

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



## Université de Ghardaïa

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

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie

**Filière :** Ecologie et environnement

**Spécialité :** Sciences de l'environnement

**Par : BOUGUELMOUNA Fatima**

### Thème

Extraction et Etude biologique de trois plantes : *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens*

**Soutenu publiquement le : 17/06/2014**

#### Devant le jury :

<b>M<sup>me</sup>. HAMID OUDJANA A</b>	Maître Assistante A	Univ. Ghardaïa	<b>Présidente</b>
<b>M<sup>me</sup>. MEHANI M</b>	Maître Assistante A	Univ. Ghardaïa	<b>Encadreur</b>
<b>M. GUERGUEB E</b>	Maître Assistant B	Univ. Ghardaïa	<b>Examineur</b>
<b>M. BELHACHEMI MH</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Examineur</b>

**Année universitaire 2013/2014**

# *DÉDICACE*

*A mon père, celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la science et la volonté forgent les grands esprits.*

*Ama mère, celle qui m'a appris que la patience est la clef de la réussite.*

*A mes sœurs : Rabàa, Keltoum, Hanane et Kholoude, et mon seul frère AbdElmadjid, qui m'ont toujours soutenus et m'ont donnés force pour persévérer dans les pires moments, je vous aime.*

*A mes deux grandes familles*

*A toutes mes amies surtout: Nadjjet, Keltoum, Nadjoi, Fatiha, Zineb, Souad, Samia, Aziza, Atra, Noura et khadidja.*

# Fatima

# Remerciements

*Nous remercions notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donnés pour mener ce travail à terme.*

*Je commence par exprimer ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à Mme MEHANI MOUNA qui m'a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. J'ai été satisfait de votre qualité exceptionnelle de bonne enseignante, merci de m'avoir guidé avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit ; je ne peux, Madame, que sincèrement vous exprimer mon respect et mon gratitude.*

*Je tiens à remercier Mme. HAMID OUDJANA A (Maître Assistante A au Département de Biologie à la Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'Université de Ghardaïa), d'avoir accepté la présidence du jury de mon travail, qu'elle trouve ici toutes mes expressions respectueuses.*

*Je tiens à remercier M.GUERGUEB E (Maître Assistant A au Département de Biologie à la Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'Université de Ghardaïa), pour le grand honneur qu'il me fait partie des membres du jury de mon travail.*

*Ma profonde reconnaissance est adressée aussi à M. BELHACHEMI M.H (Maître Assistante A au Département de Biologie à la Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'Université de Ghardaïa), pour votre temps précieux que vous avez consacré à l'examen de présent travail.*

*Ce travail aurait été impossible sans le soutien et l'aide des membres de ma famille qu'ils reposent paix, mon père, ma mère, mon frère et mes sœurs*

*Je tiens à remercier également toute l'équipe des laboratoires de chimie et de biologie pour leur aide et encouragement.*

*A toute ma promotion de Master 2013/2014 ;*

*A tous les enseignants et les étudiants de SNV.*

*Mes remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

**MERCI**

A close-up photograph of several pink orchid flowers in full bloom, set against a soft, blurred background of more pink flowers. The petals are delicate and layered, with some showing subtle veining. The overall color palette is a range of pinks, from light blush to deep magenta.

## **Extraction et Etude biologique de trois plantes *Mentha pulegium L.*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens***

### **Résumé**

La présente étude est portée essentiellement sur l'extraction des huiles essentielles de trois plantes médicinales et aromatiques *Mentha pulegium L.*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens*, l'extraction a été réalisée par la méthode de l'hydrodistillation,. Le test d'activité antibactérienne de ces plantes ce fait sur 4 souches bactérienne. Notre étude laisse apparaitre: que les rendements des huiles essentielles de *Mentha pulegium L* (0.25 %) et de *pelargonium graveolens* (0.15 %), les huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* ont très forte activité antibactérienne ( $36 \pm 0.816$  mm) par rapport au *Mentha pulegiumL* ( $19 \pm 0$  mm) sur *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aerogenosa*, et pour les hydrolats de nos plantes, on observe une moyenne efficacité vis-à-vis des huiles essentielles.

**Mots clés:** Plantes Médicinales et Aromatiques, Hydrodistillation, Activité antibactérienne, Huiles essentielles et Hydrolats.

## **Extraction and biological study of three plants *Mentha pulegium L.*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens***

### **Abstract**

This study is focused on the extraction of essential oils from three medicinal and aromatic plants *Mentha pulegium L.*, *Apium graveolens* and *Pelargonium graveolens* was performed by the method of hydrodistillation ., Test of the antibacterial activity of these plants thus the 4 bacterial strains. Our study leaves appear: the yields of essential oils of *Mentha pulegium L.*(0.25 %) and *pelargonium graveolens* (0.15%), the essential oils of *Pelargonium graveolens* have strong antibacterial activity ( $36 \pm 0.816$  mm) from the *Mentha pulegiumL* ( $19 \pm 0$  mm) in *Escherichia coli.*, *Enterobacter cloacae.*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aerogenosa*, and hydrosols our plants, an average efficiency observed compared to the essential oils.

**Keywords:** Medicinal and Aromatic Plants, Hydrodistillation , Antibacterial Activity , Essential Oils and Hydrosols .

## الاستخلاص والدراسة البيولوجية لثلاث نباتات *Mentha pulegium L.* *Pelargonium graveolens* و *Apium graveolens*

### ملخص

تركز هذه الدراسة على استخراج الزيوت الطيارة من النباتات الطبية والعطرية، *Apium* *Mentha pulegium L.* و *graveolens* و *Pelargonium graveolens* باستعمال طريقة التقطير بالبخار واختبار نشاطها المضاد للميكروبات على أربع سلالات بكتيرية.

أظهرت النتائج أن غلة الزيوت الطيارة لنباتة *Mentha pulegium L.* (0.25%) و *pelargonium* (0.15%) *graveolens* نسبتهم ضعيفة جدا بالنسبة لأبحاث أخرى. الزيوت الطيارة لنباتة *pelargonium graveolens* التي لها نشاط بيولوجي فعال جدا  $0.816 \pm 36$  مم مقارنة بنباتة *Mentha pulegium L.*  $19 \pm 0$  مم على *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerogenosa* و *Eterobacter cloacae* / أما بالنسبة للماء المعطر نلاحظ فعالية متوسطة مقارنة بفعالية الزيوت الطيارة.

**الكلمات الدالة:** النباتات الطبية و العطرية، التقطير بالبخار، النشاط الميكروبيولوجي، الزيوت الطيارة، الماء المعطر

# Liste des figures

numéros	titres	pages
01	Limite administratives de la wilaya de GHARDAIA	11
02	Diagramme des zones d'inhibition des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium L</i> et <i>Pelargonium graveolens</i> .	27
03	Diagramme des zones d'inhibition des hydrolats de <i>Mentha pulegium L</i> , <i>Apium graveolens</i> et <i>Pelargonium graveolens</i>	30



# Liste des tableaux

numéros	titres	pages
01	Rendements des huiles essentielles de <i>Menthapulegium L</i> , <i>Apium graveolens</i> et de <i>Pelargonium graveolens</i>	26
02	Zones d'inhibition (mm) d'huile essentielle de <i>Mentha pulegium L</i> et de <i>Pelargonium graveolens</i>	27
03	Zones d'inhibition (mm) des hydrolats de <i>Mentha pulegium L</i> , de <i>Apium graveolens</i> et de <i>Pelargonium graveolens</i>	30

# Liste des photos

numéros	Titres	pages
01	Plante de <i>Apium graveolens</i>	13
02	Plante de <i>Mentha pulegium L</i>	14
03	Plante de <i>Pelargonium graveolens</i>	15
04	Extraction des huiles essentielles par l'hydrodistillation	20
05	Ampoule à décanter	20
06	Milieu de culture	21
07	Séchage de milieu de culture	21
08	Racler les souches	22
09	Inoculum des bactéries	22
10	Ensemencement des bactéries dans les boîtes de pétries	23
11	Dépôt des disques	24
12	Zone d'inhibition d'huiles essentielle de <i>Mentha pulegium L</i> sur <i>l'Enterobacter cloacae</i>	28
13	Zone d'inhibition d'huile essentielle et l'hydrolat de <i>Pelargonium graveolens</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
14	Zone d'inhibition d'huile essentielle et l'hydrolat de <i>Pelargonium graveolens</i> sur <i>l'Enterobacter cloacae</i>	28
15	Zone d'inhibition d'huile essentielle de <i>Mentha pulegium L</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
16	Zone d'inhibition d'huile essentielle et l'hydrolat de <i>Pelargonium graveolens</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	29
17	Zone d'inhibition d'huile essentielle de <i>Mentha pulegium L</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	29
18	Zone d'inhibition d'huile essentielle de <i>Mentha pulegium L</i> sur <i>Escherichia coli</i>	29
19	Zone d'inhibition d'huile essentielle et l'hydrolat <i>Pelargonium graveolens</i> sur <i>Escherichia coli</i>	29
20	Zone d'inhibition des hydrolats de <i>Mentha pulegium L</i> et <i>Apium graveolens</i> sur <i>l'Enterobacter cloacae</i>	31
21	Zone d'inhibition des hydrolats de <i>Mentha pulegium L</i> et <i>Apium graveolens</i> sur <i>Escherichia coli</i>	31
22	Zone d'inhibition des hydrolats de <i>Mentha pulegium L</i> et <i>Apium graveolens</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	31
23	Zone d'inhibition des hydrolats de <i>Mentha pulegium L</i> et <i>Apium graveolens</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31

# Liste des abréviations

<b>PAM</b>	Plantes Aromatiques et Médicinales
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de Santé
<b>AFNOR</b>	Association Française de Normalisation
<b>HF</b>	Huile essentielle de <i>Mentha pulegium L</i>
<b>HT</b>	Huile essentielle de <i>Pelargonium graveolens</i>
<b>hF</b>	Hydrolat de <i>Mentha pulegium L</i>
<b>hT</b>	Hydrolat de <i>Pelargonium graveolens</i>
<b>hK</b>	Hydrolat de <i>Apium graveolens</i>
<b>EN</b>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<b>ST</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>PS</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>EC</b>	<i>Escherichia coli</i>

# Table des matières

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre I: Synthèse Bibliographique</b>	
1. Plantes aromatiques et médicinales.....	3
1.1. Plantes médicinales.....	4
1.2. Plantes aromatiques.....	5
1.3. Utilisation des plantes aromatique et médicinales.....	5
1.4. Effets antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales.....	6
2. Huiles essentielles.....	6
2.1. Définition.....	6
2.2. Historique.....	6
2.3. Compositions des huiles essentielles.....	8
2.3.1. Terpénoïdes.....	8
2.3.2. Composés aromatiques.....	8
2.4. Caractéristiques et propriétés physiques.....	8
2.5. Toxicité des huiles essentielles.....	9
2.6. Mode d'action contre les bactéries.....	9
2.7. Méthodes d'extraction.....	10
<b>Chapitre II: Matériels et Méthodes</b>	
1. Matériels.....	11
1.1. Cadre géographique de la région d'étude.....	12
1.2. Matériels végétales.....	12
1.2.1. <i>Apium graveolens</i> .....	12
1.2.1.1. Description.....	13
1.2.1.2. Classification.....	13
1.2.1.3. Utilisation.....	14
1.2.2. <i>Mentha pulegium L.</i> .....	14
1.2.2.1. Description.....	14
1.2.2.2. Classification.....	15

1.2.2.3. Utilisation.....	15
1.2.3. <i>Pelargoniumgraveolens</i> .....	15
1.2.3.1. Description.....	16
1.2.3.2. Classification.....	16
1.2.3.3. Utilisation.....	17
1.3. Matériels biologiques.....	17
1.3.1. Bactéries à Gram négatif.....	17
1.3.1.1. <i>Pseudomonas aerogenosa</i> .....	17
1.3.1.2. <i>Escherichia coli</i> .....	17
1.3.1.3. <i>Enterobactercloacae</i> .....	18
1.3.2. Bactéries à Gram positif.....	18
1.3.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
1.4. Matériels de laboratoire.....	18
2. Méthodologie de travail.....	19
2.1. Protocole d'extraction des huiles essentielles.....	19
2.1.1. Hydrodistillation.....	19
2.2. Détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	20
2.2.1. Aromatogramme.....	21
2.2.2. Préparation de milieu de culture.....	21
2.2.3. Etapes de l'Aromatogramme.....	21
a. Inoculum.....	22
b. Ensemencement.....	22
c. Préparation des disques d'aromatogramme.....	23
d. Incubation et Lecture.....	24
2.3. Rendement des huiles essentielles.....	25
<b>Chapitre III: Résultats et discussion</b>	
1. Résultats.....	26
1.1. Calcul de rendement.....	26
1.2. Etude de l'effet d'inhibition.....	26
2. Discussion.....	32
Conclusion et perspectives.....	34
Références bibliographiques.....	35



# *Introduction*

## **Introduction**

La connaissance par l'homme de l'utilisation des plantes, qu'il s'agisse de plantes alimentaires, médicinales ou toxiques, est très ancienne (SEVENET et TORTORA, 1994). Alors que se soigner par les plantes est un instinct, qui se retrouve d'ailleurs dans le comportement des animaux. Cette pratique a engendré d'innombrables croyances sur ce qui sauve la vie et sur les forces qui lui sont néfastes. Beaucoup de remèdes phytothérapeutiques sont nés des observations, de l'inspiration et de l'expérience des guérisseurs, devenus des personnages révéérés dans toutes les tribus et chez tous les peuples (BREMNESS, 1998). Ces notes, observations et applications ont été enregistrées depuis des millénaires dans les diverses parties du monde (BERNADET, 2000).

Selon l'OMS, la phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et est encore massivement employée dans certains pays, dont les pays en voie de développement. C'est une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique (AZALENKO, 2005). Le retour et pour cause vers la phytothérapie est aujourd'hui une démarche planétaire.

Selon ARMRLIN (1974), la phytothérapie ou thérapie par les plantes est la première thérapeutique connue; elle reste la base de l'ensemble de la thérapeutique utilisé se nos jours. En phytothérapie et en aromathérapie, les huiles essentielles sont utilisées dans les préparations pharmaceutiques.

L'extraction des plantes médicinales est une pratique basée sur les avancées et les preuves scientifiques qui recherchent des extraits actifs des plantes. Les extraits identifiés sont standardisés. Cette pratique conduit aux phytomédicaments et selon la réglementation en vigueur dans les pays, leur circulation est soumise à l'autorisation de mise sur le marché pour les produits finis, et la réglementation sur les matières premières à usage pharmaceutique pour les exclusivement en officine. On parle alors de pharmacognosie ou de biologie pharmaceutique (AZALENKO, 2005).

L'étude des huiles essentielles est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et les développements exponentiels des biotechnologies végétales. L'histoire de l'aromathérapie naquit ainsi et, avec les progrès de la science, de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques ont permis de faire des plantes aromatiques et médicinales (PAM) d'authentiques médicaments (BRUNETON, 1999).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles sur une large catégorie des microorganismes a été rapportée par une bibliographie internationale abondante. Ainsi, les chercheurs se sont intéressés à tester le pouvoir antimicrobienne des huiles essentielles de certaines plantes aromatiques sur les

bactéries, les levures et les moisissures. Les résultats ont montré que le pouvoir antimicrobien des plantes aromatiques est dû en totalité ou en partie aux essence qu'elles contiennent (AKGUL et KIVANC, 1988).

Notre présent travail sera donc réparti en 3 chapitres étudier et évaluer le pouvoir antibactérien des huiles essentielles de trois plantes aromatiques et médicinales: *Apium graveolens*, *Mentha pulegium L* et *Pelargonium graveolens* sur quatre types de bactéries.

Ce travail initié par une synthèse bibliographique ou nous apportons dans le premier chapitre une généralité sur les plantes aromatiques et médicinales et les huiles essentielles.

La deuxième partie illustre le chapitre de matériels et méthodes mis en œuvre pour l'extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation et l'évaluation des activités antibactériennes par la méthode de l'aromatogramme.

La troisième partie expose sur les résultats obtenus suivis des interprétations et quelques fois des comparaisons sont faites avec certains travaux réalisés dans le même contexte et d'une conclusion générale avec des perspectives.



# CHAPITRE I

## **Synthèse bibliographique**



---

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

### 1. Plantes médicinales et aromatiques

Dès son apparition, il y a 3 millions d'années seulement, l'homme a utilisé les plantes à d'autres fins que de la nourriture. Que la plante soit comestible ou toxique, qu'elle serve à tuer le gibier et l'ennemi ou à soigner, l'homme a découvert par une suite d'échecs et de réussites, l'utilisation des plantes pour son mieux-être. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique qui voit l'essor de l'agriculture et la sédentarisation (ANTHOULA, 2003).

Du fait du vaste étendue de l'Algérie, et de différence du relief, en allant du Nord vers le Sud on trouvant le Tell, les Hauts plateaux et l'Atlas saharien d'où on peut distinguer selon (ANONYME, 1999); 05 domaines biogéographiques, en allant du nord-est vers le sud-ouest : Domaine méditerranéen humide, domaine méditerranéen sub humide, domaine méditerranéen semi-aride, domaine aride et domaine désertique. Il résulte des étages bioclimatiques qui font conditionner les espèces capables de vivre à l'intérieur et selon le même auteur «vu l'étendue et la variabilité édaphoclimatique les écosystèmes Algériens se diffèrent à travers le territoire selon un gradient de continentalité on remarque : Les écosystèmes forestiers, les écosystèmes steppiques et les écosystèmes sahariens ».

Selon MOKKADEM en 1999, l'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques. L'Hoggar comprenait une flore de 300 espèces dont plus d'un quart ont un usage médicinal traditionnel qui se trouvent en un état précaire avec les autres plantes suite aux effets de sécheresse excessive accentuée par l'activité mal raisonnée de l'homme.

#### 1.1. Plantes médicinales

On peut classer les plantes médicinales comme une ressource naturelle renouvelable, c'est à dire, que l'apparition ou la disparition des plantes, se fait périodiquement et continuellement dans des saisons définies par la nature (la biologie de la plante, l'écologie, ... etc.). Ces ressources subites des dégradations irréversibles, comme on l'assiste aujourd'hui en Algérie et comme l'estime MOKKADEM en 1999, que ces dix dernières années, des dizaines de plantes médicinales et aromatiques ont été perdus.

Les plantes médicinales comme les autres plantes subissent différents aspects de dégradation

---

avec un gradient d'intensité variable selon plusieurs causes.

DAHIA en 1994, signale que la principale cause de dégradation rencontrée dans la zone de Boussaâda (zone steppique) est la désertification, qui est due essentiellement aux :

- \* Exploitation abusive des sols inaptes aux cultures;
- \* Déboisement des plantes (les arbres);
- \* Le surpâturage.

L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations glanées au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade.

La trace d'utilisations médicinales très anciennes se trouvent dans les civilisations chinoise, indienne (Médecine ayurvédique), et grecques. Les médicaments étaient d'origine végétale et étaient répartis dans chaque catégorie en herbe, arbre, fruit, graine et légumes. Plus tard, un supplément fut ajouté à l'ouvrage avec une liste d'autres remèdes minéraux et animaux.

De nos jours entre 20 000 et 25 000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine, 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une molécule active d'origine végétale (ANTHOULA, 2003).

## **1.2. Plantes aromatiques**

Le nom de parfum vient du latin "per fumum" qui veut dire "à travers la fumée" (GUERRATO, 2004).

L'origine des parfums remontait à la préhistoire où déjà les hommes brûlaient des bois odoriférants, pratique encore utilisée. L'histoire des arômes et des baumes est très ancienne, ils étaient utilisés lors des cérémonies religieuses et dans le traitement des maladies (BERNADET, 2000; GUERRATO, 2004 et TEISSEIR, 1991). En outre, les résines aromatiques, les épices et les parfums étaient utilisés comme "monnaie d'échange" ou comme "cadeaux" entre souverains, du fait de leur coût élevé (TEISSEIRE, 1991). L'usage des "huiles parfumées" ou "parfums" de cette époque, était limité à une certaine catégorie de gens, et comme signe d'hospitalité, ils parfumaient leurs hôtes en versant sur la tête un bol d'huile. Plus agréable, enduire les colombes d'arômes et les

faire voler dans la pièce pour créer un parfum d'ambiance (GUERRATO, 2004).

### **1.3. Utilisation des plantes aromatique et médicinales**

D'après (ANTHOULA, 2003), les grands types d'usages des plantes aromatiques et médicinales utiles à l'homme peuvent être classé par principe usages. On peut citer:

- Plantes pour tisanes
- Plantes à usages cosmétiques
- Plantes cicatrisantes
- Plantes à usages capillaires
- Plantes à usages aromatiques et condimentaires
- Plantes à usages alimentaires
- Plantes à protéines
- Plantes à glucides et vitamines
- Plantes à parfum
- Plantes à usages industriels
- Plantes à usages divers

### **1.4. Effets antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales**

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues à la fraction des huiles essentielles contenue dans les plantes. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Mais la tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances (ESSAWI *et al*, 2000).

Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine alimentaire(EL KALAMOUNI, 2010).

Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi, les huiles essentielles, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés "généralement reconnus comme sains", ou approuvés comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration. Ils n'ont, par conséquent, pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments ; cependant, des études préalables sont nécessaires afin de mieux cerner leur activité antimicrobienne (EL KALAMOUNI, 2010).

## 2. Huiles essentielles

### 2.1. Définition

Les huiles essentielles se sont des essences ou des huiles volatiles) sont : «des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation»(BRUNETON, 1993; JEAN, 2002 et CHEMAT *et al*, 2007).

Plus récemment, la norme AFNOR NF T 75-006 (octobre1987) a donné la définition suivante d'une huile essentielle : «Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur (LUCCHESI *et al*, 2004).soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec» (BRUNETON, 1993).

Les huiles essentielles sont des liquides huileux aromatiques très concentrés renfermant des mélanges complexes des substances volatils constitués de plusieurs dizaines de composés (RAUL et OCHOA, 2005., BOURRE, 1993 et TIGRINE *et al*, 2006), se retrouvent dans toutes les parties de la plante (écorces, racines, feuilles, fleurs et fruits) et dans toutes les régions climatiques du globe. Les facteurs environnementaux comme la température, l'irradiante et la photopériode peuvent jouer un rôle primordial sur la qualité et la quantité de l'huile essentielle (NEPOMUSCENEM, 1995).

### 2.2. Historique

Les huiles essentielles sont utilisées à des fins diverses depuis des millénaires, les plantes aromatiques ont toujours été tenues en haute estime par les thérapeutes du monde entier.

Les grands berceaux géographiques de la civilisation aromatique sont l'Inde, la Chine et le bassin

méditerranéen. Ces berceaux ont légué à l'humanité des procédés et des connaissances dans le domaine des huiles essentielles dont la validité est toujours d'actualité.

Selon NTEZURUBANZA en 2000, l'histoire de l'aromathérapie, qui est celle des huiles essentielles, peut se résumer en quatre époques suivantes :

- L'époque au cours de laquelle étaient utilisées des plantes aromatiques telles qu'elles ou sous forme d'infusion ou de décoctions ;
- Celle dans laquelle les plantes aromatiques étaient brûlées ou mises à infuser ou à macérer dans une huile végétale. A cette époque, intervient la notion d'activité liée à la substance odorante ;
- La troisième correspond à la recherche de l'extraction de cette substance odorante. Il apparaît le concept " Huile essentielle " qui aboutit à la création et au développement de la distillation ;
- En fin, la dernière qui est la période moderne dans laquelle la connaissance des composants des huiles essentielles intervient et explique les effets physiques, chimiques, biochimiques, physiologiques, voire électroniques des arômes végétaux.

En 1931, GATTEFOSSE dans son ouvrage " Aromathérapie ", en décrivant ses expériences et ses découvertes, il fut le premier à démontrer les relations structure/activité des molécules aromatiques et à établir les grandes propriétés des arômes naturels comme étant antitoxiques, antiseptiques, tonifiantes, stimulantes, calmantes, ...ect (BARDEAU, 1976).

A cette époque, il prophétise que l'avenir ne peut manquer de réserver un rôle de premier plan à cette thérapie ; c'est bien ce que l'on constate aujourd'hui.

Par exemple, au cours des dernières années, l'Amérique du Nord a manifesté un grand intérêt à l'utilisation des plantes médicinales pour plusieurs raisons:

- Elles sont moins coûteuses par rapport aux médicaments de synthèse ;
- Le public est déçu par la médecine moderne, laquelle n'arrive pas à trouver des remèdes à tous les maux ;
- Enfin, la valeur médicinale des plantes est de plus en plus prouvée scientifiquement; c'est ce qui constitue d'ailleurs un argument de taille pour leur usage en médecine (KARINE *et al*, 2001).

En 1990, FRACHOMME et PENOËL évoquent le terme de "la médecine aromatique" dans leur livre "Aromathérapie exactement" contenant les chémotypes et les indications thérapeutiques reposant sur les bases scientifiques.

Ainsi, l'industrie des plantes médicinales est devenue, en peu de temps, le secteur de l'industrie pharmaceutique connaissant la plus forte croissance annuelle, soit 15 à 20% (SMALL et CATLING, 2000).

## **2.2. Compositions des huiles essentielles**

### **2.2.1. Terpénoïdes**

Le terme terpène rappelle la toute première extraction de ce type de composé dans l'essence de térébenthine. Dans le cas des huiles essentielles, seuls les terpènes les plus volatils, c'est à dire, ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée sont observés. Ils répondent dans la plupart de cas à 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 (TEISSEIRE, 1991).

### **2.2.2. Composés aromatiques**

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les 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 (TEISSEIRE, 1991).

## **2.3. Caractéristiques et propriétés physiques**

Liquides à température ambiante, exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent (LEUNG, 1980), ce qui les différencie des huiles "fixes". Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active). Solubles dans les solvants organiques usuels, elles sont liposolubles. Entraînables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau; elles le



sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette. Cette eau est une "eau distillée florale" (BRUNETON, 1999). Elles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras, par évaporation, peuvent retourner à l'état d'odeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol ...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (BERNADET, 2000).

Les monoterpénoïdes, qui sont les composés majeurs de plusieurs huiles essentielles, ont les mêmes propriétés que ces dernières, ils sont incolores, insolubles dans l'eau, liquides distillables à la vapeur et ont une odeur parfumée et quelques-uns sont optiquement actifs (ROBINSON, 1991).

#### **2.4. 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).

#### **2.5. Mode d'action contre les bactéries**

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (SIPAILIENE *et al*, 2006). Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, la sporulation pour les champignons et la synthèse de leurs toxines. Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production des pseudomycéliums alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures (EL KALAMOUNI, 2010).

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 cellulaires;

\*Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure;

\*Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

## **2.6. Méthodes d'extraction**

Selon (ALKIRE et SIMON, 1992 ., BRUNETON, 1993., PARFUM-L'EXPO, 2002., SOUSA *et al*, 2002 et ADIO, 2005), il y a plusieurs techniques pour extraire les huiles essentielles:

-Enfleurage et macération;

-Expression;

- Hydrodistillation;

-L'entraînement à la vapeur sèche;

-L'extraction aux solvants volatiles;

-L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique.

# CHAPITRE II

## Matériels et Méthodes





## Chapitre II: Matériels et Méthodes

### 1. Matériels

#### 1.1. Cadre géographique de la région d'étude

La wilaya de Ghardaïa se situe au centre de la partie Nord de Sahara à 632 km au Sud d' Alger , couvre une superficie de 86560 km<sup>2</sup> ,elle est limité du côté Nord par les wilayas de Laghouat et Djelfa, à l'Est par la wilaya d'Ouargla, au Sud par la wilaya de Tamanrasset, au Sud-ouest par la wilaya d'Adrar et a l'Ouest par la wilaya d'El-Bayad, ses coordonnées géographiques sont: 450 d'altitude, latitude 32-23N et longitude 003-49E (figure n°01) (BOUHOUNE.D, 1997).

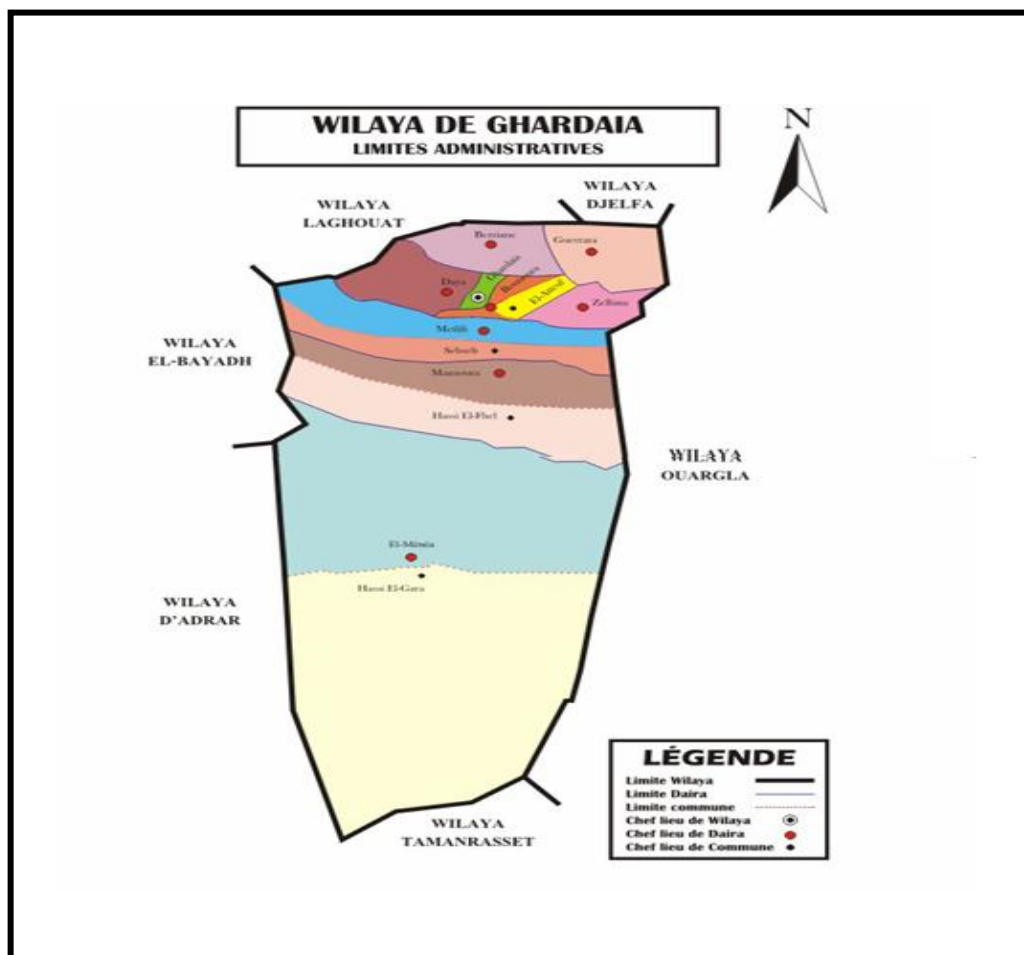


Figure n °01: Limite administratives de la wilaya de GHARDAIA (ATLAS, 2005).

## 1.2. Objectif

Notre travail expérimental basé sur l'étude biologique de nos plantes qu'on a choisi; *Apium graveolens* et *Mentha pulegium L.*, (à partir des résultats négatifs qui possèdent la plante de *Apium graveolens* concernant les huiles essentielles, on a décidé d'ajouter une troisième plante qui est *Pelargonium graveolens*) et l'extraction des huiles essentielles de ces plantes ce fait par l'hydrodistillation et leur activité antibactérienne sur 4 types de bactéries *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter cloacae*.

## 1.3. Matériels végétales

*Apium graveolens* et *Mentha pulegium L.* qui sont utilisées dans ce travail sont trouvées dans le marché, pour leur importance majeure et leur usage quotidien dans la cuisine Algérienne. Elles ont été achetées au mois de Mars 2014 sous forme fraîche, cas de *Apium graveolens*; et sous forme séchée au mois de Mars 2014, cas de *Mentha pulegium L.*, mais pour la plante de *Pelargonium graveolens*, a été effectué au mois de Avril 2014 de la région de Metlili.

Notre travail pratique de l'extraction des huiles essentielles a été réalisé au laboratoire de chimie et l'aromatogramme se fait dans le laboratoire de biologie d'université de Ghardaïa.

### 1.3.1. *Apium graveolens*

#### 1.3.1.1. Description

Le Persil est une plante herbacée annuelle ou bionomiques herbacée de plus en plus, à une hauteur de 60 à 90 cm. Il dispose d'un système de bande de racines peu profondes, la tige est ramifiée succulent et striées. Les folioles sont ovales à sous orbiculaire trois lobes 2 - 4.5cm. L'inflorescence est un composé ombelle, les fleurs sont petites et blanches dont les dents du calice sont absolues. Il ya cinq pétales aigus ovales avec des bords plans en farineux (RASTOGI, 1990 et MEHROTA, 1994).



Photo n°01: Plante d'*Apium graveolens*

### 1.3.1.2. Classification

Selon RASTOGI (1990) on a la systématique suivante d'*Apiumgraveolens*:

**Règne:** Plantae

**Sous division:** Magnoliophyta

**Classe:** Magnoliopsida

**Classement:** Apiales

**Famille:** Apiaceae

**Genre:** *Apium*

**Espèce:** *Apium graveolens*

**Nom vernaculaire:** krafess

**Nom scientifique:** *Apium graveolens*

### 1.3.1.3. Utilisation

Le Persil est une plante médicinale utilisé comme un aphrodisiaque, vermifuge, antispasmodique, carminative, diurétique, emménagogue, laxative, sédative stimulant, et toxique. Le Persil est connu comme diurétique doux et antiseptique urinaire et a été utilisé dans le soulagement des flatulences et douleurs ronchonné sur le marché du médicament à base de plantes. l'extrait de l'huile essentielle de *Apium graveolens* ainsi que les graines de terre ou de la racine sont présentées comme supplément à



base de plantes et alimentaire qui promouvoir et réglementer " pression artérielle saine, la santé des articulations et des niveaux d'acide urique . teintures de racine ont été utilisés comme un diurétique en l'hypertension et les troubles urinaires ainsi qu'un cosmétique pour la peau de visage (AHMED *et al*, 2002).

### 1.3.2. *Mentha pulegium* L

#### 1.3.2.1. Description

C'est une plante herbacée vivace à odeur aromatique forte; tiges quadrangulaires, rameuses, haute de 15 cm jusqu'à 40 cm, velue, grisâtre ou glabrescente; feuilles petites courtement pétiolées, oblongues, longue de 15 à 25mm, crénelées sur les bords. Fleurs pédonculées, rosées ou lilacées, en verticilles nombreux tous axillaires écartés, multiflores, très compact; calice velu, tubuleux à gorge fermée par des poils connivents, subbilabié à 5 dents inégales, ciliées, les deux inférieures plus étroites, corolle non gibbeuse à la gorge; carpelle ovoïdes, lisses (BELOUED, 2009).



Photo n°02: Plante de *Mentha pulegium* L

#### 1.3.2.2. Classification

D'après QUEZEL et SANTA (1963) ; GUIGNARD et DUPONT (2004), la systématique de *Mentha pulegium* L est la suivante :

**Règne:** Plantae

**Ordre:** Lamiales

**Famille:** Lamiacées

**Genre:** *Mentha*

**Espèce:** *Mentha pulegium L*

**Nom vernaculaire:** Fleiou

### 1.3.2.3. Utilisation

Comme toutes les autres espèces de menthe, employées en médecine traditionnelle; la Menthe pouliot a des propriétés identiques. Elle est digestive, carminative, cholagogue expectorante et béchique. On utilise les feuilles et les sommités fleuries, qu'on prépare en infusion à raison de 20g dans un quart d'eau, prendre 2 tasses par jour. En usage externe, on utilise le menthe pouliot fraîche qu'on réduit en pulpe et on l'applique sur les contusions, les enflures, les engorgements laiteux et les points douloureux des rhumatismes...etc (BELOUED, 2009).

### 1.3.3. *Pelargonium graveolens*

#### 1.3.3.1. Description

Le *Pelargonium graveolens* famille Géraniacées, appartient à la catégorie des plantes vivaces à feuillage odorant de 40 à 50 cm et pouvant atteindre 1 m 30 de hauteur, pleine de suc en début de végétation, puis ligneuse, à écorce brun clair. Le genre *Pelargonium* compte plus de 200 espèces dont plusieurs dizaines sont odorantes (RAZAFIMANDRANTO, 2006). Les feuilles persistantes sont lobées (cinq-sept lobes) et rugueuses, opposées, couvertes de poils glanduleux microscopiques qui libèrent leurs parfums au toucher ou à la chaleur. Les tiges sont vertes et tendres et se lignifient, et deviennent plus foncées avec l'âge alors que la racine est de type pivotant (BOUKHATEM *et al*, 2010).



Photo n°03: Plante de *Pelargonium graveolens*

**1.3.3.2. Classification** (source net n°04)**Régne:** Plantae**Division:** Magnoliophyta**Classe:** Magnoliopsida**Ordre:** Geraniales**Famille:** Geraniaceae**Genre:** *Pelargonium***Espèce:** *Pelargonium graveolens***Nom vernaculaire:** Atrcha**1.3.3.3. Utilisation**

L'hydrolat de Géranium, d'odeur fraîche et délicate, est considéré comme la meilleure des "eaux florales". C'est un allié dans tous les soins de la peau pour ses propriétés régénérant, astringente et purifiante (BOUKHATEM *et al*, 2010).

L'utilisation de l'eau aromatique de géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) dans la dermatopharmacie (BOUKHATEM *et al*, 2010).

Les huiles essentielles du géranium ont une activité antimicrobienne (BOUKHATEM *et al*, 2010 ; BENKHERARA *et al*, 2011).

L'huile essentielle de Géranium-rosat est utilisée à l'extérieur pour soigner plaies, brûlures, coupures, eczémas secs, dartres, engelures et ulcérations diverses, inflammation hémorroïdaire, prurit, pédiculose, ophtalmie, névralgies faciales, douleurs lombaires, mastite, engorgement des seins; en enduction cutanée elle éloigne les Moustiques, en bains de bouche, elle convient pour remédier à stomatites, glossites, aphtes et angines, en injections vaginales, elle traite mycoses et autres infections. Cette huile essentielle sera utilisée pure ou diluée, en pommade, liniment, crème, cérat (VALNET, 1974., BARDEAU, 1976., JOUHANNEAU, 1991., FRANCHOMME, PENOËL *et al*, 1996).

## 1.4. Matériels biologiques

Ils sont des êtres vivants qui sont trop petit pour être visibles à l'œil nu. Le groupe comprend les bactéries, les mycètes, les protozoaires et les algues microscopiques. Il inclut aussi les virus, ces entités non cellulaires que l'on considère parfois comme situées à la limite entre le vivant et le non vivant (LUISSE, 2012).

Dans la partie de l'activité antibactérienne on a utilisé 4 type de bactéries: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter cloacae*, qui sont pris au laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Metlili.

### 1.4.1. Bactéries à Gram négatif

#### 1.4.1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Le *Pseudomonas aeruginosa* est une bacille gram négatif, droit ou légèrement incurvée, fin, sporulée, mobile grâce à des flagelles polaires. Le *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie saprophyte de l'air, l'eau et du sol humide. Il peut coloniser le tube digestif de l'homme et des animaux, commensale des téguments et des muqueuses (BOUAMER et GUERBATI, 2008).

La transmission de *Pseudomonas aeruginosa* peut se faire à partir des sources environnementales, soit directement, soit par l'intermédiaire de matériels lavés ou rincer à l'eau de réseau contaminée. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques, pulmonaires et oculaires (NAUCEL et VILDE, 2005).

#### 1.4.1.2. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* est une bactérie de gram négatif, elle se présente soit seule ou groupée le plus souvent par deux (diplobacilles), plus rarement elle est rencontré en amas. Elle est a mobilité positive grâce à une ciliature péritriche, mais très réduite. *Escherichia coli* est une hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux, c'est l'espèce la plus représentée dans le tube digestif. Sa présence dans le milieu environnant ou dans les aliments est un signe une contamination fécale (AVRIL, 2000).

Une source principale de l'infection est les aliments contaminés comme la laitue, le salami, le lait non pasteurisé et des jus de fruits, ainsi que le contact avec des animaux vivants infectés. L'infection hydrique se fait par la natation dans les lacs et les piscines contaminées ou par l'eau potable traités de façon inadéquate (PRRY *et al*, 2004).

Les infections de *Escherichia coli* sont deux types: des infections opportunistes très fréquentes touchant principalement l'arbre urinaire, les voies génitales et des infections du tractus digestif dues à des souches particulières (CARBONELLE *et al*, 1987).

#### 1.4.1.3. *Enterobacter cloacae*

*Enterobacter cloacae* est un bacille à gram négatif de famille Entérobacteriaceae, mobile, non sporulé présent dans l'environnement mais il est aussi commensal du tube digestif de l'homme et des animaux; responsables de l'infection urinaire, bactérienne, infection respiratoire, suppurations diverses et l'infection tissulaire après une plaie souillée par de la terre (DANIELLE, 2011).

### 1.4.2. Bactéries à gram positif

#### 1.4.2.1. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* est une cocci gram positif, immobile, isolée, en diplocoque, formant de très courtes chainette (3 à 4 éléments) ou le plus souvent en amas réalisant la disposition en grappe de raisin, ils sont non sporulés et capsulés. Cette bactérie très répandue chez l'homme et dans de nombreuses espèces animales. Chez l'espèce humaine environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides. La transmission de *Staphylococcus aureus* est interhumaine, s'opère généralement par contact direct (manu portage) ou indirecte par les vêtements, la literie ou les aliments (NAUCEL et VILDE, 2005)

Les *Staphylococcus aureus* sont responsables d'intoxications alimentaires associée à une fièvre élevée, la diarrhée et une hypotension (NAUCEL et VILDE, 2005).

## 1.5. Matériels de laboratoire

Notre pratique qui a été réalisée dans le laboratoire de chimie et de biologie, on a utilisé plusieurs matériels qui permettent l'extraction des huiles essentielles et son activité antibactérienne, ces matériels sont:

-Le montage de distillation qui contient: un chauffe ballon, ballon, pompe, réfrigèrent;

-Des béchers;

-Ampoule à décanté: pour la séparation d'huile essentielle;

-Des boîtes de pétries;

-L'autoclave.

## 2. Méthodologie de travail

### 2.1. Protocole d'extraction des huiles essentielles

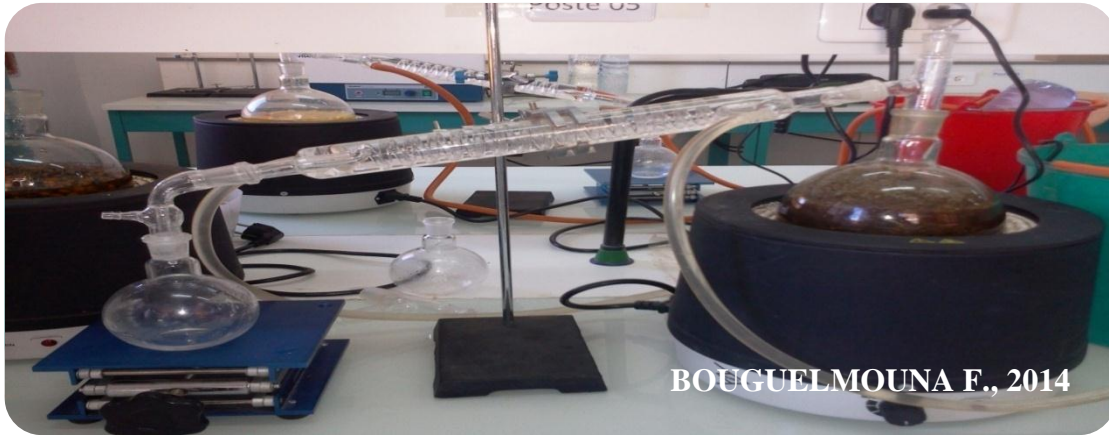
#### 2.1.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle (MEYER-WARNOD B, 1984), ainsi que pour le contrôle de qualité (AFNOR, 1992).

La température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation. Elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange « eau + huile essentielle » distille à une température inférieure à 100°C à pression atmosphérique. Par contre, les températures d'ébullition des composés aromatiques sont la plupart très sèves (LUICITA *et al*, 2006 et LUCCHESI, 2005).

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures (8 h) (LUCCHESI; CHEMAT et JACQUELINE, 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).

L'extraction des huiles essentielles de ces plantes *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens*, a été réalisée par hydrodistillation qui consiste à immerger 100 g de la plante éventuellement broyé dans un ballon de 1 L rempli d'eau distillé qui est ensuite portée à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide qui appelée un réfrigérant (photo n°04). On a séparé les huiles essentielles par une ampoule de décantation (photo n°05).



**Photo n°04:** Extraction des huiles essentielles par l'hydrodistillation



**Photo n°05:** Ampoule à décanter

## 2.2. Détermination de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Les techniques de détermination du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles, a une grande influence sur les résultats. Les difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des huiles essentielles dans l'eau, de leur volatilité, de la nécessité de les tester à de faibles concentrations et des problèmes de standardisation des méthodes (BOUSBIA, 2004).

### 2.2.1. Aromatogramme

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des huiles essentielles. Testées, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (FAUCHERE et AVRIL, 2002). Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans des boîtes de Pétri.

### 2.2.2. Préparation de milieu de culture

Pour faire une croissance des bactéries on a préparé un milieu de culture appelé Mueller Hinton ,ce milieu contient les étapes de préparations suivantes:

Dans un flacon de 1000 ml, on mélange 5g d'extrait de levure,2g d'extrait de malte et glucose ensuite on a rempli le flacon par l'eau distillé, il faut homogénéiser puis mesurer pH, après tous sa on ajoute Na OH jusqu'à pH=7.2 ensuite on ajoute 8.75g de poudre d'agar et mélange, en fin on a met le milieu préparer dans un autoclave pour la stérilisation pendant 2 heures.



**Photo n°06:** Milieu de culture



**photo n°07:** Séchage des boîtes pétries



### 2.2.3. Etapes de l'Aromatogramme

L'étude du pouvoir antibactérien par cette technique est identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence c'est le remplacement des antibiotiques par des extraits aromatiques.

Ces procédés ont été réalisés suivant plusieurs références: BENJILALI *et al*, 1986., BOULAHBAL, 1993 ., JANSSEN *et al*, 1987., RAHAL, 2003.

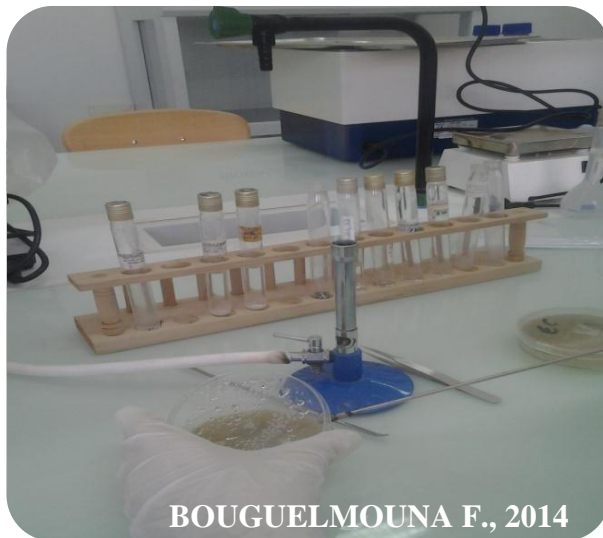
#### a. Inoculum

-Racler à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette pasteur scellée, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques;

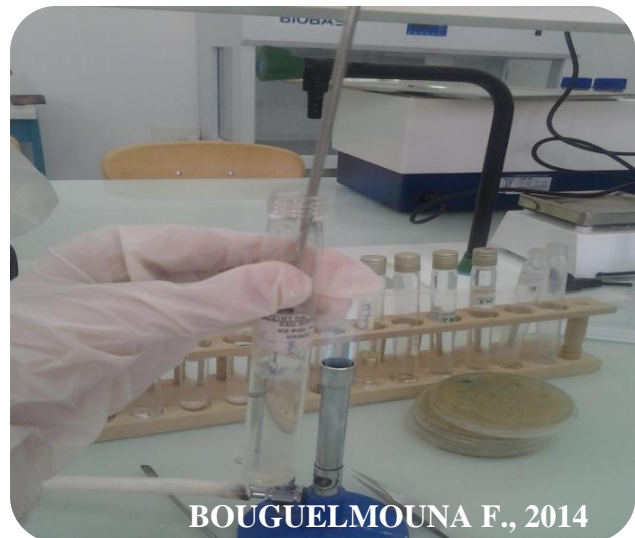
-Décharger l'anse ou la pipette pasteur dans 9 ml d'eau physiologique stérile .,

-Bien homogénéiser la suspension bactérienne;

-L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.



**Photo n°08:** Racler les souches

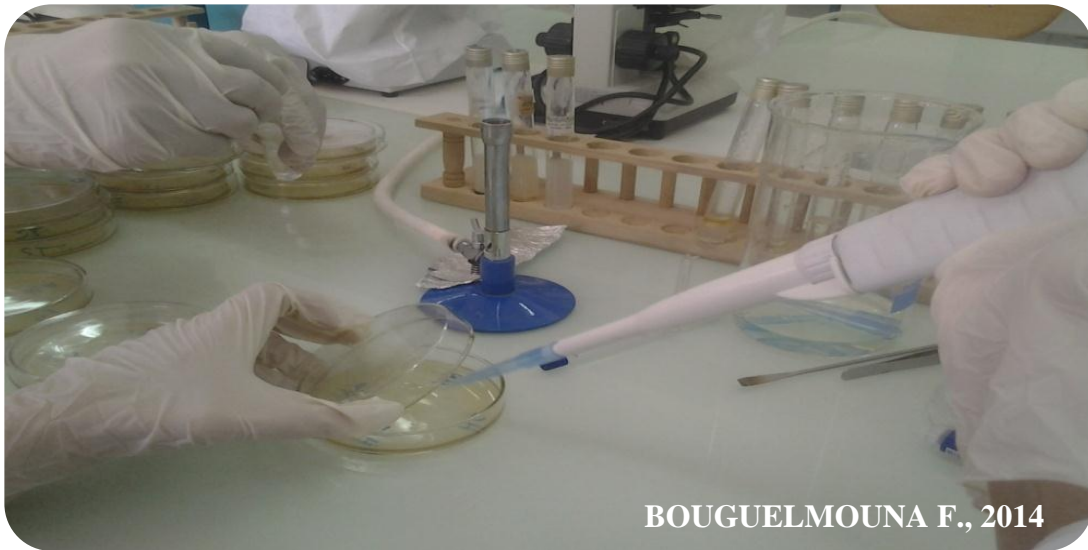


**Photo n°09:** Inoculum des bactéries

#### b. Ensemencement

Le milieu de culture utilisé est Mueller – Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (il évite la contamination du manipulateur et de la paillasse);
- L'essorer en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées;
- Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.



**Photo n°10:** Ensemencement des boites de pétries

### **c. Préparation des disques d'aromatogramme**

- Les disques sont fabriqués à partir de papier filtres;
- Ensuite ils sont mis dans un tube à essai (ou plus si nécessaire), et stérilisés à l'autoclave;
- Une fois les géloses Mueller – Hinton sont collés dans les boites, les disques imbibés de chaque extrait sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.



**Photo n°11:** Dépôt des disques

#### **d. Incubation et Lecture**

Pendant 18 à 24 heures à 37°C, pour toutes les boîtes, et à température ambiante (température de la chambre) pour les boîtes qui contiennent des disques imbibés des huiles essentielles.

Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en mesurant les diamètres des halos clairs tout autour des disques, ou zones d'inhibition.

Selon REMDANE (2009), le résultat s'effectue par la mesure des diamètres d'inhibition comme suivant:

Diamètre < 5mm: absence d'activité biologique.

Diamètre entre 5 et 10 mm: activité biologique faible.

Diamètre entre 10 et 16 mm: activité biologique moyenne.

Diamètre > 16 mm: activité biologique très forte.

### 2.3. Détermination de rendement

$$Rt (\%) = (mHE / m MV) \times 100$$

**Rt**: rendement des huiles essentielles.

**mHE**: masse d'huile essentielle.

**m MV**: masse de matière végétale.

# CHAPITRE III

## Résultats et Discussion

## Chapitre I : Résultats et Discussion

### 1. Résultats

Dans ce travail, on a fait l'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne de *Mentha pulegium L* et *Apium graveolens*, il y a une quantité d'huile essentielle pour la plante de *Mentha pulegium L* par rapport à la deuxième plante *Apium graveolens* qu'il n'y a pas aucun résultat puisqu'il dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, la géographie, la période de récolte, les pratiques culturales, la technique d'extraction....etc, dans ce cas on ajoute une troisième plante qui est *Pelargonium graveolens*, donc on a appliqué l'huile essentielle de *Mentha pulegium L* et *Pelargonium graveolens* et les hydrolats de les trois plantes sur les germes utilisées à partir la méthode de l'aromatogramme.

#### 1.1. Calcul de rendement

Les huiles essentielles qui sont extrait, caractérisés par des couleurs : jaune foncé dégagent une forte odeur menthé pour le *Mentha pulegium L*, mais pour le *Pelargonium graveolens* a une couleur verdâtre avec une odeur rosée légèrement citronnée.

**Tableau n°01:** les rendements des huiles essentielle de *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens*

Les plantes	Rendement
<i>Mentha pulegium L</i>	0.25%
<i>Apium graveolens</i>	0%
<i>Pelargonium graveolens</i>	0.15%

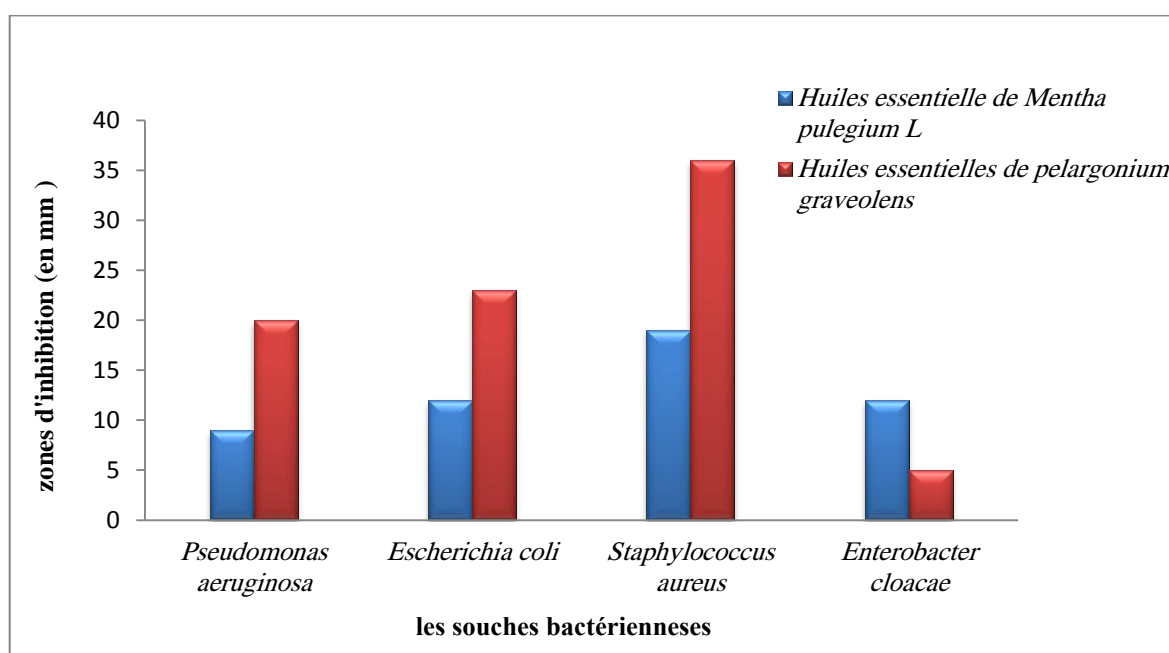
En effet, le tableau n°01 regroupe les valeurs des rendements des huiles essentielles de les trois plantes: *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens*. Il est constaté que le rendement de *Mentha pulegium L* marque un taux de 0.25 %, le rendement de *Pelargonium graveolens* est 0.15 %, par contre pour la plante d'*Apium graveolens* qui n'enregistre aucun rendement 0%, ces taux sont très faibles vis-à-vis d'autres recherches.

#### 1.2. Etude de l'activité biologique

Les résultats de l'activité antibactérienne d'huile essentielle et les hydrolats appliqués sur les 4 espèces bactériennes testés par la technique de l'aromatogramme sont regroupées dans le tableau n° 02 et 03.

**Tableau n°02:** Zones d'inhibition (mm) d'huile essentielle de *Mentha pulegium L* et *Pelargonium graveolens*

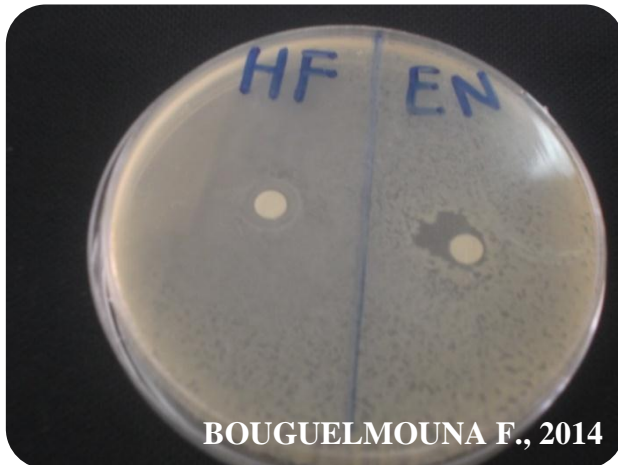
Souches bactériennes	Huile essentielle de <i>Mentha pulegium L</i>	Huile essentielle de <i>Pelargonium graveolens</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9±1.414	20±0
<i>Escherichia coli</i>	12±0	23±0.816
<i>Staphylococcus aureus</i>	19±0	36±0.816
<i>Enterobacter cloacae</i>	12±1.632	10±0.632



**Figure n°02:** diagramme des zones d'inhibition des huile essentielles de *Mentha pulegium L* et *Pelargonium graveolens*.

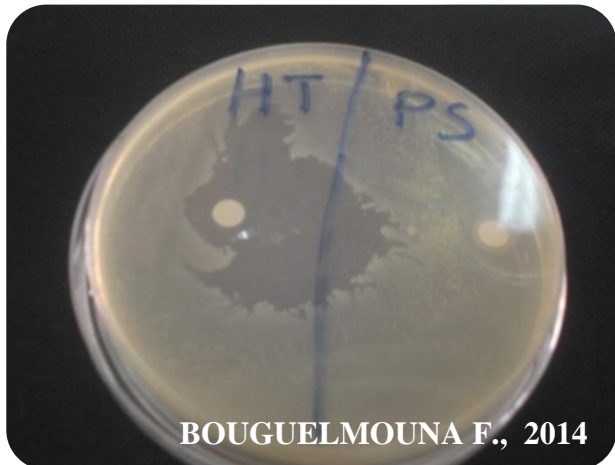
A l'issue des résultats mentionnés dans le tableau n°02 et la figure n°02, il est observé que l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium L* a une maximum zone d'inhibition (19±0 mm) pour l'espèce de *Staphylococcus aureus* qu'est l'espèce la plus sensible à cette huile, moyenne activité biologique sur *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* qui est de (12±1.632 mm), avec un diamètre de 9 mm pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Concernant les huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* qui marquent des bonnes résultats et une activité antibactérienne très forte par rapport au *Mentha pulegium L* avec des maximums zones d'inhibitions ( $20\pm 0$ ,  $23\pm 0.816$  et  $36\pm 0.816$  mm) sur les souches suivantes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* respectivement, par contre pour l'*Enterobacter cloacae* où on observe une moyenne activité biologique de ( $10\pm 1.632$  mm).



BOUGUELMOUNA F., 2014

**Photo n°12:** Zone d'inhibition d'huiles essentielle de *Mentha pulegium L* pour l'*Enterobacter cloacae*



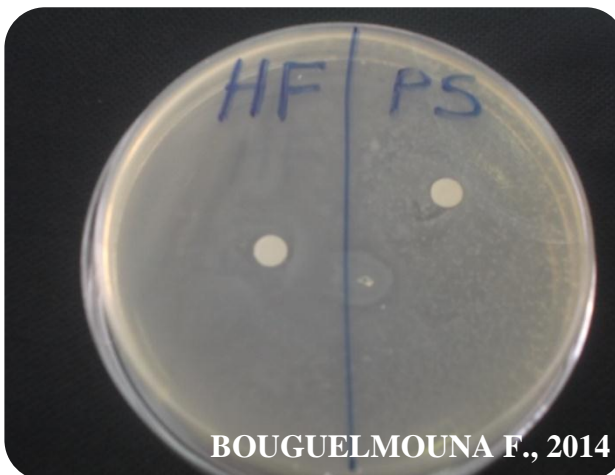
BOUGUELMOUNA F., 2014

**Photo n°13:** Zone d'inhibition d'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* pour *Pseudomonas aeruginosa*



BOUGUELMOUNA F., 2014

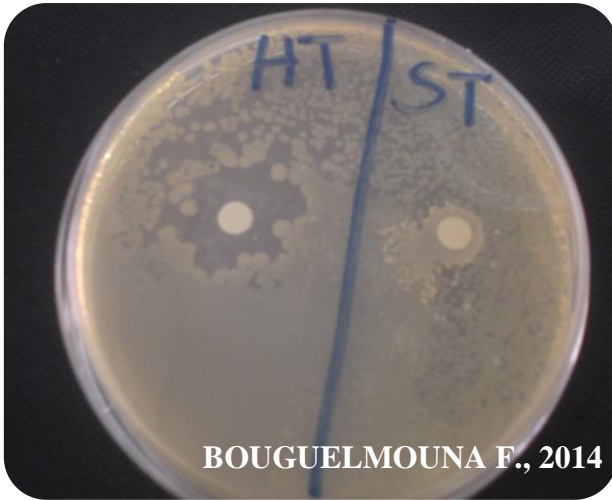
**Photo n°14:** Zone d'inhibition d'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* pour l'*Enterobacter cloacae*



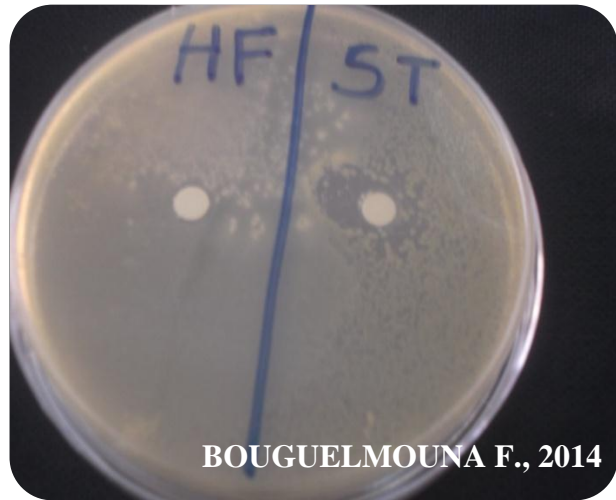
BOUGUELMOUNA F., 2014

**Photo n°15:** Zone d'inhibition d'huiles essentielles de *Mentha pulegium* pour *Pseudomonas aeruginosa*





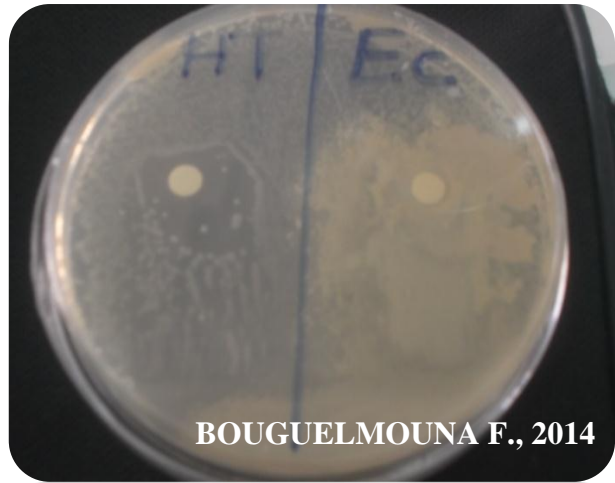
**Photo n°16:** Zone d'inhibition d'huiles essentielle de *Pelargonium graveolens* pour *Staphylococcus aureus*



**Photo n°17:** Zone d'inhibition d'huiles essentielle de *Mentha pulegium L* pour *Staphylococcus aureus*



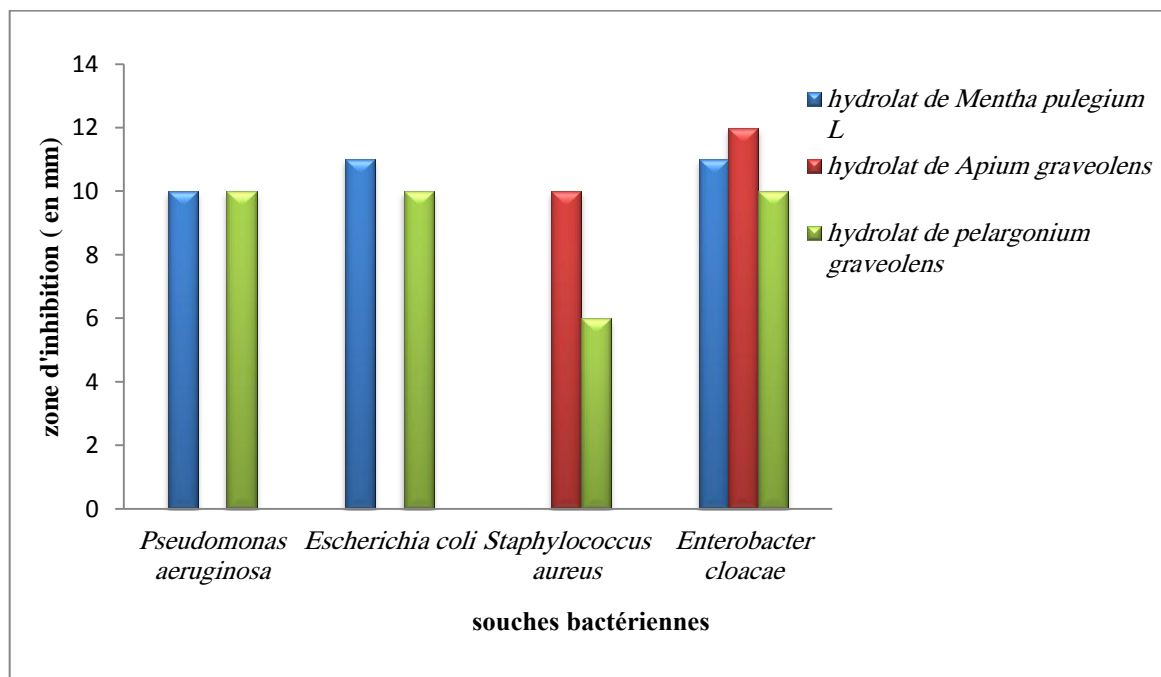
**Photo n°18:** Zone d'inhibition d'huiles essentielle de *Mentha pulegium* pour *Escherichia coli*



**Photo n°19:** Zone d'inhibition d'huiles essentielle de *Pelargonium graveolens* pour *Escherichia coli*

**Tableau n°03:** Zones d'inhibition (mm) des hydrolats de *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* et de *Pelargonium graveolens*.

Souche bactériennes	Hydrolat de <i>Mentha pulegium L</i>	Hydrolat de <i>Apium graveolens</i>	Hydrolat de <i>Pelargonium graveolens</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10±0	0±0	10±1.632
<i>Escherichia coli</i>	11±0.816	0±0	10±0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0±0	10±1.632	6±0.816
<i>Enterobacter cloacae</i>	11±0	12±1.632	10±0

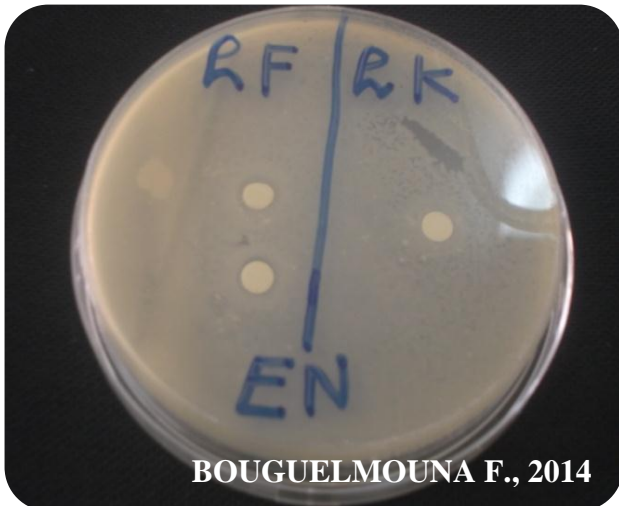


**Figure n°03:** diagramme des zones d'inhibition des hydrolats de *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens*.

Le tableau n°03 et la figure n°03 indiquent que le pouvoir antibactérien d'hydrolat de *Mentha pulegium L* est moyen (10±0 et 11±0.816 mm) sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae*, le *Staphylococcus aureus* est marqué comme une bactérie très résistante (0 ±0mm).

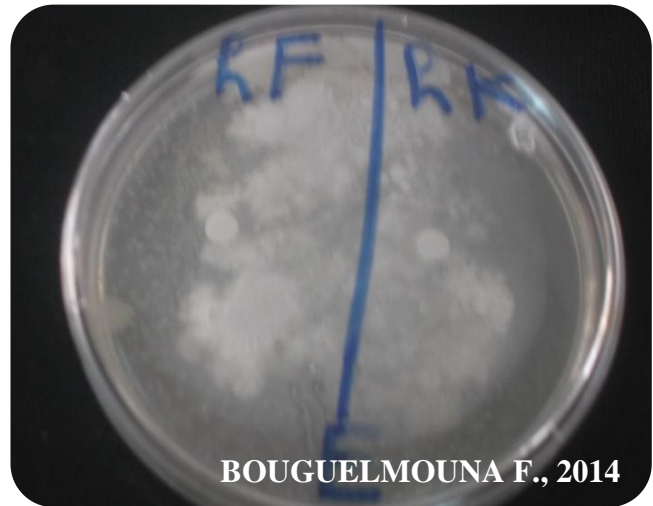
Les espèces de *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* sont des espèces résistantes de l'hydrolat d'*Apium graveolens*, par contre on observe une moyenne activité antibactérienne (10±1.632, 12±1.632

mm) sur *Staphylococcus aureus* et *Enterobacter cloacae*. L'hydrolat de *Pelargonium graveolens* a un effet d'inhibition moyen sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* mais l'espèce de *Staphylococcus aureus* enregistré comme une bactérie peu sensible à cette hydrolat ( $6 \pm 0.816$ mm).



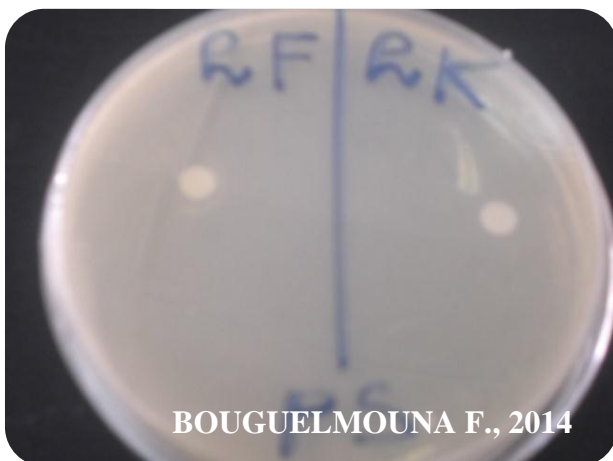
BOUGUELMOUNA F., 2014

**Photo n°20:** Zone d'inhibition des hydrolats de *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* Pour l'*Enterobacter cloacae*



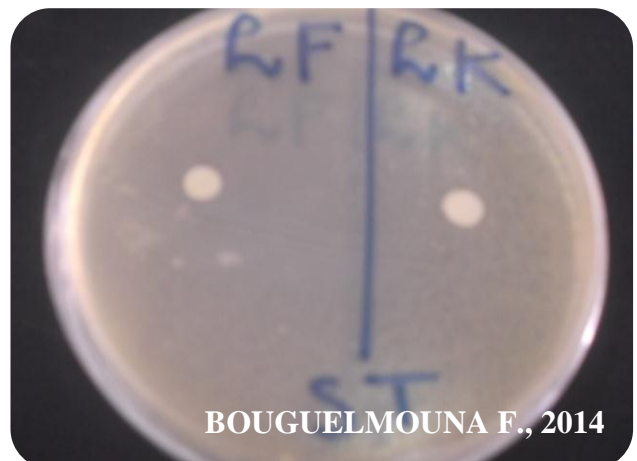
BOUGUELMOUNA F., 2014

**Photo n°21:** Zone d'inhibition des hydrolats de *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* pour *Escherichia coli*



BOUGUELMOUNA F., 2014

**Photo n°22:** Zone d'inhibition des hydrolats de *Mentha pulegium*, *Apium graveolens* pour *Pseudomonas aeruginosa*



BOUGUELMOUNA F., 2014

**Photo n°23:** Zone d'inhibition des hydrolats de *Mentha pulegium*, *Apium graveolens* pour *Staphylococcus aureus*

## 2. Discussion

Notre étude se déroule sur l'extraction des huiles essentielles de trois plantes *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens* et leur activité antibactérienne sur 4 souches des bactériennes.

A l'issue des résultats obtenus de tableau n°01, il est bien mentionner en premier temps que le taux de rendement de *Mentha pulegium L* (0.25 %) est très faible par rapport au résultat de LAHRECH (2005) 2.32%, LAHRECH (2010) 0.33% et BELGHAZI (2002) 0.82%.

On a marqué un taux de rendement très faible de *Pelargonium graveolens* (0.15 %) vis-à-vis à la recherche de DEMARNE (1989) 0.16%, SHAWL (2006) 0.2% et BOUKHATEM (2009) 0.2%.

La différence entre notre rendement des huiles essentielles et les autres résultats peut être due à différents facteurs qui rentrent en jeu: région de culture, nature de sol, temps de récolte, mode et durée d'extraction des huiles essentielles.....etc.

Le tableau n°02 et la figure n°02 montrent l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Mentha pulegium L* et *Pelargonium graveolens* sur différentes souches bactériennes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae*.

Les résultats laissent apparaitre l'effet significatif d'huile essentielle de *Mentha pulegium L* avec un maximum zone d'inhibition sur l'espèce de *Staphylococcus aureus* ( $19 \pm 0$  mm), une moyenne activité biologique sur *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* ( $12 \pm 1.632$  mm), par contre, elle est faible pour *Pseudomonas aeruginosa* ( $9 \pm 1.414$ mm).

Pour l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* on distingue une très forte action biologique sur les bactéries avec des maximums zones d'inhibitions comprise entre ( $20 \pm 1.414$ ,  $23 \pm 0$  et  $36 \pm 0$  mm) sur les espèces de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* respectivement, on a remarqué que l'espèce de *Staphylococcus aureus* la plus sensible à cette huiles essentielle, pour *Enterobacter cloacae*, on a observé une moyenne activité antibactérienne qui est de ( $10 \pm 1.632$  mm).

Les résultats obtenus d'après le tableau n°02 permet d'avoir que l'activité antibactérienne d'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* est plus efficace et très forte que l'huile essentielle de *Mentha pulegium L* surtout pour l'espèce de *Pseudomonas aeruginosa* ( $36 \pm 0$  mm) et *Escherichia coli* ( $23 \pm 0$  mm).

Les résultats de tableau n°03 et la figure n°03 montrent que l'hydrolat de *Mentha pulegium L* a une

activité biologique moyenne avec des zones d'inhibitrices de ( $10\pm 0$ ,  $11\pm 0.816$  et  $11\pm 0$  mm) sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae*, respectivement, alors, on a enregistré que l'espèce de *Staphylococcus aureus* est la plus résistante avec un diamètre de (0 mm).

Pour *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* sont les espèces les plus résistantes pour l'hydrolat d'*Apium graveolens* qui a aucune activité biologique ( $0\pm 0$  mm), par contre, *Staphylococcus aureus* et *Enterobacter cloacae* sont peu sensibles à cette hydrolat avec une diamètre de ( $10\pm 1.632$  à  $12\pm 1.632$  mm).

En revanche, pour l'hydrolat de *Pelargonium graveolens* a une moyenne activité biologique avec un diamètre de ( $10\pm 1.632$  mm) pour *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichiacoli* et *Enterobacter cloacae*, la capacité d'inhibition pour *Staphylococcus aureus* est très faible qui est de ( $6\pm 0$  mm) c'est-à-dire que cette dernière, peu sensible à l'hydrolat de *Pelargonium graveolens*.

On distingue que l'hydrolat de *Pelargonium graveolens* a une influence sur toutes les quatre bactéries par rapport aux autres deux hydrolats de *Mentha pulegium L* et *Apium graveolens*.

Par comparaison entre le tableau n°02 et le tableau n°03, on remarque que les huiles essentielles de *Mentha pulegium L* et *Pelargonium graveolens* sont plus efficaces avec une activité antibactérienne très forte par rapport à les hydrolats.



*Conclusion*

## Conclusion et Perspectives

Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antibactériennes. Plusieurs travaux de recherches ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques.

A l'issue de ce travail, visant à vérifier expérimentalement le bien fondé de l'extraction des huiles essentielles de trois plantes médicinales et aromatiques qui sont: *Mentha pulegium L*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens* par une seule méthode qui est l'hydrodistillation.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles ce fait par la méthode de l'aromatogramme, qui sont appliqués sur 4 types de bactéries: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae*.

D'après les résultats trouvés, il est constaté en premier lieu que les rendements des huiles essentielles de *Mentha pulegium L* (0.25 %) et de *Pelargonium graveolens* (0.15 %) sont très faibles par rapport d'autres recherches bibliographiques, mais pour la plante de *Apium graveolens* n'ya pas aucun rendement.

L'effet inhibitrice des huiles essentielles et les hydrolats marque que: l'activité antibactérienne d'huiles essentielle de *Pelargonium graveolens* est très fort que *Mentha pulegium L* surtout sur *Escherichia coli* (23 mm) et *Staphylococcus aureus* (36 mm), pour les hydrolats on résulte que ces derniers ont des effets inhibitrices moyen vis-à-vis aux huiles essentielles.

Des nouvelles perspectives peuvent être envisager par une étude plus poussé de l'activité antibactérienne, non seulement sur les huiles essentielles utilisées seules ou leurs composantes majoritaires, mais également en mélange, permettant ainsi une éventuelle synergie. Il serait intéressant de continuer ces travaux notamment sur d'autres bactéries pathogènes et d'autres activités à savoir les activités antifongiques et antioxydants.

Egalement, il serait intéressant de tester d'autres méthodes d'extraction, afin de donner le meilleur rendement en huiles essentielles.

Les résultats obtenus ne permettent pas la généralisation de l'hypothèse à toutes les espèces végétales. Il est donc suggéré à des personnes qui voudraient poursuivre l'expérience d'utiliser d'autres espèces végétales.

# Références bibliographiques



## Références bibliographiques

- ADIO A M (2005).** Isolation and Structure Elucidation of Sesquiterpenoids from the Essential Oils of Some Liverworts (Hepaticae). Thèse pour le degré de Dr. RER. National institut de la chimie organique, université de Hambourg. 280 p.
- AHMED B, ALAM T, KHAN SA (2002).** Hepatoprotective activity of two plants belonging to the Apiaceae, 313-6.
- AKGUL A et KIVANC M (1988).** Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some food borne fungi. International Journal of Food Microbiology, 6(3), 263 268.
- ANONYME (1999).** Cahier technique .Micropropagation pour l'entreprise sericole : <http://www.cides.qc.ca>.
- ANTHOLA A.(2003).** La filière "Plantes Aromatiques et Médicinales", page 3.
- ARMELIN G (1974).** Introduction à la médecine de terrain, application à la phytothérapie Clinique. Cartonnage de l'éditeur 50.
- AVRIL J.L., DABERNAT, H., DENIS, F., MONTEIL, H. (2000).** Bactériologie clinique. 3ème édition Ellipses (Ed) Paris, 602 p.
- AZALENKO K (2005).** Contribution à la détermination des hémotypes d'une plante à huiles essentielles du Togo *Lippia mutiflora*. Mémoire d'ingénieur de travaux, ESTBA, Univ. Lomé.
- BARDEAU F. (1976).** La médecine par les fleurs. Laffont éd. p100-120.
- BELGHAZI L (2002).** Extraction et analyse par Chromatographie en phase de la Menthe pouliot test antifongique. Biochimie et Santé p 38.40.
- BENJILALI B, TANTAOUI-Elaraki A, Ismaïl-Alaoui M et AYADI A (1986).** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes médicinales et phytothérapie. 20,155-167.
- BENKHERARA S., BORDIJIBA O et DJAHRA A B (2011).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale: *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes. Science et Technologie. Université Annaba. 72 – 80.
- BERNADET M (2000).** Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles,

Éditions Dangles.

**BOUAMER H et GUERBATI M (2008).** Fréquence de l'otite moyenne causée par *Pseudomonas aeruginosa* dans la région d'Ouargla (Isolement, identification, antibiogramme). pp7,8.

**BOUHOUNE Daddi (1997).** Contribution à l'étude de l'évolution de la salinité des sols et des eaux d'une région saharienne : cas du M'Zab. Thèse Magister., I.N.A. , Alger 2546.

**BOUKHATEM M N., HAMAIDI M S ., SAIDI F., HAKIM Y., BENOMIER K. (2010).** Extraction, composition et valorisation de l'eau aromatique de géranium rosat (*Pelargonium graveolens*) dans la dermopharmacie. Revue « Nature et Technologie ». n° 02 Janvier 2010. P 59 – 64.

**BOULAHBAL F (1993).** Microbiologie S1 Clinique. Office des Publications Universitaires (OPU), Alger.

**BOUSBIA N. (2004).** Extraction et identification de quelques huiles essentielles (nigelle, coriandre, origan, thym, romarin), étude de leur s activités antimicrobiennes . Thèse de Magistère, option Sciences Alimentaires, Institut National Agronomique, Alger (Algérie).

**BREMNESS L (1998).** Les plantes aromatiques et Médicinales. Bordas Editions.

**BRUNETON J (1999).** « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». Editions Tec & Doc, Paris, éditions médicales internationales, pp: 483-560.

**BRUNETON J. (1993).** Pharmacognosie: photochimie, plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> éd. Tec. et Doc., Lavoisier, Paris, France.

**CARBONELLE B., DENIS F., MARMONIR A., PINON G et VARGUES R (1987).** Bactériologie médicale Technique usuelle 3<sup>ème</sup> tirage. Paris.324 p.

**CAVALLI Jean-François (2002).** Caractérisation par CPG/IK, CPG/SMet RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse Université de Corse Pascal Paoli.

**DANIELLE CLAVE (2011).** Fiche technique Bactériologie: *Enterobacter cloacae*, Laboratoire de Bactériologie Hygiène Toulouse p 1.2.

**DEMARNE FE (1985).** « Le géranium rosat ». Parfums, Cosmétiques et Arômes, n°62.

**DORAIS M. (2001).** Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux. Act. coll. de Sainte-Foy (Québec).

- EL KALAMOUNI C (2010).** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées p 70,71.
- ESSAWI.T et SROUR.M ( 2000).** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Jour of Ethnopharmacology,70:343-349.
- FAUCHERE J.L et AVRIL J.L (2002).** Bactériologie générale et médicale. Ellipses éditent, Paris, pp 365.
- FRANCHOMME P et PENOEL D (1990).** Matière médicale aromatique fondamentale (317-406), livre quatrième, l'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. R. Jollois Edit., Limoge, 446p.
- FRANCHOMME P et PENOEL D (1996).** L'Aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation des huiles essentielles. Fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. Nouvelles éditions Roger Jollois, 5, rue Palvézy, 87000 Limoges. 447 .
- GAUSSEN H et LEROY H. F (1982).** Précis de botanique, végétaux supérieurs, 2eme Ed., 426.
- GUIGNARD J. L et DUPONT F( 2004).** Botanique : Systématique moléculaire, 13ème éd. Masson, Paris, 237p.
- JANSSEN AM, SCHEFFER JJC et BAERHEIN SVENDSEN A (1987).** Antimicrobial activity of essential oils: A 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. Planta Medica. 53,395-398.
- JOUHANNEAU D.G (1991) .** *La Médecine des Plantes Aromatiques.* Azalées Editions. 154.
- KARINE P., LEONHART S., ANGERS P., GOSSELIN A., RAMPUTH AL., ARNASON J.T. et**
- LAGUNEZ R (2006).** Etude de l'extraction de métabolites Secondaires de Différentes Matières Végétale en Réacteur Chauffé par Induction Thermomagnétique Directe. Thèse de l'INP Toulouse, France.
- LAHRECH K (2010).** Extraction et Analyse des huiles essentielles de *Mentha pulegium L* et de *Saccocalyx saturoioides*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques p 70.71.
- LAHRECH N (2005).** PFE. Université de Djelfa, p111.
- LUCCHESI Marie E., CHEMAT Farid et SMADJA Jacqueline (2004).** Journal of Chromatography A1043 (2004) 323–327.

- LUCCHESIM M.E., SMADJA, J., BRADSHAW S., LOW W et CHEMAT F.(2007).** Solvent free ;microwave extraction of Elletaria cardamomum L: Amultivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. H. Food Engineer.79, 1079-1086.
- LUCITA Lagunez Rivera ( 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.
- LUU C (2002).** Les essences majeures anti-infectieuses, l'aromatogramme. Votre diététique N° 53.
- MEYER-WARNOD B (1984).** Natural essential oil : extraction processes and applications to some major oils, Perfumer et Flavorist. J. 9, 93-103.
- MOKKADEM A (1999) .** Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. in Revue Vie et Nature n° 7 1999. pp.24 – 26.
- NAUCEL C et VILDE J.L (2005).** Bactériologie médicale 2 éme édition 257 p.
- NEPOMUSCENE M J (1995).** Caractérisation des huiles essentielles du bleuet nain, vaccinium angustifolium aiton. Thèse de Université du Québec à Chicoutimi.
- NTEZURUBANZA L (2000).** Les huiles essentielles du Rwanda, Lasève, Univ. Québec à Chicoutimi, Canada.
- PARFUM–L'EXPO (2002).** Le monde magique du parfum. Une exposition proposée par le Comité Français du Parfum. Fondation Claude Verdan.
- PRRY J.J., STALEY G.T et LORY S (2004).** Microbiologie 891p.
- QUEZEL P et SANTA S (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II, Ed. CNRS, Paris.
- RAHAL K (2003).** Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale Selon les recommandations de l'OMS, 3e Edition.
- RASTOGI Ram., MEHROTA B. N. (1990-1994).** Compendium of Indian Medicinal plants. Vol. V, CDRI Lucknow and National Institute of science and communication. 757.
- RAUL Leon et OCHOA Hernandez, octobre (2005).** substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine <<solvant/active>> d'origine végétale Thèse de l'institut Nationale

Polytechnique. Toulouse, France.

**RAZAFIMANDRANTO S (2006).** Projet de création d'un complexe de plantation et d'extraction d'huiles essentielles de géranium a ambatofinandrahana en vue d'exportation. Université D'ANTANANARIVO.5 P.

**REMDANE F (2009).** Analyse et caractérisations de quelques métabolites secondaires de la plante *Nauplius graveolens* (Shousb) de Tamanrasset. Thèse de Magister, Université KASDI Merbah d'Ouargla p 16.88.

**SEVENET T et TORTORA C (1994).** Plantes, molécules et médicaments. Nathan, CNRS Editions Paris.

**SHAWL AS; KUMAR T., CHISHTI N et SHABIR S (2006).** « Cultivation of rose-scented geranium (*Pelargonium* sp) as a cash crop in Kashmir valley ». Asian Journal of Plant Sciences 5 (4): 673-675.

**SIPAILIENE A., VENSKUTONIS P.R., BARANAUSKIENE,R et SARKINAS A (2006).** "Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils." Journal of Essential Oil Research, 18: 698-703.

**SMALL E. et CATLING P.M. (2000).** les cultures médicinales canadiennes, version française de Canadian medicinal corps, les presses scientifiques du CNRC, Ottawa, 281p.

**SOUSA EMBD., CHIAVONE.FILHO O., MORENO M T., SILVA D N., MARQUES M.O.M et MEIRELS M.A.A. (2002).** Experimental Results for the Extraction of Essential Oil from *Lippia sidoides* Cham. Using Pressurized Carbon Dioxide. Brazilian Journal of Chemical Engineering 19 (02), p 229–241.

**TEISSEIRE P.J. (1991).** Chimie des substances odorantes. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, France.480p.

**VALNET J (1974) .** *Aromathérapie*. Librairie Maloine S.A. Editeur. 418.

### Références électroniques

Net 1: <https://www.google.dz/search?q=les+photos+de+apium+graveolens&biw=1422&bih=741&t>.

Net 2: <https://www.google.dz/search?q=les+photos+de+mentha+pulegium&biw=1422&bih=741&t>.

Net 3: [http://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9ranium\\_rosat](http://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9ranium_rosat).

## Extraction et Etude biologique de trois plantes *Mentha pulegium L.*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens*

### Résumé

La présente étude est portée essentiellement sur l'extraction des huiles essentielles de trois plantes médicinales et aromatiques *Mentha pulegium L.*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens*, l'extraction a été réalisée par la méthode de l'hydrodistillation,. Le test d'activité antibactérienne de ces plantes ce fait sur 4 souches bactérienne. Notre étude laisse apparaitre: que les rendements des huiles essentielles de *Mentha pulegium L* (0.25 %) et de *pelargonium graveolens* (0.15 %), les huiles essentielles de *Pelargonium graveolens* ont très forte activité antibactérienne ( $36 \pm 0.816$  mm) par rapport au *Mentha pulegium L* ( $19 \pm 0$  mm) sur *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aerogenosa*, et pour les hydrolats de nos plantes, on observe une moyenne efficacité vis-à-vis des huiles essentielles.

**Mots clés:** Plantes Médicinales et Aromatiques, Hydrodistillation, Activité antibactérienne, Huiles essentielles et Hydrolats.

## Extraction and biological study of three plants *Mentha pulegium L.*, *Apium graveolens* et *Pelargonium graveolens*

### Abstract

This study is focused on the extraction of essential oils from three medicinal and aromatic plants *Mentha pulegium L.*, *Apium graveolens* and *Pelargonium graveolens* was performed by the method of hydrodistillation ., Test of the antibacterial activity of these plants thus the 4 bacterial strains. Our study leaves appear: the yields of essential oils of *Mentha pulegium L* (0.25 %) and *pelargonium graveolens* (0.15%), the essential oils of *Pelargonium graveolens* have strong antibacterial activity ( $36 \pm 0.816$  mm) from the *Mentha pulegium L* ( $19 \pm 0$  mm) in *Escherichia coli*., *Enterobacter cloacae*., *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aerogenosa*, and hydrosols our plants, an average efficiency observed compared to the essential oils.

**Keywords:** Medicinal and Aromatic Plants, Hydrodistillation , Antibacterial Activity , Essential Oils and Hydrosols .

## الاستخلاص والدراسة البيولوجية لثلاث نباتات *Mentha pulegium* و *Apium graveolens* و *Pelargonium graveolens*

### ملخص

تركز هذه الدراسة على استخراج الزيوت الطيارة من النباتات الطبية والعطرية *Mentha pulegium L.*, *Apium graveolens* و *Pelargonium graveolens* باستخدام طريقة التقطير البخار واختبار نشاطها المضاد للميكروبات على أربع سلالات بكتيرية. أظهرت النتائج أن غلة الزيوت الطيارة لنباتة *Mentha pulegium L* (0.25 %) و *pelargonium graveolens* (0.15 %) نسبتهم ضعيفة جدا بالنسبة لأبحاث أخرى. الزيوت الطيارة لنباتة *pelargonium graveolens* التي لها نشاط بيولوجي فعال جدا  $36 \pm 0.816$  مم مقارنة بنباتة *Mentha pulegium L*  $19 \pm 0$  مم على *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aerogenosa* أما بالنسبة للماء المعطر نلاحظ فعالية متوسطة مقارنة بفعالية الزيوت الطيارة.

**الكلمات الدالة:** النباتات الطبية و العطرية, التقطير البخار, النشاط ضد البكتيريا, الزيوت الطيارة, الماء المعطر.