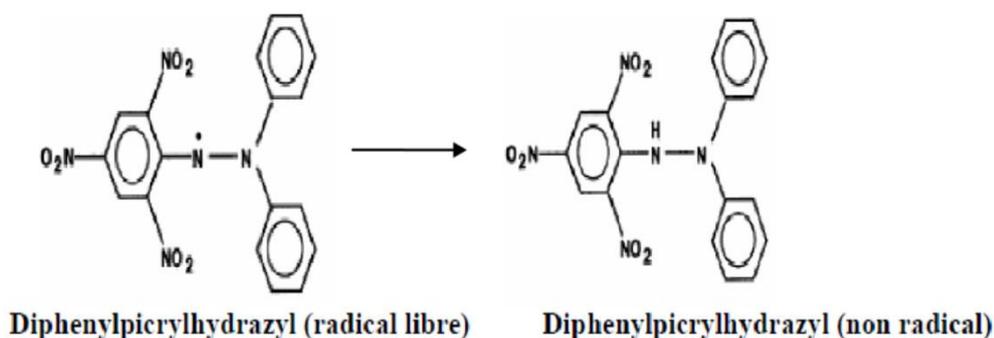


Figure 03 : Forme libre et réduite du DPPH (KALLA, 2012)

III.6.1.- Protocole expérimental

L'activité anti-radicalaire de l'huile essentielle de *P. chloranthus* a été mesurée par la méthode modifiée de MANSOURI *et al.* (2005), la solution de DPPH• est préparée par la solubilisation de 3,5 mg de DPPH• dans 100 ml de méthanol à 99%. Un volume de 100 µl prélevé à partir de chaque dilution réalisée sur l'huile essentielle a été mélangé avec 3.9 ml de la solution de DPPH• dans des tubes à essai secs. Après 30 min d'incubation à une température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517nm.

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, comme l'acide ascorbique (vitamine C), Quercétine ou le Trolox (acide-6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman-2-carboxylique) (MOLYNEUX, 2004).

La courbe tracée à partir des concentrations en huile essentielle et en l'acide ascorbique (vitamine C) en fonction du % d'inhibition du radical DPPH permet de calculer le paramètre IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%). Ce paramètre est défini comme étant la concentration inhibitrice du substrat qui cause la perte de 50% d'activité de DPPH• (couleur) et s'obtient à partir de la droite tracée.

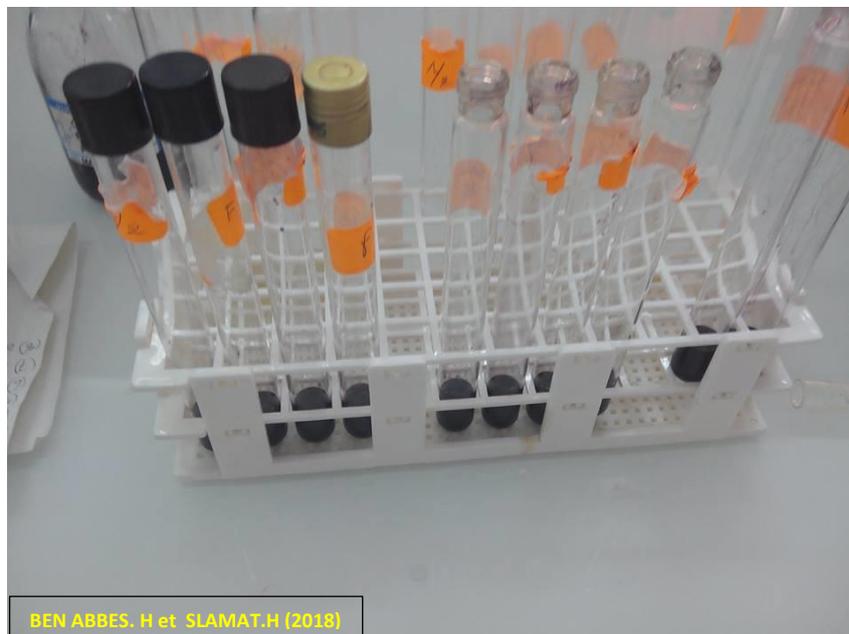


Photo 05 : Préparations pour le test antioxydant

III.6.2.- Expression des résultats

L'activité anti-radicalaire où le pourcentage d'inhibition (I %) est estimé selon la formule suivante :

$$I \% = [(Abs_{517\ c} - Abs_{517\ e}) / Abs_{517\ c}] \times 100$$

Abs_{517 c} : absorbance du control lue à 517 nm

Abs_{517 e} : absorbance de l'échantillon lue à 517 nm

La courbe tracée à partir des concentrations en huile essentielle et en l'acide ascorbique (vitamine C) en fonction du % d'inhibition du radical DPPH permet de calculer le paramètre IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%).

Résultats
et
Discussions

Chapitre IV.- Résultats et Discussions

IV.1.- Calcul des rendements des huiles essentielles

Les extractions des huiles essentielles de « *Pituranthos chloranthus* » ont été réalisées en utilisant la méthode d'Hydrodistillation.

Les rendements moyens obtenus, sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 02: Variation du rendement d'extraction en huiles essentielles de *Pituranthos chloranthus* en fonction des conditions expérimentales

	Expérience	Date	Durée de l'extraction	Température d'extraction C°	Longueur de coupage (cm)	Rendement %
Matière végétale fraîche	EX ₁	26/02/2018	3	250	1	Négligeable
	EX ₂	01/03/2018	3	400	1	Négligeable
	EX ₃	05/03/2018	7	200	2	0,6
	EX ₄	07/03/2018	7	200	2	0,6
	EX ₅	11/03/2018	6	200	2	0,6
	EX ₆	13/03/2018	7	200	3	1
	EX ₇	14/03/2018	4	200	3	1,17
	EX ₈	15/03/2018	6	200	3	1,54
	EX ₉	26/03/2018	6	200	2	0,66
Matière végétale séché à l'ombre	EX ₁	18/03/2018	6	200	3	1,25
	EX ₂	20/03/2018	7	200	3	1,66
	EX ₃	21/03/2018	6	200	3	1
	EX ₄	22/03/2018	3	200	3	0,5
	EX ₅	25/03/2018	7	200	3	1
Matière végétale séché au soleil	EX ₁	09/04/2018	7	200	3	0,5
	EX ₂	10/04/2018	7	200	3	0,4
	EX ₃	12/04/2018	7	200	3	0,5

On remarque que le rendement varie en fonction des conditions expérimentales :

1. La période de récolte affecte sur le rendement : Au mois de février et au début de mars, le rendement était négligeable car la plante était riche en eau et n'était pas stressée
2. La durée de l'extraction affecte sur le rendement
3. La température d'extraction affecte sur le rendement : dans des températures élevées on'épuise la plante
4. La louangeur de coupage affecte sur le rendement : dans un louangeur de coupage inférieure à 2 cm les parties de la plante sont placées les unes sur les autres, ce qui empêche le passage de la vapeur à travers ces pièces, Cela affaiblit le rendement

En générale ces fluctuations dans les rendements en huiles essentielles de l'espèce *P. chloranthus* peuvent être lié aux principaux facteurs environnementaux qui influent de façon significative sur la végétation, dont le climat (précipitation, température, vent, radiation solaire, etc.), le sol et l'altitude. C'est surtout l'équilibre délicat de ces facteurs qui joue un rôle primordial à la fois dans le développement individuel des plantes et dans leur distribution (BENISTON, 1984) mais aussi à la méthode d'extraction par hydrodistillation et aux conditions de séchage de la plante (la température de séchage, le temps et l'endroit prévu à cet effet). Le procédé d'hydrodistillation est largement employé pour l'extraction des huiles essentielles. Cependant la perte en composés aromatiques volatils, la faible efficacité d'extraction et la dégradation des composés insaturés à travers des effets thermiques et hydrolytiques sont, dans plusieurs cas, soulevées (OZEL et KEYMAZ, 2004 ; DAMJANOVIC' et al, 2005).

Les rendements obtenus, montrent que le séchage à l'ombre est la meilleure technique de séchage pour cette plante; un rendement en huiles de 1,082% est noté, suivi par la plante fraîche 0,88%. Le séchage au soleil affecte négativement le rendement en huiles essentielles, un rendement de l'ordre de 0,46% est estimé.

VI.2.- Etude de l'activité antimicrobienne

Notre étude consiste à la recherche de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pituranthos chloranthus*. L'étude de cette activité antimicrobienne a été réalisée par la technique de diffusion des disques qui est une technique quantitative basée sur la mesure des diamètres d'inhibitions, en mm (Tableau 03).

Tableau 03 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des huiles essentielles de *Pituranthos chloranthus* relatives aux souches microbiennes testées (diamètre du disque inclus).

Souches bactériennes	AM (30µg/disque)	DMSO	HE								
			HE extraie a partir une plante fraiche			HE extraie a partir une plante Séché a l'ombre			HE extraie a partir une plante Séché au soleil		
			Dilutions des extraits ml /ml			Dilutions des extraits ml /ml			Dilutions des extraits ml /ml		
			1/2	1/5	1/10	1/2	1/5	1/10	1/2	1/5	1/10
<i>E. Coli</i> ATCC 25922	21	6	13	12	11	10	9	8	10	7	7
<i>P. Aeruginosa</i> ATCC 27853	8	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
<i>S. Aureus</i> ATCC 25923	21	6	12	12	7	9	9	8	8	7	7

A.- Escherichia coli ATCC 25922 :

Selon les résultats de l'antibiogramme présentés dans la figure ci-dessous et dans le tableau 02, l'antibiotique l'ampicilline possède le zone d'inhibition le plus élevée avec une valeur de 21mm.

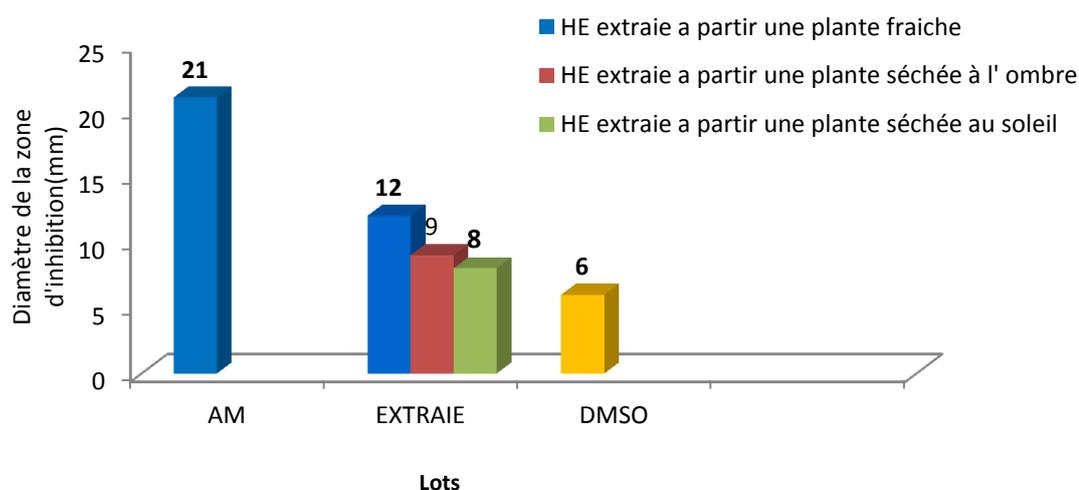


Figure04: Diamètres des zones d'inhibition observés au niveau des lots *d'Escherichia coli* témoins et traités par les huiles essentielles *P. chloranthus*

B.- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 :

Cette souche à Gram négatif est résistante à tous les extraits et l'antibiotique.

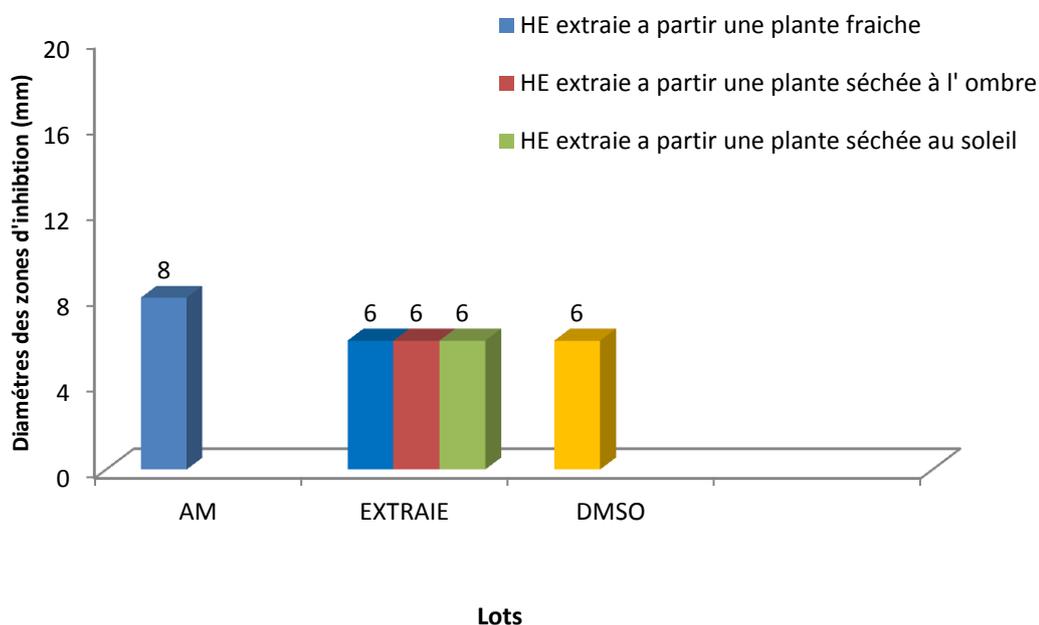


Figure05 : Diamètres des zones d'inhibition observés au niveau des lots de *Pseudomonas aeruginosa* témoins et traités par les huiles essentielles *P. chloranthus*

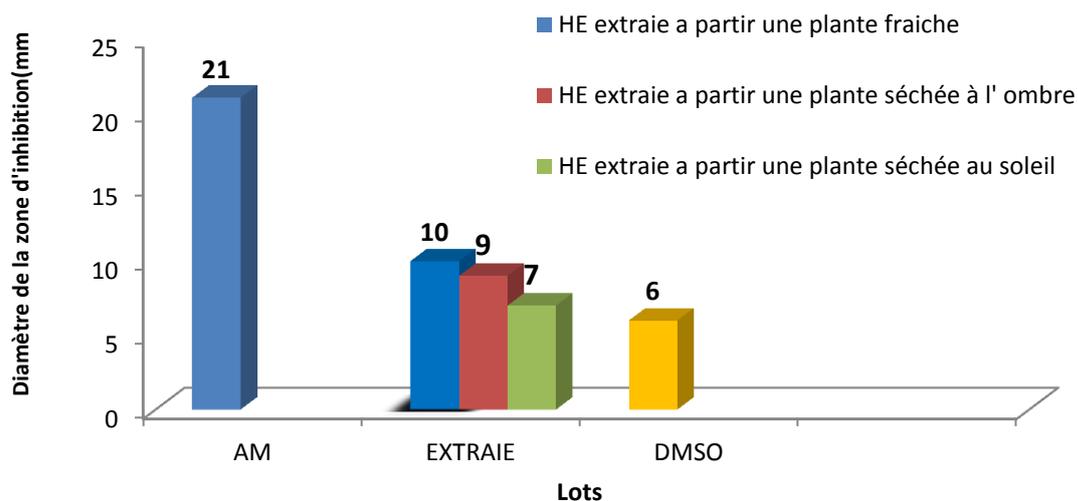
C.- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 :

Figure 06 : Diamètres des zones d'inhibition observés au niveau des lots de *Staphylococcus aureus* témoins et traités par les huiles essentielles *P. chloranthus*

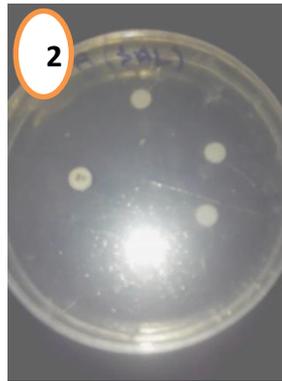
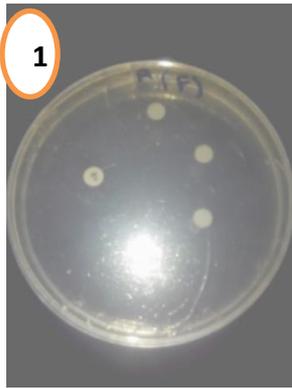
Pour la souche *S. aureus*, nous avons vu qu'il y a une inhibition par l'ampicilline et une faible inhibition par les trois extraits.

D'après la littérature, nous avons considéré qu'une huile essentielle a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 15 mm (ROSSI, 2003).

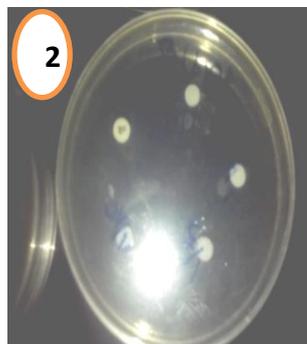
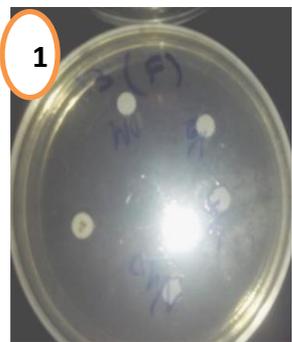
Ainsi, l'huile essentielle de *Pituranthos chloranthus* (fraîche, séchée à l'ombre, séchée au soleil) s'est avérée inactive sur la souche bactérienne testée *Pseudomonas aeruginosa*, et les souches bactérienne *E. Coli* (10 mm) et *Staphylococcus aureus*(11mm) qui présentent une faible sensibilité. En effet, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 10 mm et 11mm.

On remarque également que toutes les souches microbiennes testées sont sensibles à l'antibiotique (Ampicilline) à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui est résistante à l'antibiotique l'Ampicilline .

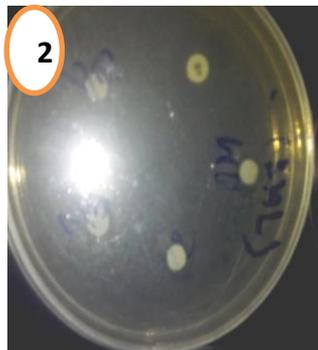
ABDEL GHANI et HAFEZ en 1995, ont testé l'activité de l'huile essentielle de *P. tortuosus* vis-à-vis des souches microbiennes suivantes : *S. aureus*, *Bacillus subtilis* , *E. coli*, *C. albicans* et *A.niger*. Ils ont trouvé que cette huile essentielle présente un faible pouvoir antimicrobien. Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 10 et 12 mm.



Réaction d'*E. coli* vis-à-vis des huiles essentielles de *P. chloranthus* testées



Réaction de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des huiles essentielles de *P. chloranthus* testées



Réaction de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des huiles essentielles de *P. chloranthus* testées

Photo 06 : Sensibilité des souches microbiennes selon la méthode de diffusion sur disque
(1 : HE extraie a partir une plante fraîche, 2 : HE extraie a partir une plante séché a l'ombre , 3 :HE extraie a partir une plante séché au soleil)

VI.3.-Test de l'activité antioxydant

VI.3.1.- Evaluation de l'activité antiradicalaire par le DPPH

La capacité de piégeage des radicaux libres (DPPH•) a été mesurée à partir du changement de la couleur violette de la solution méthanolique de DPPH sous l'effet des composés présents dans l'huile et pouvant céder un atome d'hydrogène ou un électron. La mesure de l'activité s'effectuant par spectrophotométrie (BURITS et BUCAR, 2000 et SACCHETTI et *al.* 2005 cité par NEFFATI et *al.* 2009).

Ces antioxydants donneurs d'électrons aux radicaux libres conduisent à des espèces non radicalaires et par conséquent inhibent la propagation de l'oxydation des lipides (LUGASI et *al.* 1998 cité par FABRI et *al.*, 2009).

Les résultats de calcul des pourcentages d'inhibition du radical DPPH• à partir de différentes mesures de l'absorbance (A) effectuées par spectrophotométrie à 517 nm, sont illustrés en (Figures).

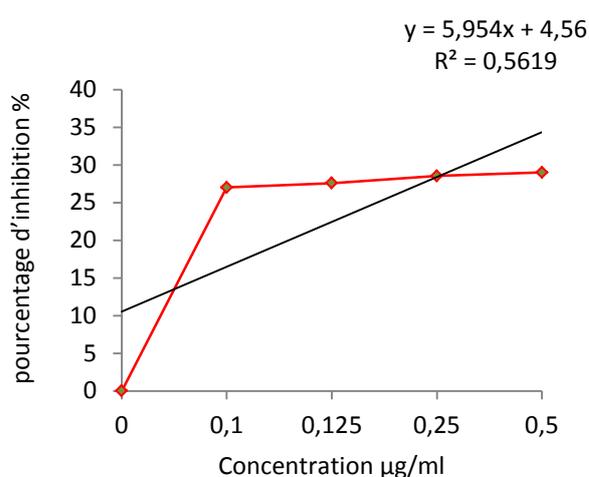


Figure 07 : Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction de l'acide ascorbique (vitamine C).

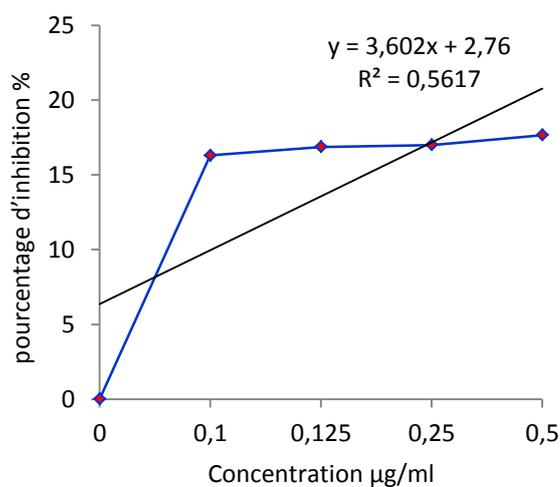


Figure 08 : Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de l'huile essentielle extraite à partir d'une plante fraîche

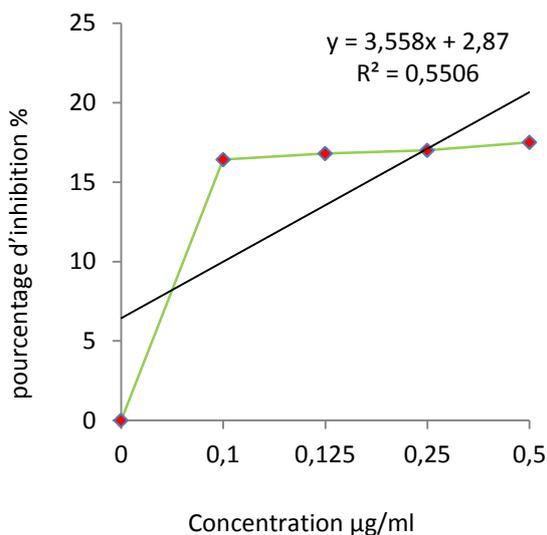


Figure 09 : Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de l'huile essentielle extraie a partir une plante séchée à l'omber

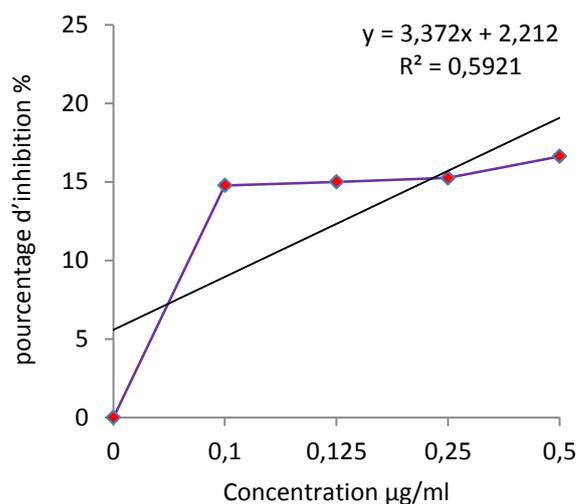


Figure 10 : Variation du pourcentage d'inhibition du DPPH• en fonction des concentrations de l'huile essentielle extraie a partir une plante séchée au soleil

Les valeurs obtenues de ce test exprimées en pourcentages d'inhibition (%) en fonction des concentrations ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec la présence d'une phase stationnaire (Figures 7 ,8,9,10).

A la concentration 0,5µg/ ml, les pourcentages d'inhibition à neutraliser le radical DPPH sont égales à 17,5% pour des huiles essentielles extraie a partir une plante fraiche et presque le mémé pour des HE extraie a partir une plante séché à l'ombre 17,66 %. Par contre, les HE extraie a partir une plante séchée au soleil le pourcentage d'inhibition à neutraliser le radical DPPH sont égales à 16,52 %.

A partir de ces courbes illustrées dans les figures nous pouvons calculer la concentration IC₅₀ correspond à chaque extrait pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant.

Tableau 04 : Concentration IC₅₀ correspond à chaque extrait

Extraits	IC ₅₀ (µg/ ml)
Huile essentielle extraie a partir une plante fraiche	13,11
Huile essentielle extraie a partir une plante séché à l'ombre	13,25
Huile essentielle extraie a partir une plante séchée au soleil	14 ,17
Vitamine C	7,63

Nous avons exprimé l'activité antioxydante de cet extrait en IC_{50} , cette dernière définit la concentration inhibitrice du substrat qui cause la perte de 50% d'activité de DPPH• (couleur) et s'obtient à partir de la droite tracée. Plus la valeur IC_{50} est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande (BLOIS, 1958 et UCHIYAMA et *al.*, 1968 cité par KALLA, 2012).

Nous remarquons que la valeur IC_{50} de l'extrait de la plante fraîche et séchée à l'ombre est égale à 13,11 $\mu\text{g/ml}$ et 13,25 $\mu\text{g/ml}$, nous avons comparé nos résultats à l'acide ascorbique pris comme antioxydant de référence justifié par la valeur $IC_{50} = 7,63 \mu\text{g/ml}$, et la valeur IC_{50} de l'extrait de la plante séchée au soleil est égale 14,17 $\mu\text{g/ml}$.

Par rapport aux résultats cités dans les travaux de NEFFATI et *al.*(2009) et YANGUI et *al.*(2009), où les IC_{50} sont de l'ordre de 0,078 mg/ml et 0,059 mg/ml respectivement pour la même espèce.

YANGUI et *al.* (2009) indiquent que l'activité antioxydant et l'activité de piégeage du radical DPPH de l'huile essentielle de *P. chloranthus* peut être attribuée à la présence de quelques composés qui sont responsables de l'activité antioxydante. Ces différents composés cités par plusieurs auteurs sont: terpinen-4-ol (RUBERTO et BARATTA, 2000), myrtenol (LEE et SHIBAMOTO, 2001), p-menth-2-en-1-ol (TUZUN et YEGEN, 2000), 8-hydroxy-pcymene (BEDOUKIAN et WELDON, 2007 cité par SABOUNI, 2015).

Ces composés sont considérés comme étant les constituants principaux ou majoritaires de l'huile essentielle de *P. chloranthus* et la plupart appartiennent au groupe des monoterpènes (YANGUI et *al.*, 2009 cité par SABOUNI, 2015).

De même, NEFFATI et *al.* (2009) ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle de *P. chloranthus* et ont rapporté que la plupart des composés étaient des monoterpènes et que le thymol et le carvacrol sont les composés majoritaires. Les composés qui sont majoritaires et appartenant aux classes des monoterpènes, cyclopentanes et des aldéhydes dans une huile essentielles expriment une forte activité antioxydant (RICCI et *al.* 2005 cité par SABOUNI, 2015).

Conclusion

Conclusion

La présente étude porte sur l'étude de l'effet de la technique de séchage de la plante *Pituranthos chloranthus* sur les propriétés biologiques des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation. L'étude vise trois points dont le rendement en huiles essentielles, le pouvoir antioxydant (test de pouvoir réducteur, DPPH) et le pouvoir antimicrobienne

Les rendements obtenus, montrent que le séchage à l'ombre représente la meilleure technique de séchage pour cette plante; un rendement en huiles de 1,082% est noté, suivi par la plante fraîche 0,88%. Le séchage au soleil affecte négativement le rendement en huiles essentielles, un rendement de l'ordre de 0,46% est estimé.

L'activité antimicrobienne est mise en évidence par la méthode de diffusion sur disque. L'huile essentielle de *Pituranthos chloranthus* (fraîche, séchée à l'ombre, séchée au soleil) s'est avérée inactive sur la souche bactérienne testée *Pseudomonas aeruginosa*, et les souche bactérienne *Escherichia Coli* (10mm) et *Staphylococcus aureus* (11mm) qui présentes une faible sensibilité. En effet, les diamètres des zones d'inhibition varient entre 10 et 11mm. On remarque également que toutes les souches microbiennes testées sont sensibles à l'antibiotique (Ampicilline) à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa*.

Les propriétés antioxydantes sont estimées via le test de pouvoir réducteur, DPPH. A la concentration 0,5 µg/ml, les pourcentages d'inhibition (à neutraliser le radical DPPH) sont égales à 17,66 % pour des huiles essentielles extraie à partir d'une plante fraîche et presque le même pour les HE extraites à partir de la plante séchée à l'ombre 17,5% . Par contre, les HE extraites à partir de la plante séchée au soleil, le pourcentage d'inhibition (à neutraliser le radical DPPH) est égale à 16,52 %. La concentration IC₅₀ correspond à chaque extrait pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant est, pour la plante fraîche et séchée à l'ombre est égale à 13,11 µg/ml et 13,25 µg/ml, et la valeur IC₅₀ de l'extrait de la plante séchée au soleil est égale 14 ,17µg/ml.

Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour approfondir les recherches sur cette plante afin de confirmer les résultats trouvés, et d'exploiter cette plante dans les différents domaines de l'alimentaire et d'appliquer cette huile essentielle dans l'industrie alimentaire, de sorte à éviter au maximum l'utilisation d'antioxydants artificiels tels le BHT (butyle hydroxy toluène) et le BHA (butyle hydroxy anisole).

Conclusion

Ainsi cette étude mérite d'être poursuivie et de lever le voile sur les différents bénéfices technologiques et de santé de l'huiles essentielles de cette plante surtout lors que le rendement est acceptable.

Il est souhaitable d'évaluer et tester ces molécules actives pour d'autres propriétés biologiques in vivo et de mettre en exergue l'effet des techniques de séchage sur les caractéristiques et la composition chimiques de ces extraits via les analyses fines dont la chromatographie en phase gazeuse couplé au spectrophotomètre de masse (CPGMS).

Références

bibliographique

ABDEL GHANI A., Hafez S.S. 1995. GC-MS Analysis and antimicrobial activity of volatile oil of *Pituranthos tortuosus* (Desf.). *Qatar Univ. Sci J.*, 15, 23-26.

ABU-ARABIM.K, Allawzi M. A., Al-Zoubi H.S., Tamimi A. (2000). Extraction of jojoba oil by pressing and leaching. *Chemical Engineering Journal*, 76, 61-65

AFNOR (1992). Association Française de Normalisation « huiles essentielles ». Recueil des normes françaises. 4emeEdition AFNOR, Paris

AGNIHOTRIA., KHATOON S., SHANTAM. (2003). Pharmacognostic evaluation of an antioxidant *Plantagorus calamus* L. *Nat. Prod. Sci.*, 9, 264-269.

BACHELOT C., BLAISE A., CORBEL T. ET LE GUERNIC A. 2006. Les huiles essentielles : extraction et comparaison. U.C.O Bretagne. Pp: 1-18.

BEDOUKIAN R.H., WELDON P.J. 2007. Spatial inhibitors, deterrents and repellents for mosquitoes and midges. USPTO Patent Application 20070049644. (WO/2007/025197). Cité par : SABOUNI Rima.2015. Effet antioxydant de l'huile essentielle de la plante Guezzah (*Pituranthos chloranthus*) incorporée dans des shortenings produits au niveau de CEVITAL SPA, Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en sciences alimentaires Option : Technologies Alimentaires. UNIVERSITE CONSTANTINE -1-. 93 p.

BELLAKHDAR J. 1997. Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle, ibis Press. Cité par : NAIT SAID N. 2007. Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes: « *Pituranthos chloranthus* » et « *Marrubium vulgare* », Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en chimie. Option : chimie organique. Université El-Hadj Lakhdar – Batna. 112 p.

BELOUED A .1998. Plantes medicinales d'algerie. Dép De Botanique A L'institut National agronomique d'El-Harrch-Algérie.P:277.

BENISTON .1984. FLEUR D'ALGERIE, Ed : entreprise nationale du livre Alger, N° d'édition : 1822/84. 359p

BENKACI-ALI F., BAALIOUAMER A., Meklati1 B.Y., Chemat F. (2006). Chemical composition of seed essential oils from Algerian *Nigellasativa* extracted by microwave and hydrodistillation. *Flavour And Fragrance Journal*, 22, 148–153.

BENMEKHBI L., KABOUCHE A., KABOUCHE Z., AIT-KAKI B., TOUZANI R., BRUNEAU C. 2008. FIVE GLYCOSYLATED FLAVONOIDS FROM THE ANTIBACTERIAL

BUTANOLIC EXTRACT OF *Pituranthos scoparius*, Chemistry of Natural Compounds. 44: 5, 639-641.

BERGOUGNOUX V. (2005). Biosynthèse et sécrétion du parfum chez *Rosa x hybrida* L. Thèse de Doctorat, Académie de Lyon, France.

BLOIS, M.S. (1958). Antioxydant determination by the use of stable free radical, Nature : 181.

BOUALLALA M., CHEHMA A., BENSETTI M. 2011. Variation de la composition chimique de principales plantes broutées par le dromadaire du Sud-Ouest Algérien, Livestock Research for Rural Development. **23** (5): 2-9

BOUTAGHANE N., NACER A., KABOUICHE Z., AIT-KAKI B. 2004. Comparative antibacterial activities of the essential oils of stems and seeds of *Pituranthos scoparius* from Algerian septentrional sahara. Chemistry of Natural Compounds. 40 (6): 606-607.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E., BERSET, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxydant activity, Lebensmittel- Wissenschaft and technologie(28) : 25-30.

BRUNETON J. 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, Ed : Tec & Doc, Lavoisier, 4ème édition, Paris, 1269p

BURITS et BUCAR F, 2000. Antioxydant activity of *Nigella sativa* essential oil Phytotherapy research , vol . 14 ,p. 323-328

CAREE P. 1953. Précis de technologie et de chimie industrielle. Tome III. Ed : Ballière J.B. et fils. Cité par MOHAMMEDI Z. 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en Biologie. Option : Produits naturels, activités biologiques et synthèse. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. 155 p.

CATIER O., ROUX D. 2007. Cahiers du préparateur en pharmacie « Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3è Ed : Wolters Kluwer, Paris. 141p.

CAVALLI, J.F. 2002.- Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de doctorat, Université de Corse Pascal Paoli

CHAUMONT J.P. LEGER D. (1989). Propriétés antifongique de quelques phénols et des composés chimiquement très voisin : Relation structure-activité. Planta Med. Phyto., 23, 124-126

CHEHMA A., DJEBAR M.R., HADJAJI F., ROUABEH L. 2005. Étude floristiques patio-temporelle des parcours sahariens du Sud-Est algérien, *Sécheresse* ; 16 (4) : 275-85

DAHIAA M., SIRACUSAB L., LAOUERC H., RUBERTO G. 2009. Constituents of the Polar Extracts from Algerian *Pituranthos scoparius*, *natural product communications*. 4 (12):1691-1692.

DAMJANOVIC´ B., LEPOJEVIC Z., ZIVKOVIC V., TOLIC A. 2005. Extraction of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds with supercritical CO₂: Comparison with hydrodistillation, *Food Chemistry*. 92:143–149.

DORMAN H.J.D., DEANS S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*,88, 308-316.

DUPONT, F., GUIGNARD, J.L. (2007). *Abrèges botanique systématique moléculaire*. 14ème édition révisée, Masson.

FABRIR L., NOGUEIRA M.S., BRAGA F.G., COIMBRA E.S., SCIO E. 2009. *Mitracarpus frigidusa* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. *Bioresource Technology* .100 : 428–433

FAUCHER, J.L., Avril, J.L. 2002. *Bactériologie générale et médicale*. Tome 1, Ellipses (Ed.), Paris, 214p.

FRENCH J.(1651). *The Art of Distillation*. Richard Cotes Editions, London

GARNERO M.J , 1977. Problèmes rencontrés au cours de l'étude de la composition chimique des huiles essentielles .*Parfums – cosmétique –aromes*, vol .14, p .31- 40

HABA H., BENKHALED M., MASSIOTG., LOG C., LAVAUD C. (2004). Alkylated isocoumarins from *Pituranthos scoparius*. *Natural Product research*, 18, 409-413

HAMMICHE V., MAIZA K. 2006. Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*. 105 : 358–367.

HELLAL Z. 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. : Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magistère, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 78 p.

IUCN. 2005. *A guide to medicinal plants in northafrica*, ISBN, spain. 2-8317-0893-1, 256p.

JÖNS JAKOB BERZELIUS (FRIHERRE), OLOF GUSTAF ÖNGREN. 2009 . Traité de chimie, Volume 2 , l'Université du Michigan , A. Wahlen et Cie., 1838,508P .

KAABECHE, M. Les Groupements Végétaux de la région de Bousaada, Thesis Université Paris Sud, 1990. Cité par BENABDELKRIM N. 2013. Contribution à l'étude du rendement et du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *Pituranthos chloranthus* de la région de Biskra . Thèse de Master .Université Abou Bekr Belkaïd , Tlemcen , Algérie,62 P

KAPETANOVICS., DJUGUMOVICS., RAMICR.(1984). Isolement de l'huile essentielle de rose par distillation sèche. *Parfums, Cosmétiques et Arômes J.*, 56, 77-78.

KARTIKA A.I. (2005). Nouveau procédé de fractionnement des graines de tournesol : expression et extraction en extruder bi vis, purification par ultrafiltration de l'huile de tournesol. Thèse doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, France

KOUZMINE, Y. -2007- Dynamique et mutations territoriales du Sahara algérien, Vers de nouvelles approches fondées sur l'observation. Thèse Doctorat en Géographie, Univ. Franche-Comté, France, 423 p.

LAGUNEZ RIVERA L. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France.

LEE J. H., AKOH C. C., LEE K.T. 2008. Physical Properties of trans-Free Bakery Shortening Produced by Lipase-Catalyzed Interesterification. *J Am Oil Chem Soc.* 85:1–11

LOGRADA T., RAMDANI M., KIRAM A., CHALARD P., FIGUEREDO G. 2013. Variation of essential oils composition of *Pituranthos scoparius* in Algeria. *Global J Res. Med. Plants & Indigen. Med.* 2 : 1–9.

LUCCHESI M.E. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes : Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, discipline : Chimie, Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies, Pp19

LUCCHESI M.E., CHEMAT F., SMADJA J. (2004). An original solvent free microwave extraction of essential oil from spices. *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 134-138.

LUGASI A., DWORSCHÁK E., BLÁZOVICS A., KÉRY A., 1998. Antioxidant and free radical scavenging properties of squeezed juice from black radish (*Raphanussativus* l. var. *niger*) root. *Phytother. Res.* 12: 502–506

MANSOURI A., EMBAREKG., KOKKALOU E., KEFALAS P. 2005.- Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date fruit (*Phoenix dactylifera*), *Food Chemistry*, 89: 411-420.

MASUDA T., YONEMORI S., OYAMA Y., TAKEDA Y., TANAKA T. and ANDOH, T. 1999 - Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1749–1754.

MOLYNEUX, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Song Klama Karin J.Sci. Technol*, 26 (2): 211-219.

NAIT SAID N., 2007. Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes: « *Pituranthos chloranthus* » et « *Marrubiumvulgare* ». Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en chimie. Option : chimie organique. Université El-Hadj Lakhdar – Batna. 112 p.

NEFFATI A., BOUHLELA I., BEN SGHAIERA M., BOUBAKERA J., LIMEMA I., KILANI S. SKANDRANIA I., BHOUREIA W., LE DAUPHINC J., BARILLIER D., MOSRATI R., CHEKIR-GHEDIRAA L., GHEDIRAA K., 2009.- Antigenotoxic and antioxidant activities of *Pituranthos chloranthus* essential oils, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27 :187–194.

NOVAK L., BUZAS G., MINKER E., KOLFAI M., SZENDREI K. 1966. *Planta med* .14, p: 57. Cité par : NAIT SAID N., 2007. Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes: « *Pituranthos chloranthus* » et « *Marrubiumvulgare* ». Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en chimie. Option : chimie organique. Université El-Hadj Lakhdar – Batna. 112 p.

OZEL M. Z., KAYMAZ H. 2004. Superheated water extraction, steam distillation and Soxhlet extraction of essential oils of *Origanum onites*, *Anal Bioanal Chem*. 379: 1127–1133.

OZENDA, P. *Flore du Sahara*, 1958, Ed. CNRS Paris France. Cité par BENABDELKRIM N. 2013. Contribution à l'étude du rendement et du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *Pituranthos chloranthus* de la région de Biskra . Thèse de Master .Université Abou Bekr Belkaïd , Tlemcen , Algérie,62 P

PELLECUER J., ROUSSEL J.L., ANDARY C.C. 1980. Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles. *Rivista Italiana Essenzo (EPPOS)*,23,45-50.

PENSSINI G.L., PRADO DIAS FILHO CELSO B., NAKAMURA V., CORTEZ D.A.G. (2003). Antibacterial activity of extracts and neolignans from *Piper Regnelli* (Miq).C.D.C. var. *pallescens* (C.D.C). *yunk. Memorias do instituo Oswaldo Cruz*, 98.cité par Ben abdelkrim N.2013.Contribution à l'étude du rendement et du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de

Pituranthos chloranthus de la région de Biskra . Thèse de Master .Université Abou Bekr Belkaïd , Tlemcen , Algérie,62 P

PIOCHON M. (2008). Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémisynthèse. Mémoire, Université du Québec à Chicoutimi, Canada

POKORNY J., YANISHLIEVA N., GORDON M. 2001. Antioxidants in food, practical applications. Wood head Publishing Ltd. 380p.

QUEZEL, F. et Sanata, S. Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Vol. 1-2 Ed. CNRS, Paris France, 1962, 1963. 1170 p

RICCI D., FRATERNALE D., GIAMPERI L., BUCCHINI A., EPIFANO F., BURINI G. 2005. Chemical composition, antimicrobial, and antioxidant activity of the essential oil of *Teucrium marum* (Lamiaceae). *J Ethnopharmacol.* 98:195– 200. Cité par : SABOUNI Rima.2015. Effet antioxydant de l'huile essentielle de la plante Guezzah (*Pituranthos chloranthus*) incorporée dans des shortenings produits au niveau de CEVITAL SPA, Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en sciences alimentaires Option : Technologies Alimentaires. UNIVERSITE CONSTANTINE -1-. 93 p.

ROSSI P.G. (2003). Caractérisation et valorisation des produits issus de la biomasse : activité biologique des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université de Corse, 2.

ROUX D. (2008). Conseil en aromathérapie. 2^{ème} édition Pro-Officiant, p: 187.

RUBERTO G., BARATTA M.T. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.* 69: 167–174

SACCHETTI G., MAIETTI S., MUZZOLI M., SCAGLIANTI M., MANFREDINI S., RADICE M. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origins as functional antioxidants, antiradicals, and antimicrobials in foods. *Food Chem.* 91:621–632.

SEGVIC KLARIC M., KOSALEK I., MASTELIC J., PIECKOVA E. & PEPELJNAK S. 2007. Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Letters in Applied Microbiology*, 44: 36-42.

SBF., 2011. Document sur les activités de la société botanique de France « Flore et végétation de la Tunisie méridionale », 281-359

SFM, (2015). Société française de microbiologie. Comité de l'antibiogramme . Recommandation 2015 .V.2.0. Juillet

SIVROPOULOU A., PAPANIKOLAOU E, NIKOLAOU C.,KOKKINI S.,LANARAS T., ARSENAKIS M. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of origanum essential oils. J. Agric. Food Chem., 44, 1202-1205 .

TEUSCHER E., ANTON R. 2005. Plantes aromatiques « épices, aromate, condiments et huiles essentielles », Ed : TEC& DOC, Lavoisier, Paris.521p.

TOUIL A., RHOUATI S., CRECHE J. 2006. flavonoid glycosides from *Pituranthos chloranthus*. Chemistry of Natural Compounds. 42 (1) :104-105

TUZUN S., YEGEN O. 2000. A natural and safe alternative to fungicides, bacteriocides, nematicides and insecticides for plant protection and against those hold pests. Patent WO/ 2000 / 021364.

UNESCO, 1960-Les plantes médicinales des régions arides. Recherche sur les zones arides XIII. Ed. UNESCO, Rome, 97 p.

VERITE P., NACER A., KABOUCHE Z., SEGUIN E. 2004. Composition of seeds and stems essential oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Dur.) Schinz, FlavourFragr. J. 19: 562–564.

VIOLLON A., CHAUMONT J.P. (1994). Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. Mycopathologia, 128, 151-153.

WARNKE P. H., SHERRY E., RUSSO P. A. J., ACIL Y., WILTFANG J., SIVANANTHAN S., SPRENGEL M., ROLDAN J. C. 2006. Antibacterial essential oils in mlodorous cancer patients : clinical observations in 30 patients. Phytomedicine, 13: 463-467

YANGUI T., BOUAZIZ M., DHOUIB A., SAYADI S. 2009. Potential use of Tunisian *Pituranthos chloranthus* essential oils as a natural disinfectant. Letters in Applied Microbiology ISSN 0266-8254. 48: 112–117.Cité par : SABOUNI Rima.2015. Effet antioxydant de l'huile essentielle de la plante Guezzah (*Pituranthos chloranthus*) incorporée dans des shortenings produits au niveau de CEVITAL SPA, Thèse pour l'obtention du diplôme de magister en sciences alimentaires Option : Technologies Alimentaires. UNIVERSITE CONSTANTINE -1-. 93 p.

ZAKARYA A.,FATHALLAHT., CHASCTRETTE M. (1993). Use of multifunctional auto correlation method to estimate molar volumes of alkanes and oxygenated compounds: Comparison

between components of auto correlation vectors and topological indices. *J. Phys. Org. Chem.*, 6, 574-582.

ZAMBONELLIA., D'AURELIO A.Z., SEVERI A.,BENVENUTI E., MAGGIL., BIANCHI A. (2004). Chemical composition and fungicidal activity of comercial essential oils of *Thymus vulgaris* L. *J. Essent. Oil Res.*, 16, 69-74.

ZHIRI A.2006. Les huiles essentielles: un pouvoir antimicrobien avéré. *Natural News. Science, Nutrition, Prévention et Santé*, Edité par la Fondation pour le libre choix, 12, p:8.

ZIMING WANG, LAN DING, TIECHUN LI, XINZHOUA, LU WANGA, HANQI ZHANG,LI LIU , YING LI, ZHIHONG LIU, HONGJU WANG, HONG ZENGB, HUI H, (2006). Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum*L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A*, 1102, 11–17.