

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 : AZZAOUI Samia**

### Thème

Utilisation de deux plantes médicinales dans la lutte biologique *Pituranthos chloranthus* « L'ghezzah » et *Ruta chalepensis* « Fidjel »

**Soutenu publiquement le : 19/06/2014**

**Devant le jury :**

<b>M.</b>	BEN BRAHIM Fawzi	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Président</b>
<b>M<sup>me</sup></b>	MEHANI Mouna	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Encadreur</b>
<b>M<sup>me</sup></b>	TELLI Alia	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Examinatrice</b>
<b>M.</b>	KEMASSI Abdellah	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Examineur</b>

**Année universitaire 2013/2014**

## DEDICACE

*Je dédie ce travail à :*

*\_ Mes très chers parents, en témoignage  
de ma profonde gratitude et amour,  
pour leurs encouragements et leurs  
soutenances durant chaque étape de ma vie.*

*\_ Mes frères et soeurs.*

*\_ Toute ma famille, cousines et cousins  
de pré ou de loin.*

*\_ Mes amies*

*\_ Toutes les personnes qui ont participé  
à la réalisation de ce travail.*

**SAMIA**

## **REMERCIEMENTS**

*Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*Merci infiniment à mon encadreur Pr. MEHLANI M qui a dirigé ce travail et veillé à ce qu'il soit mené à terme. Je tiens surtout à vous remercier pour vos conseils qui m'ont été de grande utilité.*

*Grand et respectueux remerciement va à Pr. BEN BRAHIM F d'avoir accepté de présider le jury de mon mémoire. Je vous remercie surtout pour votre entretien, vos conseils ainsi que vos précieuses discussions.*

*Merci aux membres du jury Pr. TELLI A et Dr. KAMASSI A pour leur présence nécessaire et utile au sein du jury.*

*C'est un grand merci que j'adresse à tous les membres du Laboratoire de département de biologie : Laboratoire de biochimie N°01 et biologie N°02 de l'Université de Ghardaïa pour leur gentillesse, leur écoute et leurs conseils.*

*Nous remercions également toutes les personnes qui ont contribué directement ou indirectement dans la réalisation de notre modeste travail ainsi que nos enseignants, le chef de l'institut et le chef de département pour leurs soutien et conseils durant la période de notre formation.*

*Je remercie tout particulièrement ma famille qui m'a toujours soutenu dans mes choix, et qui été présente chaque fois que cela a été nécessaire. Merci Maman, Merci Papa, Merci mes Soeurs, mes Frères.*

## Résumé

A fin de contribuer à la valorisation des plantes médicinales réputées pour leurs vertus thérapeutiques. Nous avons effectués une étude sur l'activité microbiologique des huiles essentielles et l'hydrolat des parties aériennes des plantes *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalpansis*, les plantes ont été soumise à une extraction par hydrodistillation le rendement d'extraction est variable, il est de 0.25% et 0,07% pour les huiles essentielles des *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalpansis* respectivement.

L'activité antimicrobienne à été évaluée sur quatre souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. les résultats obtenues montre que :

L'hydrolat de la plante *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalpansis* présente un effet antibactérien intéressant principalement contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Enterobacter cloacae*. Alors que cette hydrolat s'est révélée aucun effet contre les *Staphylococcus aureus*.

### Mots clés

Huile essentielle, l'hydrolat, *Pituranthos chloranthus*, *Ruta chalpansis*, activité antibactérienne.

## ملخص

من أجل إعادة الإعتبار للنباتات الطبية والمعروفة بخصائصها العلاجية قمنا بدراسة حول التأثير ضد الجرثومي للزيوت الطيارة ومائها المعطر لكل من نبتة القزاح و الفيجل. حيث تم استخلاصها بطريقة التقطير المائي وكان مردود الاستخلاص لكل من القزاح و الفيجل 0.25% 0,07% على التوالي.

أجري اختبار النشاط ضد الجرثومي علي أربع أصناف بكتيريا وهي : *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa*، و *Enterobacter cloacae*. وأظهرت النتائج أن :

مستخلص الماء المعطر لنبتة القزاح والفيجل أظهرت تأثير مُضاد جرثومي مُهم ضد بكتيريا *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Enterobacter cloacae*. غير أن هذا الماء المعطر أظهر عدم نشاطه ضد بكتيريا *Saphylococcus aureus*.

**الكلمات الدالة :**

ماء المعطر، الزيوت الطيارة، نبتة القزاح ، نبتة الفيجل، النشاط ضد الجرثومي.

## Summary

To contribute in the valorisation of medicinal plants which are famous by its therapeutic virtues. We have made a research about microbiological activity of the essential oils and Hydrosol from the aerial parts of plants *Pituranthos chloranthus* and *Ruta chalpansis*, summer plants subjected to an extraction by steam distillation to the hydrodistilateur. Depending on the technique used the extraction yield is variable, it is 0.25 % and 0.07% for the essential oils of *chloranthus Pituranthos* and *Ruta chalpansis* respectively.

The antimicrobial activity was evaluated on four bacterial strains: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. the obtained results shows that the :

The hydrosol of chloranthus Pituranthos plant and Ruta chalpansis presents an interesting antibacterial effect mainly against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae*. While this hydrosol proved inactive against *Staphylococcus aureus*.

### Key word

the essential oils, The hydrosol, *Pituranthos chloranthus*, *Ruta chalpansis*, and antimicrobiological activity.

# LISTE DES ABBREVIATIONS

A.N.A.R.H	Agence Nationale de Ressources Hydrique
HE	Huile Essentielle
MH	Muller-Hinton

# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 01</b> : Zones de collecte des plantes utilisées.	17
<b>Tableau 02</b> : Rendements en HE des différentes espèces végétales utilisées dans cette étude.	36
<b>Tableau 03</b> : Antibiogramme des Huiles essentielles de <i>Pituranthos chloranthus</i> et <i>Ruta chalpansis</i> (diamètre de la zone d'inhibition en mm ).	39
<b>Tableau 04</b> : Antibiogramme de l'hydrolat de <i>Pituranthos chloranthus</i> et <i>Ruta chalpansis</i> (diamètre de la zone d'inhibition en mm ).	42

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b> : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.	12
<b>Figure 02</b> : Montage d'extraction par micro-ondes.	14
<b>Figure 03</b> : Situation géographique de la région de Ghardaïa.	16
<b>Figure 04</b> : Plan expérimental.	27
<b>Figure 05</b> : Principe de la lecture d'un antibiogramme.	30
<b>Figure 06</b> : Rendement des huiles essentielles de la plante <i>Pituranthos chloranthus</i> et <i>Ruta chalpansis</i> .	36
<b>Figure 07</b> : Antibiogramme des Huiles essentielles de <i>Pituranthos chloranthus</i> et <i>Ruta chalpansis</i> (diamètre de la zone d'inhibition en mm ).	39
<b>Figure 08</b> : Antibiogramme de l'hydrolat de <i>Pituranthos chloranthus</i> et <i>Ruta chalpansis</i> (diamètre de la zone d'inhibition en mm ).	42

# LISTE DES PHOTOS

<b>Photo 01</b> : Pituranthos chloranthis dans Région de Souarègues (Métlili).	19
<b>Photo 02</b> : <i>Ruta chalepensis</i> L dans région de Oued Gazallate (Manseura).	22
<b>Photo 03</b> : Montage d'hydrodistillation.	28
<b>Photo 04</b> : La méthode de séparation des huiles essentielles.	29
<b>Photo 05</b> : Etapes de préparation de milieu de culture.	31
<b>Photo 06</b> : Préparation de l'inoculum.	
<b>Photo 07</b> : Ensemencement.	
<b>Photo 08</b> : Dépôt des disques .	
<b>Photo 9</b> : Zones d'inhibition des huiles essentielles de <i>Pituranthos chloranthus</i> et <i>ruta chalpanis</i> , des souches: <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , et <i>Entérobactéries</i> .	38
<b>Photo 10</b> : Zones d'inhibition des hydrolats de <i>Pituranthos chloranthus</i> et <i>ruta chalpanis</i> , des souches: <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , et <i>Entérobactéries</i> .	41

DEDICACES	
REMERCIEMENTS	
RESUME	
LISTE DES ABBREVIATIONS	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES PHOTOS	
INTRODUCTION.....	02

### ***CHAPITRE I – SYNTHÈSE BIBLIOTHÈQUE***

1. Généralité sur les plantes médicinales.....	04
1.1. Historique des plantes médicinales .....	04
1.2. Définition des plantes médicinales .....	05
1.3. Plantes médicinales .....	05
1.3.1. Dans le monde.....	05
1.3.2. En Afrique .....	05
1.3.3. En Algérie .....	06
1.4. Utilisations des Plantes médicinales .....	06
2. Huiles essentielles .....	08
2.1. Localisation des huiles essentielles.....	08
2.2. Caractérisation d'une huile essentielle .....	09
2.2.1. Propriétés organoleptiques.....	09
2.2.2. Propriétés physiques.....	09
2.2.3. Composition chimique.....	09
2.3. Activités biologiques des huiles essentielles .....	10
2.4. Toxicité des huiles essentielles.....	10
2.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	11
2.5.1. Hydrodistillation.....	11
2.5.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	12
2.5.3. Extraction par micro-ondes.....	13
2.5.4. Extraction par solvants organique (soxhlet).....	14

### ***CHAPITRE II – MATÉRIELS ET MÉTHODES***

1. Matériels.....	16
1.1. Présentation de la région d'étude .....	16
1.2. Matériel du laboratoire.....	17

1.3. Matériel végétal .....	17
1.3.1. La collecte de la plante <i>Pituranthos chloranthus</i> et <i>Ruta chalepensis</i> .....	17
1.3.1.1. <i>Pituranthos chloranthus</i> « L'ghezzah ».....	18
1.3.1.1.1. Description de plante.....	18
1.3.1.1.2. Systématique.....	19
1.3.1.1.3. Utilisation traditionnel.....	19
1.3.1.2. <i>Ruta chalepensis</i> « Fidjel ».....	20
1.3.1.2.1. Description de la plante.....	20
1.3.1.2.2. Systématique .....	21
1.3.1.2.3. Utilisation traditionnel.....	21
1.4. Matériel biologique .....	22
1.4.1. Bactéries à gram négatif .....	22
1.4.1.1. Genre <i>Escherichia</i> .....	22
1.4.1.2. Genre <i>Pseudomonas</i> .....	23
1.4.1.3. <i>Enterobacter cloacae</i> .....	23
1.4.2. Bactéries à gram positif .....	24
1.4.2.1. <i>Staphylocoques</i> .....	24
2. Méthodes de travail.....	25
2.1. Principe adopté .....	25
2.2. Extraction des huiles essentielles.....	25
2.2.1. Hydrodistillation.....	25
2.2.2. Calcul du rendement.....	27
2.3. Méthode de diffusion sur milieu solide.....	28
2.3.1. Principe.....	28
2.3.2. Suivi de l'activité des huiles essentielles et hydrolat.....	29
2.3.2.1. Préparation du milieu de culture Muller-Hinton ( MH ) .....	29
2.3.2.2. Préparation de l'inoculum.....	30
2.3.2.3. Ensemencement .....	30
2.3.2.4. Dépôt des disques.....	31
2.3.2.5. Lecture .....	31
<b>CHAPITRE III – RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
1. Résultats.....	32
1.1. Calcul de rendement.....	32
1.1. Activité antimicrobienne de l'extrait.....	34

1.1.1.Huiles essentielles.....	34
1.1.2. l'extrait de l'hydrolat.....	37
CONCLUSION.....	40
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	41
Annexe .....	46

## **INTRODUCTION**

Une plante médicinale est une plante que l'on cultive ou que l'on cueille dans son milieu naturel pour ses propriétés médicinales ( BENAYAD., 2008 ).

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite s'est développé pour les utiliser comme médicaments et remèdes à fin de soigner les différentes maladies, jusqu'à maintenant les plantes sont encore destinées à la santé humaine malgré les efforts des chimistes qui essayent de synthétiser de nouvelles molécules. D'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (DAMINTOTI *et al.*, 2005).

Il y a environ 500000 plantes sur terre, 10000 d'entre elles environ, possèdent des propriétés médicinales. La plupart de ces plantes sont bien connues et traditionnellement utilisées dans le monde entier, comme la Camomille allemande ou gingembre...etc (ISERIN., 2001).

Selon CHAHAT., (1986), les Egyptiens étaient les premiers fondateurs de science de la droguerie, la momification et la médecine. L'usage thérapeutique des plantes médicinales remonte, en Afrique, aux temps les plus reculés. Les écrits égyptiens confirment que l'herboristerie était, depuis des millénaires, tenue en grande estime (ISERIN., 2001).

Selon MOKKADEM (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 .

Chaque fois que, après écrasé un pétale de fleurs, une feuille, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle s'est libérée ( BEKHECHI *et al.*, 2010).

Les huiles essentielles, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont pesantes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles (PADRINT *et al.*, 1996).

Depuis leur découverte les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologique. Elles sont utilisables dans les préparations pharmaceutiques (GHEDABNIA *et al.*, 2008).

Notre étude à pour but de détermine les effets biologique des huiles essentielles et l'hydrolats de la plante *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalepensis*, qui sont abondantes dans la wilaya de Ghardaïa.

Notre travaille comprend trois grands chapitres :

Le premier chapitre est consacré aux généralités sur les plants médicinales. Cette étude inclus: la définition, aperçu historiques des plantes médicinales, ainsi que sur les huiles essentielles et les méthodes d'extraction des huiles essentielles.

Dans le deuxième chapitre regroupe les matériels et l'ensemble des techniques utilisées pour l'extraction des huiles essentielles et des testes biologiques.

Enfin, le troisième chapitre est consacré aux présentations et interprétation des résultats obtenus qui sont clôturées par une conclusion générale qui résume l'ensemble de réflexions achévent cette étude.

## **1. Généralité sur les plantes médicinales**

### **1.1. Historique des plantes médicinales**

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité. Les hommes sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition. qu'une autre? Le hasard? La religion? La superstition? L'expérience, certainement. Plusieurs théoriciens ont entrepris d'expliquer l'action des plantes sur l'organisme.

Dans l'Antiquité Gréco-Romaine, mentionnons les grands médecins Grecs : Hippocrate , Dioscoride , Galien , pour sa part, le Romain Pline l'Ancien , à la fois amiral, écrivain et naturaliste, a écrit une Histoire naturelle en 37 volumes. L'ouvrage de Dioscoride Sur la matière médicale, qui décrivait tous les médicaments en usage à son époque, demeura l'une des sources les plus consultées par les médecins jusqu'à l'aube du XIXe siècle.

Au XVIe siècle, la célèbre école italienne de Salerne a marqué la médecine de son temps. Elle conseillait au roi « de conserver un esprit gai, de se ménager du repos, et de se contenter d'une alimentation modeste»; aujourd'hui, ces conseils pourraient être suivis judicieusement par chacun d'entre nous.

Jusqu'au XIXe siècle, les médecins se contentaient, pratiquement, de puiser dans la «pharmacie du bon Dieu» pour soulager les maux de leurs contemporains. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes (la quinine du quinquina, la digitaline de la digitale ... etc.). Pour suivant leurs recherches, au début du XXe siècle, ils ont fabriqué des molécules synthétiques. Désormais, croyait-on, on allait prescrire exclusivement des médicaments issus des cornues, les plantes ne servant plus que de réserves à molécules chimiques utiles (ISERIN., 2001).

## **1.2. Définition des plantes médicinales**

L'être humain utilise des plantes depuis des milliers d'années pour traiter divers maux, le monde végétale est à l'origine d'un grand nombre de médicaments ( BENAYAD., 2008 ).

La matière médicale, << Materia Medica >> est à l'origine, l'étude de toutes les matières premières naturelles à usage médical. Actuellement encore appelée Pharmacognosie, elle est le plus souvent limitée aux produits bruts d'origine végétale (HAMEURLAINE., 2009 ).

## **1.3. Plantes médicinales**

### **1.3.1. Dans le monde**

Il y a environ 500000 plantes sur terre, 10000 d'entre elles environ, possèdent des propriétés médicinales. Cent des plus courantes présentées dans l'ordre alphabétique de leur nom latin, sont étudiées dans la partie consacré aux principales plantes médicinales. La plupart de ces plantes sont bien connues et traditionnellement utilisées dans le monde entier, comme la Camomille allemande ou gingembre. Les autres tel le Neem (*Azadirachta indica*)(Miliaceae), originaire d'Asie, sont surtout utilisées dans leur région d'origine. La majorité de ces plantes ont fait l'objet de recherche et agissent efficacement sur la santé (ISERIN., 2001).

### **1.3.2. En Afrique**

En Afrique, les comportements varient, en partie à cause de la persistance de la sorcellerie : des millions de personnes utilisent avant tout et parfois exclusivement la médecine traditionnelle, parce qu'elle demeure la plus abordable et qu'elle semble efficace. D'autre préfèrent la médecine occidentale, parce qu'ils associent médecine traditionnelle et superstition. Un chiffre global permet de se rendre compte de l'importance du recours à la médecine traditionnelle. On estime que 80 % de la population mondiale y recourt pour ses premiers soins de santé.

L'usage thérapeutique des plantes médicinales remonte, en Afrique, aux temps les plus reculés. Les écrits égyptiens confirment que l'herboristerie était, depuis des millénaires, tenue en grande estime. Le papyrus Ebers , un des plus anciens textes médicaux conservés, recense plus de

870 prescriptions et préparations, 700 plantes médicinales dont la gentiane jaune , l'aloès et le pavot . Il traite des affections bronchiques aux morsures de crocodile. Les techniques médicales mentionnées dans les différents manuscrits égyptiens constituent les bases de la pratique médicale classique en Grèce, à Rome et dans le monde arabe (ISERIN., 2001).

### **1.3.3. En Algérie**

Selon MOKKADEM (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.

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 subit des dégradations irréversibles, comme on l'assiste aujourd'hui en Algérie et comme l'estime MOKKADEM, (1999), que ces dix dernières années, des dizaines de plantes médicinales et aromatiques ont été déperdus.

### **1.4. Utilisations des plantes médicinales**

Les grands types d'usages des plantes aromatiques et médicinales utiles à l'homme peuvent être classé par principes usages (ADOSSIDES., 2003 ). On peut citer :

- Plantes pour tisanes boissons hygiéniques et d'agrément ;
- Plantes à usages cosmétiques : Plantes astringentes, Plantes adoucissantes, Plantes cicatrisantes, Plantes à usages capillaires, Plantes à usages pigmentaires, Plantes anti-ecchymose ;
- Plantes à usages aromatiques et condimentaires ;
- Plantes à usages alimentaires : Plantes à boissons, Plantes oléagineuses, Plantes à protéines, Plantes à glucides et vitamines ;

- 
- Plantes à parfum ;
  - Plantes à usages industriels : Plantes tinctoriales, Plantes à fibres textiles, Plantes à insecticides, Plantes à usages divers ;
  - Plantes médicinales : Plantes à huiles essentielles et résines, Plantes à alcaloïdes, Plantes à terpènes, Plantes à hétérosides sulfures, Plantes à flavonoïdes, Plantes à hétérosides coumariniques, Plantes à hétérosides ranunculosides, Plantes à hétérosides anthracéniques, Plantes à tannin, Plantes à hétérosides amers, Plantes à hétérosides cardénoliques, Plantes à saponosides, Plantes à mucilages, Plantes à oestrogènes (ADOSSIDES., 2003 ).

## 2. Huiles essentielles

Chaque fois que, après écrasé un pétale de fleurs, une feuille, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle s'est libérée (BEKHECHI *et al.*, 2010).

Les huiles essentielles, appelées aussi (essences, huiles volatiles), sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont pesantes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air (PADRINT *et al.*, 1996).

Depuis leur découverte les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologique. Elles sont utilisables dans les préparations pharmaceutiques (GHEDABNIA *et al.*, 2008).

### 2.1. Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal avec des familles à haute teneur en matières odorantes comme les Conifères, les Rutacées, les Myrtacées, les Umbellifères, les Lamiacées, les Géraniacées, les Pinacées ... etc (ENDRIAS., 2006).

Les essences peuvent être localisées dans des cellules sécrétrices isolées (cas des lauracées et magnoliacées), mais on les trouve le plus souvent dans des organes sécréteurs spécialement différenciés et variables suivant les familles botaniques. On peut citer, par exemple, les poils sécréteurs des lamiacées, les poches sécrétrices des rutacées et les canaux sécréteurs des conifères. L'appareil sécréteur peut être externe, comme dans bon nombre de lamiacées, ou bien interne, comme c'est le cas pour les différents Eucalyptus (Myrtacées) (WILLEM., 2002 et ROUILIER., 1990).

## 2.2. Caractérisation d'une huile essentielle

### 2.2.1. Propriétés organoleptiques

- **Aspect:** état liquide à température ambiante ;
- **Odeur:** volatilité (caractère odorant) ;
- **Couleur:** incolore à brun foncé (SMADJA., 2009) .

### 2.2.2. Propriétés physiques

- Densité en général inférieure à 1 ;
- Indice de réfraction assez élevé: coriandre: 1,4620-1,4700  
vétiver Bourbon: 1,5220-1,5300
- Pouvoir rotatoire : cannelle (feuilles): +7° à +13°  
vétiver Bourbon: +19° à +30° (SMADJA., 2009).

### 2.2.3. Composition chimique

#### A. Hydrocarbures

- Isoprène C5 ;
- Monoterpéniques C10 : limonène (Orange), -pinène (Géranium) ;
- Sesquiterpéniques C15 : caryophyllène (Girofle)-phellandrène (Lavande) ;
- Diterpéniques C20 : kaurène, atisirène (Faham) .

**B. Alcools:** menthol (Menthe), linalol (Thym) .

**C. Phénols:** thymol (Thym), eugénol (Girofle) .

**D. Ethers-oxydes:** eucalyptol (Eucalyptus) .

**E. Aldéhydes:** citral (Citron), aldéhyde cinnamique (Cannelle) .

**F. Esters :** acétate de linalyle (Lavande), acétate de géranyle (Géranium) .

**G. Cétones :** carvone (Carvi) ;  $\alpha$  et  $\beta$  -vétivones (Vétiver) .

**H. Acides :** acide cinnamique (Cannelle), acide cyclopropylacétique (Vétiver) (SMADJA., 2009) .

### **2.3. Activités biologiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine fongiques, contre les dermatophytes, celles d'origine bactériennes, par exemple contre les bactéries endocanalaire et au niveau de la microflore vaginale. Elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre. Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique (ENDRIAS., 2006 ).

### **2.4. Toxicité des huiles essentielles**

Cet aspect de la connaissance des HE 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 (BRUNETON., 1993).

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 aigue lie a une ingestion massive, en particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone ( thuya, absinthe, tanaïsie, sauge, officinale ) ou à pinocomphone (hysope): ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l' hospitalisation (BRUNETON., 1993).

De telles intoxications ne sont pas exceptionnelles. D'autres monoterpènes sont également toxiques à doses fortes: camphre, menthol, (risque de spasme de glotte chez le jeune enfant ), cinéole, E-anéthole. Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudent face aux pratiques telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des HE -pures et à doses fortes- par voie orale et, a fortiori, en mélange (BRUNETON., 1993).

## 2.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont extraites principalement par des méthodes :

- L'hydrodistillation.
- L'entraînement à la vapeur de l'eau.
- micro-onde.
- par des solvants organique (soxhlet).

### 2.5.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle (MEYER., 1984), 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 (LUICITA., 2006).

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 (RAUL *et al.*, 2005). Par contre, les températures d'ébullition des composés aromatiques sont la plupart très sèves (LUICITA., 2006 et LUCCHESI., 2005 ).

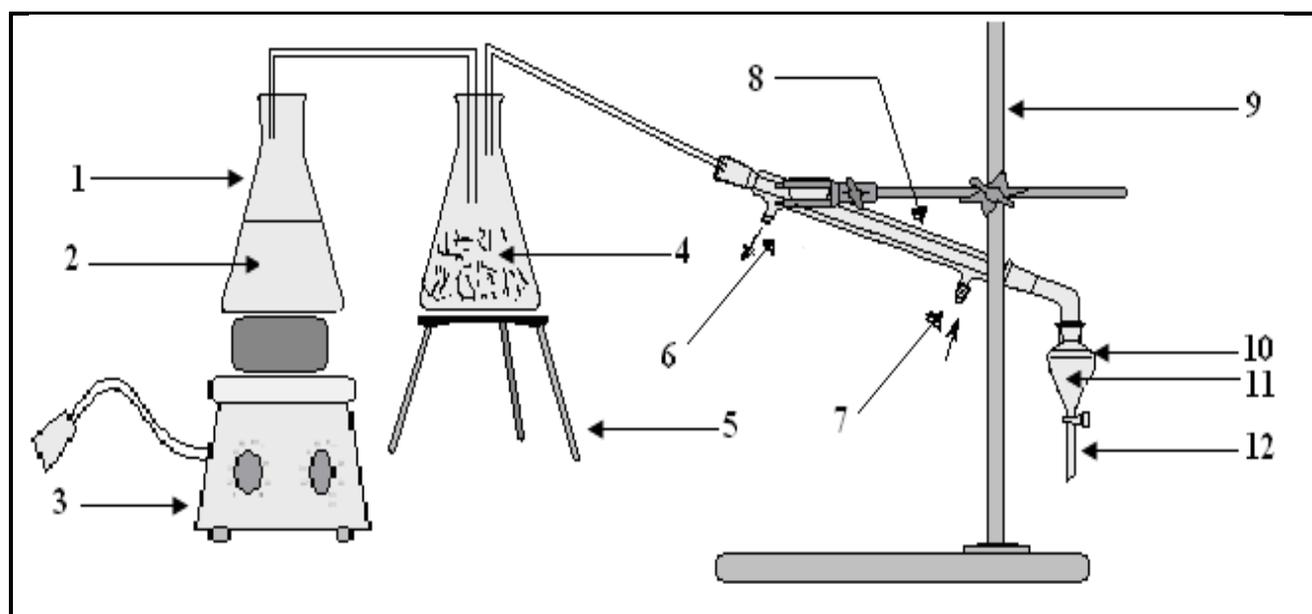
La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures (8 h) , selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait ( LUCCHESI., 2005 ).

### 2.5.2. 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 (LUICITA., 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 ).

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques quelque soit le « type » d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation.



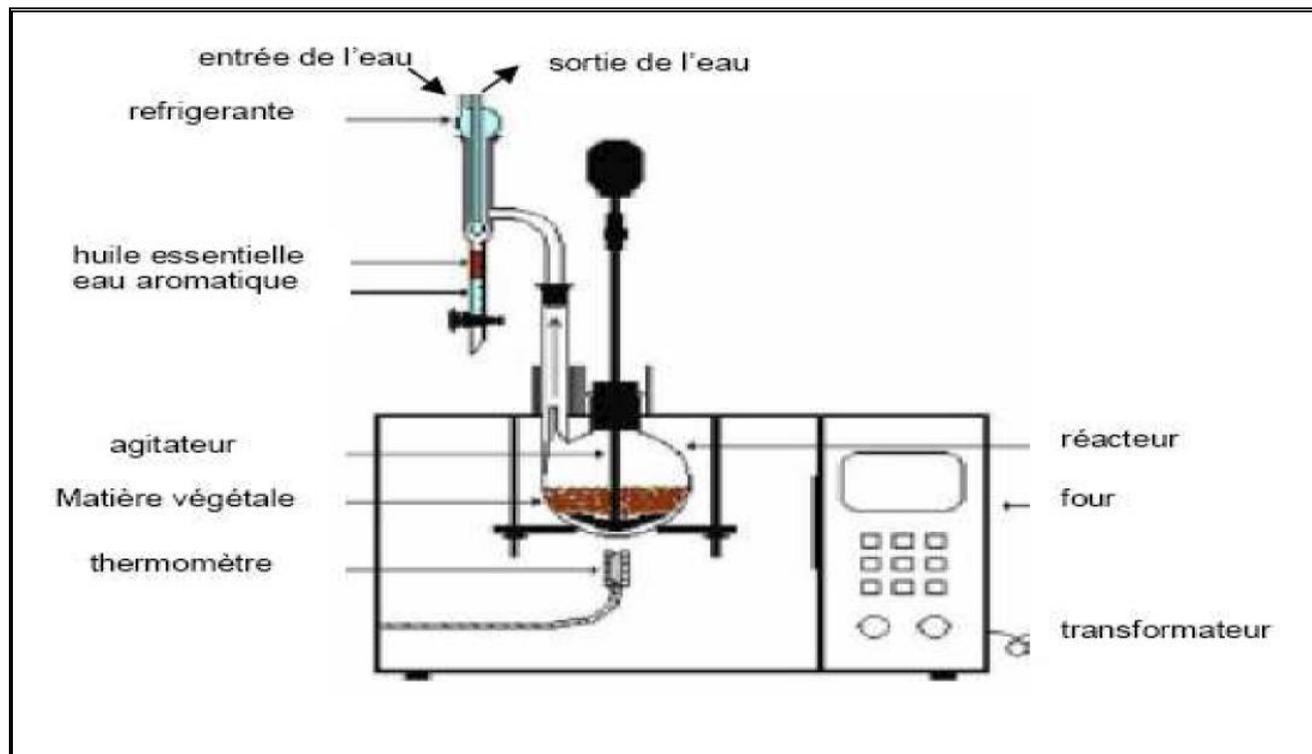
**Figure 01 :** Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau (LUICITA., 2006).

- |                                       |                              |
|---------------------------------------|------------------------------|
| 1- Le Flacon Erlenmeyer               | 7- l'entre de l'eau          |
| 2- l'eau                              | 8- réfrigérant               |
| 3- chauffe-ballon                     | 9- le support de réfrigérant |
| 4- la plante                          | 10- l'huile essentielle      |
| 5- le support de Le Flacon Erlenmeyer | 11- l'eau aromatique         |
| 6- la sortir de l'eau                 | 12- l'ampoule décompter      |

### **2.5.3. Extraction par micro-ondes**

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 (LUCCHESI., 2005 ).

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 (les forces de liaison par pont hydrogène et les forces de liaisons de Vander Waals). 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 ) .



**Figure 02:** Montage d'extraction par micro-ondes (LUICITA., 2006).

#### 2.5.4. Extraction par solvants organique (soxhlet)

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique (LUCCHESI M., 2005).

Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de l'eau ou de la vapeur d'eau (LUCCHESI., 2005 ).

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une forte solubilité de l'huile certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec

---

l'extrait, ( BOTTIN., 2006 ) absence de toxicité pour les applications alimentaires (WAN *et al.*, 1995).

Permis les solvants les plus utilisés sont des carbures aliphatiques (pentane, hexane)(AMALIA *et al.*, 2005 ), ou des carbures aromatiques ( benzène ).

## CHAPITRE I – MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1. Matériels

#### 1.1. Présentation de la région d'étude

La wilaya de Ghardaïa se situe au centre de la partie Nord de Sahara Algérien à 600 km au Sud d'Alger, elle est limitée au Nord par la wilaya de Laghouat, au Nord-Est par la wilaya de Djelfa, à l'Est par la wilaya de Ouargla, au Sud par la wilaya de Tamanrasset, au Sud-Ouest par la wilaya d'Adrar et à l'Ouest par la wilaya d'el Bayadh (DPAT., 2005).

Ses coordonnées géographiques sont les suivantes : Latitude: 32° 29' N, Longitude: 3° 41' E et Altitude: 468 mètres. Elle comporte treize communes réparties sur trois daïras couvrant une superficie de 86560 km<sup>2</sup> (DPAT., 2005).



Figure 03 : Situation géographique de la région de Ghardaïa (A.N.A.R.H., 2007).

## 1.2. Matériel du laboratoire

Afin de réaliser cette étude, plusieurs types d'appareillages ont été utilisés citant par exemple. Les matériels utilisés lors de l'extraction, une ampoule à décanter, Becher, Chauffe ballon, tube réfrigérant... etc. Et les matériels pour les manipulations des microorganismes tel que : Four pasteur, Bec bunsen, Etuve, Boite de pétri, Autoclave, Anse de platine, Pipettes pasteur, Bain-marie, Balance, Verre de montre, Papier filtre, Disques d'absorbance et des milieux de culture : Mueller Hinton, gélose nutritive.

## 1.3. Matériel végétal

### 1.3.1. Collecte de la plante *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalpansis*

La collecte de la plante s'est effectuée dans la région de Metlili et Mansoura de la wilaya de Ghardaïa (Latitude: 32° 29' N, Longitude: 3° 41' E , Altitude: 468 mètres) (DPAT., 2005), en mois de Décembre 2013 (Tableau 01). La station de la collecte de plante "*Pituranthos chloranthus* est située au niveau de la zone dite « des Souarègues » dans la commune de Metlili , et la station de la collecte de plante *Ruta chalpansis* est située au niveau de la zone dite « Oued Gazalatte » dans la commune de Mansoura.

**Tableau 01** : Zones de collecte des plantes utilisées (AZZAOUÏ., 2014).

Plante	Zone de la collecte		Partie collectée
	Wilaya	Région	
<i>Pituranthos chloranthus</i>	Ghardaïa	Metlil « Souarègues »	Partie aérienne
<i>Ruta chalpansis</i>	Ghardaïa	Mansoura « Oued Gazalatte »	Partie aérienne

### 1.3.1.1. *Pituranthos chloranthus* « L'ghezzah »

#### 1.3.1.1.1. Description de plante

Les Ombellifères (Apiaceae) 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).

Le genre *Pituranthos* possède plus de vingt espèces, dont certaines sont spécifiques à l'Afrique du nord (QUEZEL *et al.*, 1962 et KAABECHE., 1990) et sont souvent rencontrées dans les régions arides ou désertiques.

Le potentiel floristique Algérien de ce genre comporte les espèces suivantes (HAMEURLAINE., 2009) :

- *Pituranthos chloranthus*, l'objet de notre travail, espèce particulièrement moins présente.
- *Pituranthos scoparius*, espèce abondante dans les Aurès.
- *Pituranthos battandieri* (Mair): endémique au Sahara marocain et l'oranie (BELLAKHDAR., 1997 ).

QUEZEL (1962) a décrit le genre *pituranthos* comme une plante vivace, totalement aphyllé, à tige très ramifiées, portant des ombelles à involucre et involucelles polyphylles est des percarpes ovoïdes à six bandelettes (HAMEURLAINE., 2009).

L'espèce *Pituranthos chloranthus*, selon CHEHMA (2006) est une plantes vivaces à tige vert jaunâtre, en forme de Jones, ramifiées dès la base de 0,5 à 1 mètre de haut. Feuilles petites rapidement caduques. Fleurs verts à pétales large portant des poils sur leur nervure dorsale. Fruits akènes ovoïdes de 1 à 2 mm de diamètre poilues (CHEHMA., 2006).

- **Périodes de végétation** : floraison en Avril - Mai.
- **Habitat**: Hamada et lits d'oued et dépressions à fond rocheux .
- **Répartition**: Assez répandu dans tout le Sahara, comme Nord Afrique. Elles se présentent en très grandes colonies. Sahara septentrionale: Guir, Saoura, Bou Saada, Biskra...etc .
- **Intérêt pastoral** : la plante est broutée en petites quantités par les dromadaires (CHEHMA., 2006 ).

### 1.3.1.1.2. Systématique

La systématique botanique est pour un chercheur la carte d'identification de la plantes et sans cette dernière, il est très difficile d'entamer un travail de recherche. on peut résumer le systématique botanique de la plante comme suit :

**Règne :** Plante ;

**Embranchement :** Phanérogames ;

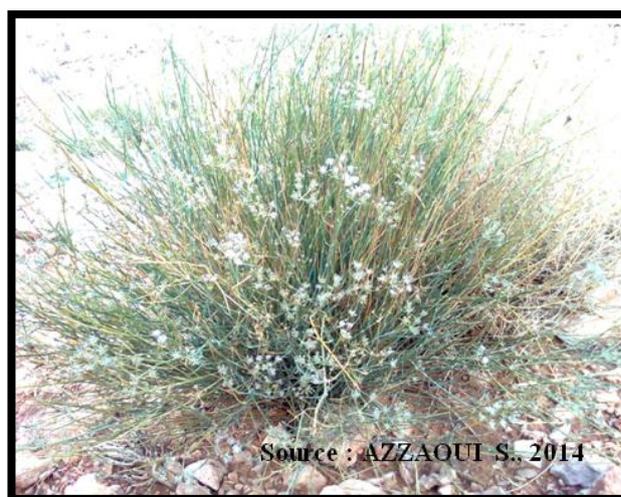
**Classe :** Dicotylédones ;

**Ordre :** Araliales ;

**Famille :** Ombellifères (Apiaceae) ;

**Genre :** *Pituranthos* ;

**Espèce :** *Pituranthos chloranthus* ;



**Photo 01 :** *Pituranthos chloranthus* dans Région de Souarègues (Métlili).

### 1.3.1.1.3. Utilisation traditionnel

Les fleurs et les feuilles, utilisées en infusion ou en décoction pour soigner les indigestions les maux d'estomac ainsi que les maux du bas ventre, en cataplasme sur la tête dans le soin des céphalées (CHEHMA., 2006 ).

### 1.3.1.2. *Ruta chalepensis* « Fidjel »

#### 1.3.1.2.1. Description de la plante

Les espèces de *Ruta* les plus connues sont très proches en forme, composition et en propriétés pharmacologiques (ATTOU., 2011) :

- ❖ *Ruta chalepensis* : (décrite ci dessous).
- ❖ *Ruta montana* : c'est la rue des montagnes (synonymes : *Ruta legitima* Jacq ; *Ruta tenuifolia* Gouan) ou bonne rue (BONNIER., 1999), appelée vulgairement en Algérie : *fidjlet el-djbel* ou *Fidjela* a une odeur fétide très intense, se trouve sur les coteaux arides et dans les endroits secs et pierreux de la région méditerranéenne (BABA., 1999).
- ❖ *Ruta graveolens* : graveolens vient du latin « Gravis » qui signifie fort et du verbe « olere » qui veut dire sentir, donc odeur forte et désagréable (DOERPER., 2008). Appelée aussi rue-officinale, rue-puante, rue fétide, rue des jardins, Herbe à la belle-fille, Rue des murailles (BONNIER S., 1999) et également péganion (LE MOINE., 2001), cette espèce est appelée vulgairement *Fidjen* (ABDULBASSET et al., 2008).

*Ruta chalepensis* est une plante aromatique, appartenant à la famille des rutacées, appelée communément par la population locale « Fidjel ». La *ruta chalepensis*, plante herbacée à tige ligneuse à la base, pouvant atteindre 1 m (BABA., 1999). Les feuilles sont aromatiques, ovales, larges, pennatiséquées, bleu-vert, elles présentent de nombreux lobes oblongs, lancéolés ou aborales. En été, s'épanouissent des fleurs de 1 à 2 cm de diamètre, en coupe, de couleur jaune foncé, portant quatre ou cinq pétales frangés de longs poils. Elles sont réunies en cymes lâches (MIOULANE., 2004).

**Appelée aussi :** *Ruta angustifolia* / *Ruta graveolens* var. *angustifolia* (DUKE et al, 2008). La rue est citée sous le terme de *sadzab* par ABDULBASSET et al., 2008, elle est aussi dite en berbère: *aouermi*, *Issel*, *Issin* Autres noms sont indiqués par DUKE et al en 2008: *Al Shathap* (ATTOU., 2011).

- **Période de la végétation** : Floraison en Mars - Août.
- **Habitat** : Se rencontre, en pieds isolés sur sols sablo-caillouteux, dans les lits d'oued et des dépressions.

- **Répartition** : C'est une espèce méditerranéenne, relativement commune dans toute l'Algérie septentrionale (BABA., 1999), au nord-est de l'Afrique, sud de l'Europe et le sud-ouest de l'Asie (MIOULANE., 2004).
- **Intérêt pastoral** : Elle n'est pas broutée, à cause de sa mauvaise odeur (CHEHMA., 2006).

#### 1.3.1.2.2. Systématique

Selon (WIART., 2006 et BONNIER., 1999 et TAKHTAJAN., 2009) la classification de plante *Ruta chalepensis* est :

**Règne** : Plantae ;

**Embranchement** : Spermatophyta ;

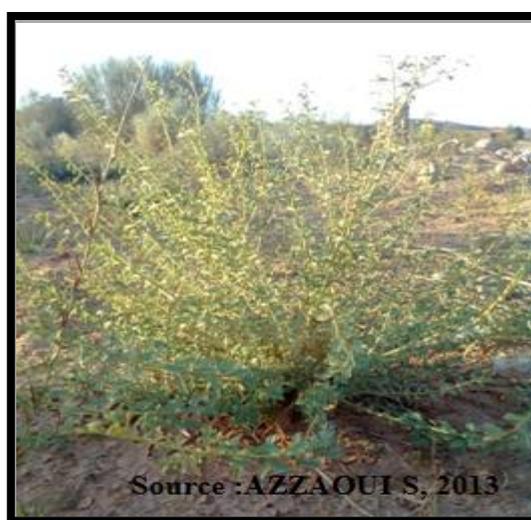
**Classe** : Dicotylédones ;

**Ordre** : Sapindales ;

**Famille** : Rutaceae ;

**Genre** : *Ruta* ;

**Espèce** : *Ruta chalepensis* L;



**Photo 02:** *Ruta chalepensis* L dans région de Oued Gazallate(Manseura)

#### 1.3.1.2.3. Utilisation traditionnel

La rue est très utilisée à des fins diverses : Fébrifuge, antivenimeux local, contre les nausées et les vomissements, dans les constipations, dans le paludisme, pour soigner les anémies (MERAD CHIALI., 1973), le rhumatisme, contre les douleurs gastriques, les vers intestinaux, dans les accouchements difficiles, les maux des yeux et des oreilles, dans l'asthme, les névroses (ATTOU., 2011).

## 1.4. Matériel biologique

Le choix des bactéries a été porté sur quatre souches fréquentes en pathologie humaine. Nous avons sélectionné deux groupes de bactéries :

### 1.4.1. Bactéries à gram négatif

#### 1.4.1.1. Genre *Escherichia*

Ce genre comprend 5 espèces, mais *E.coli* est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents.

*E.coli*, un hôte commun de l'intestin de l'homme ( $10^8$  / g de selles), et des animaux; elle est recherchée à ce titre, comme germe témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments.

A l'intérieure de l'espèce il y a des pathotypes souvent associés à des sérotypes particuliers. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastroentérites et diarrhées), leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines. *E.coli* entéropathogène (diarrhées infantiles), *E.coli* entérotoxinogène (tourista), *E.coli* entéroinvasif (invasion des cellules intestinales), *E.coli* entérohémorragique (diarrhées sanglantes), *E. coli* entéroadhérent (diarrhée du voyageur).

D'autres responsables de méningites néonatales, provoquent des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies qui correspondent à un nombre restreint de sérotypes (LECLERC *et al.* , 1995 ).

#### 1.4.1.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de vol moucheron (BOUDJOUREF., 2011).

*P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéropastes. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3 ème rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1 er rang pour les infections pulmonaires basses et le 3 ème rang pour les infections urinaires

(RICHARD et al., 1995). *P. aeruginosa* en sont capables à 41°C et même 43°C; ce caractère étant utilisé pour le diagnostic. La production d'un pigment est assez commune dans le genre. Deux sont particulièrement fréquents et utiles pour la reconnaissance des espèces: la pyocyanine, pigment phénazinique, soluble dans l'eau et le chloroforme, spécifique de l'espèce *P.aeruginosa*; la pyoverdine, ou pigment vert fluorescent, soluble uniquement dans l'eau et élaborée en particulier par *P.aeruginosa* et *P.fluorescens* (LECLERC et al ., 1995 ).

#### 1.4.1.3. *Enterobacter cloacae*

*Enterobacter cloacae* appartient au genre *Enterobacter* (espèce type) qui comprend 19 espèces : *E. asburiae*, *E. cancerogenus*, *E. cloacae* (espèce type), *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. nimipressuralis* ...etc. *Enterobacter cloacae* est présent dans l'environnement mais il est aussi commensal du tube digestif de l'homme et des animaux. Caractères morphologiques bacilles à Gram négatif, mobiles, non sporulés. et les Caractères culturels sont aéro-anaérobie. Cultive facilement sur milieux ordinaires à 37°C. Les colonies ont l'aspect classique des colonies d'entérobactéries. Elles ne sont pas pigmentées (CLAVE., 2011 ).

Le genre *Enterobacter* a pris une importance croissante du fait de son implication dans les infections nosocomiales. C'est un pathogène opportuniste responsable de : infection urinaire bactériémie, infection respiratoire, suppurations diverses. infection tissulaire après une plaie souillée par de la terre, il est souvent associé à *Bacillus cereus*. Des septicémies dues à la contamination de préparations pour nutrition parentérale conservées au réfrigérateur ont été décrites (CLAVE., 2011 ).

## 1.4.2. Bactéries à gram positif

### 1.4.2.1. *Staphylocoques aureus*

Les bactéries du genre *Staphylococcus aureus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative.

- **Historique :** Observés par Pasteur en 1879 dans un pus de furoncle, les staphylocoques doivent leur nom à OGSTON (1881) qui les a mis en évidence dans des abcès aigus et chroniques.
- **Habitat :** *S. aureus* est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin). On le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux. Éliminé dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement (DCEM1., 2003).

Ces souches nous ont été fournies aimablement par les responsables de laboratoire de Biologie 01 de université de Ghardaïa.

## 1. Méthodes de travail

### 2.1. Principe adopté

Notre étude a pour but de déterminer les effets biologiques des huiles essentielles et les hydrolats de la plante *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalepensis*, qui sont abondants dans la wilaya de Ghardaïa.

Le protocole général de notre travail est comme suite :

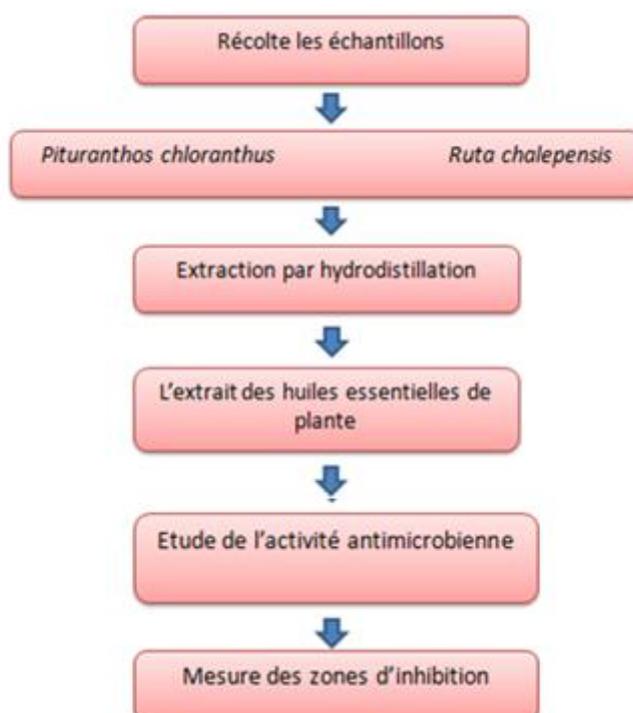


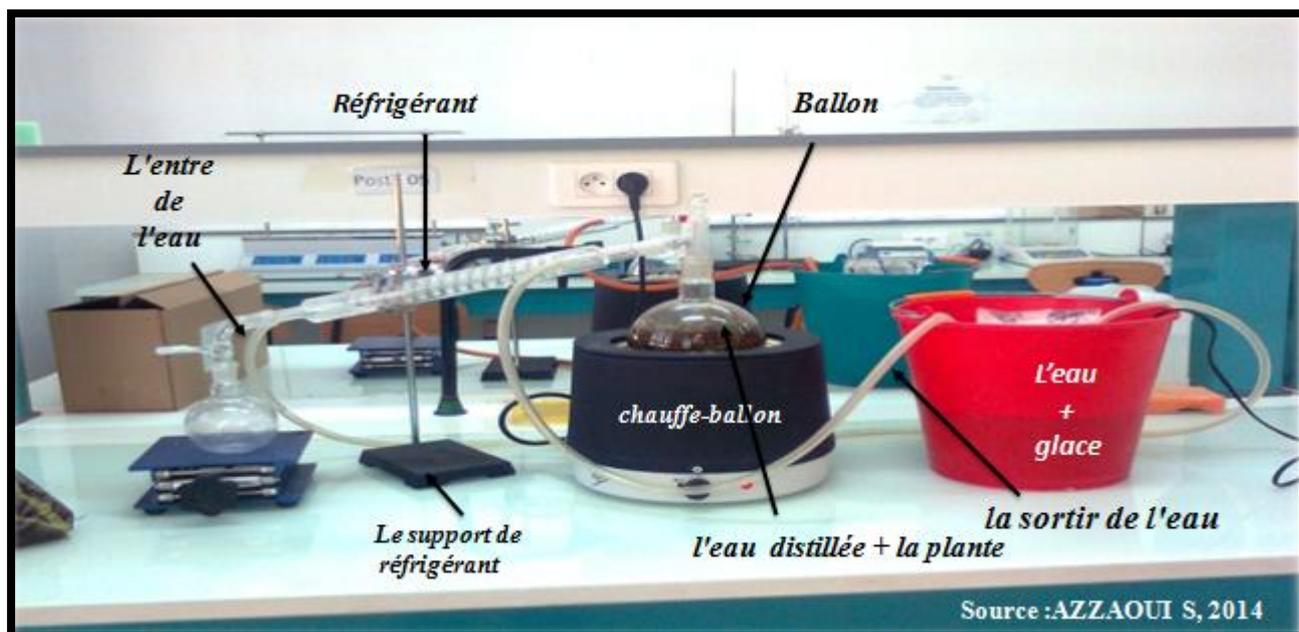
Figure 04 : Plan expérimental.

## 2.2. Extraction des huiles essentielles

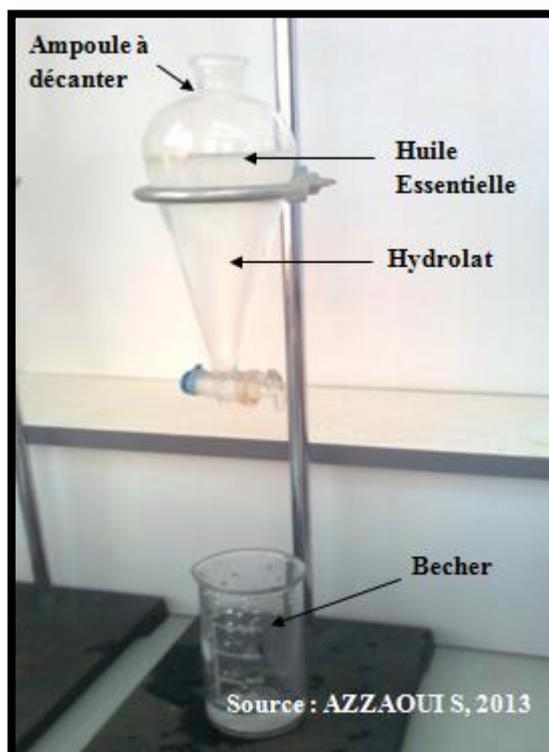
### 2.2.1. Hydrodistillation

Les échantillons destinés à l'extraction des huiles essentielles sont coupés en petits morceaux, La plante a été déposée au laboratoire de Chimie N°01 (à l'Université de Ghardaïa) et soumise aux opérations d'extraction.

Les huiles essentielles sont extraites à partir de la partie aérienne de la plantes *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalpansis*. L'extraction est faite par un montage d'hydrodistillation , elle est réalisée par ébullition pendant 3 heures d'un mélange de 100 g de matériel végétal (coupée en petits morceaux) et 500 ml d'eau distillée. Les HE obtenues sont conservées dans des tubes bien fermés, en verre ombré.



**Photo 03 :** Montage d'hydrodistillation.



**Photo 04 :** Méthode de séparation des huiles essentielles.

### 2.2.2. Calcul du rendement

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction ( $M'$ ) et la masse de la matière végétale utilisée ( $M$ ). Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

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

RHE : rendement en huile essentielle ;

$M'$  : masse d'huile essentielle en gramme ;

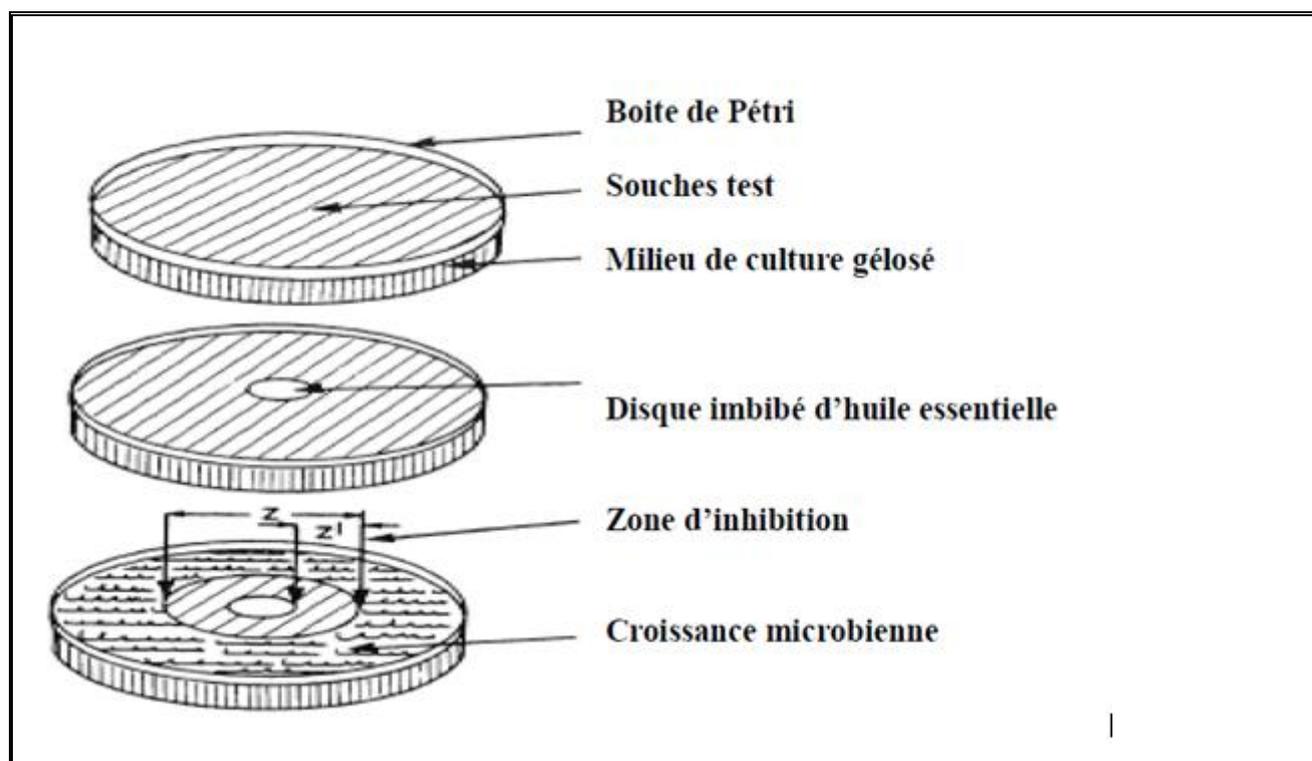
$M$  : masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme et qui vaut 10 g ;

### 2.3. Méthode de diffusion sur milieu solide

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et hydrolat, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose : appelée aromatoگرامme. Le principe de la méthode est tiré à partir du titrage des antibiotique (BENJELALI *et al.*, 1986).

#### 2.3.1. Principe

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (Figure 05).

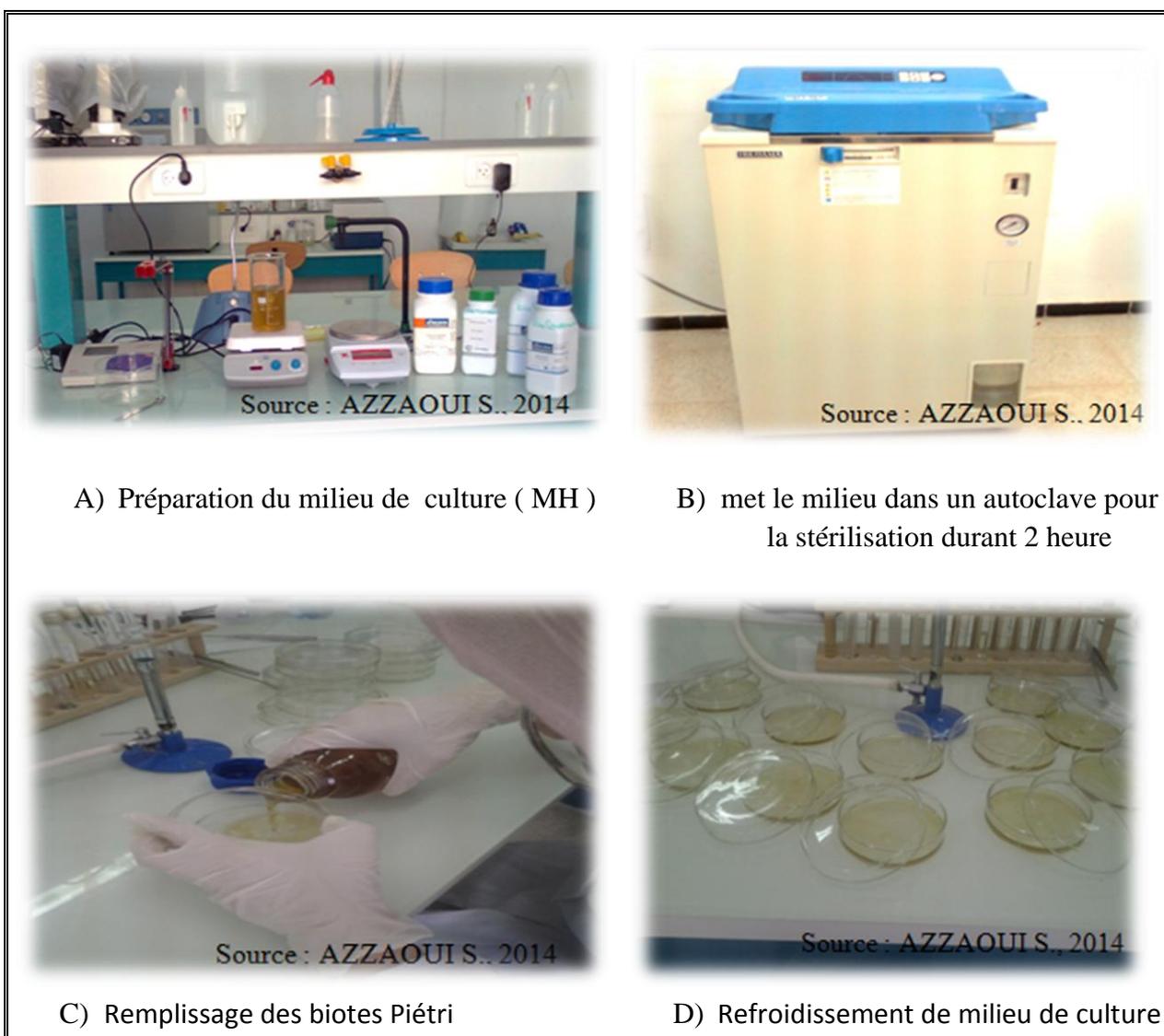


**Figure 05** : Principe de la lecture d'un antibiogramme (PIBIRI., 2005) .

### 2.3.2. Suivi de l'activité des huiles essentielles et hydrolat

#### 2.3.2.1. Préparation du milieu de culture Muller-Hinton (MH)

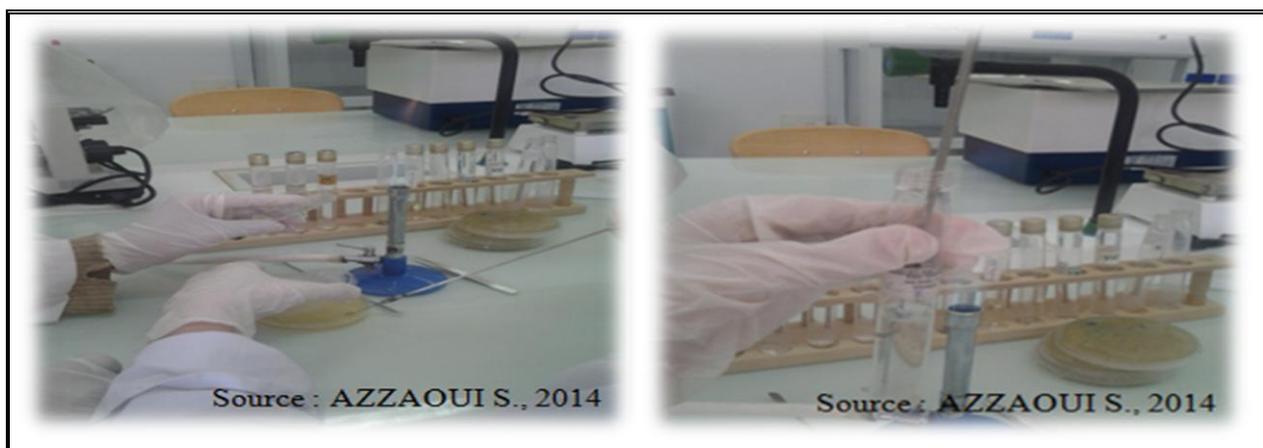
Dans un flacon de 1000 ml on mélange 2 g d'extrait de malte et glucose et 5 g d'extrait de levure puis on remplit avec l'eau distillée, il faut homogénéiser puis mesurer pH de ce milieu et on ajoute Na OH jusqu' à PH=7.2, Puis( on ajoute 8.75 g de poudre d'agar et mélanger le milieu et en fin on met le milieu dans un autoclave pour la stérilisation durant 2 heure. Ensuite sont coulés aseptiquement dans les boîtes de Pétri pour formé des couches de 6 mm de diamètre puis, refroidis progressivement (Photo n°: 05).



**Photo 05 :** Etapes de préparation de milieu de culture.

### 2.3.2.2. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune, on prélève à l'aide d'une anse de platine deux à trois colonies pures et bien isolées qu'on décharge dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. L'enrichissement dure pendant 2 à 3 heures ( FROUHAT *et al.* , 2013) ( photo n°: 06).



**Photo 06 :** Préparation de l'inoculum.

### 2.3.2.3. Ensemencement

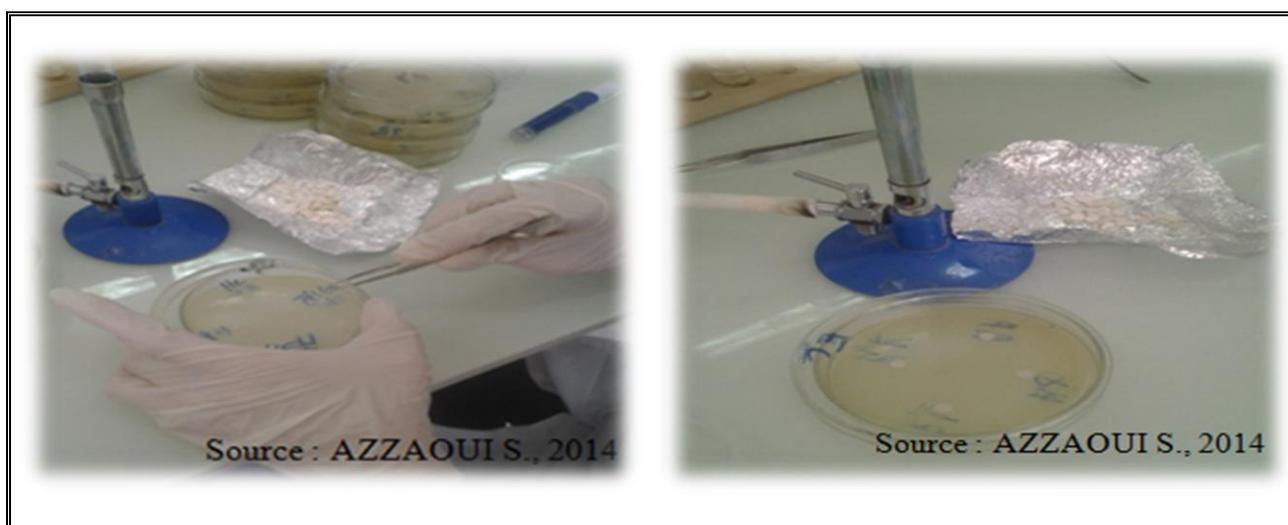
Sur des boites contenant le milieu gélosé Mueller Hinton d'une épaisseur de 4 mm bien séchées on introduit 3 à 5 ml de l'inoculum. On obtient ainsi, un étalement uniforme en nappe. L'excès du liquide est aspiré à l'aide d'une pipette pasteur et rejeté dans un bac d'eau de javel et les boites sont mises a sécher pendant 15 minutes ( FROUHAT *et al.* , 2013) (photo n°: 07).



**Photo 07 :** Ensemencement.

### 2.3.2.4. Dépôt des disques

Les disques sont prélevés à l'aide d'une pince stérile, puis imbibés avec les huiles essentielles ou hydrolat, jusqu'à imprégnation total du disque. Les disques ainsi traités sont déposés sur la surface de la gélose inoculée et laissés diffusés, puis incubés à 37°C à l'étuve pendant 24 heures (Photo n°: 08 ).



**Photo 08** : Dépôt des disques

### 2.3.2.5. Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des HES (PONCE et al.,2003).

- ❖ Diamètre < 5 mm : absence d'activité.
- ❖ Diamètre entre 5 et 10 mm : activité faible.
- ❖ Diamètre entre 10 et 16 mm : activité moyenne.
- ❖ Diamètre  $\geq$  16 mm : activité très forte.

## 1. Résultats et discussion

### 1.1. Calcul de rendement

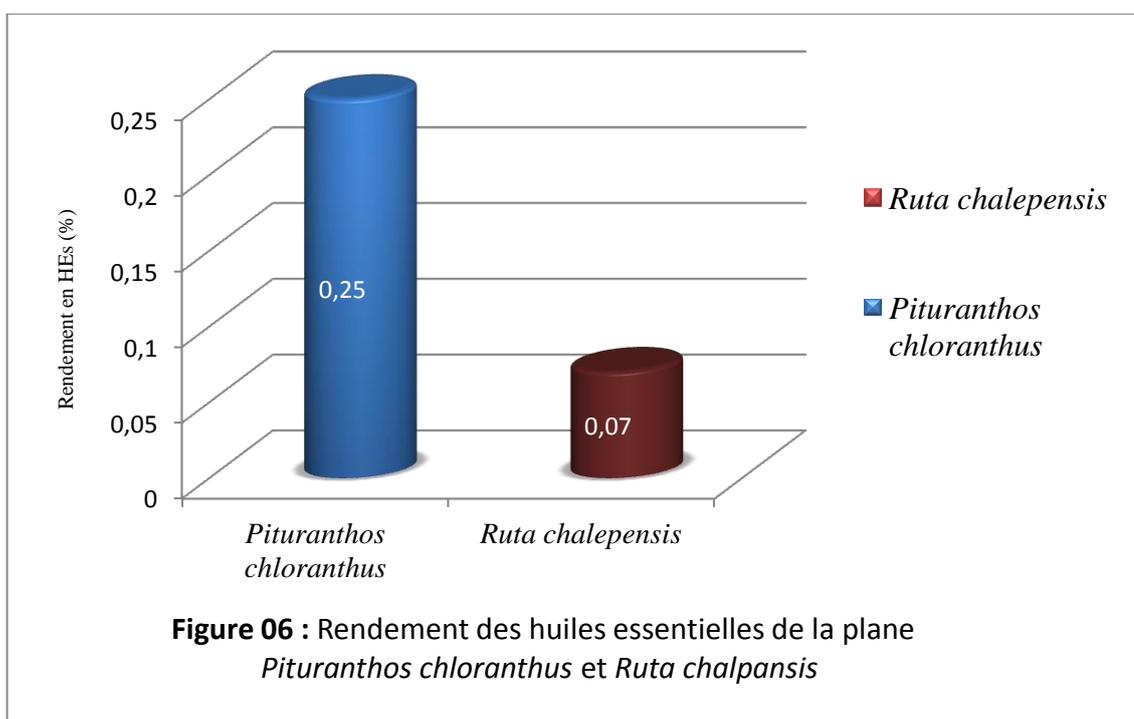
L'huile essentielle est au préalable placée sur une ampoule à décanter, puis est pesée afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse de matériel végétal frais.

$$RE = \frac{\text{la masse d'huiles à obtenu après l'extraction}}{\text{la masse de matière végétal}} \times 100$$

**Tableau 02 :** montre les résultats des différents rendements en HE des différentes espèces végétales utilisées dans cette étude.

Plante	<i>Pituranthos chloranthus</i>	<i>Ruta chalpansis</i>
Rendement des huiles essentielles (%)	0,25	0,07

Nos résultats sont regroupés dans le Figure n°: 06.



Le tableau n°: 02 et la figure n°: 06 présente la rendement des huiles essentielles de la plante *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalpansis*.

Le rendement obtenus à l'aide d'une extraction par hydrodistillation à l'échelle du laboratoire est faible, ce dicline est probablement lié à l'évaporation des HE lors d'un séchage prolongé (BENDIMIR *et al.*, 2005).

Le rendement en huile essentielle varie beaucoup avec la plante utilisée. Le rendement obtenu chez *Pituranthos chloranthus* est de 0,25% (Cette valeurs est identique avec étude de Hameurlaine., 2009). un rendement a été obtenu pour *Ruta chalpansis* qui est de 0,07% (Selon l'étude de ATTOU 2010, cette valeur considéré comme très faible). il est à retenir que la variation du rendement d'extraction pourrait être attribuée à l'origine géographique de la plante, à la technique d'extraction, aux facteur climatique, mais également à la période de cueillette de la matière végétale et la plante étudiée.

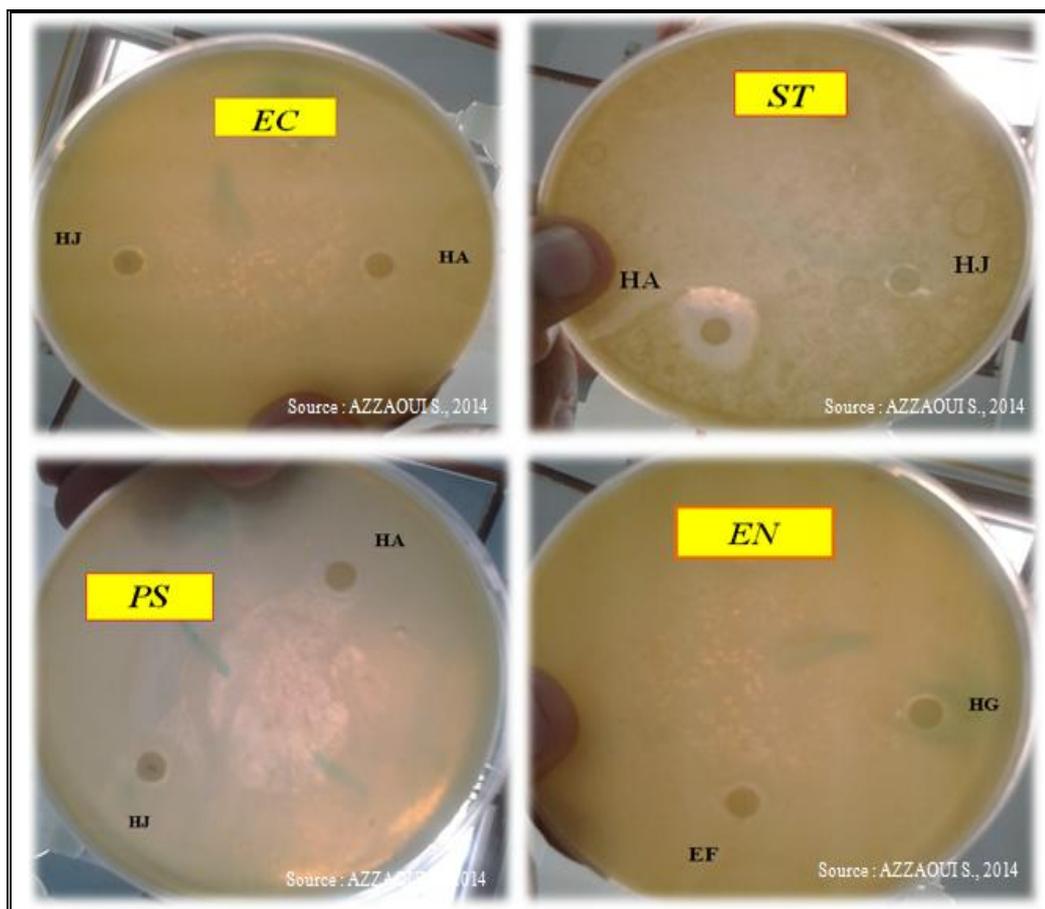
Le rendement des HE est différent d'une famille botanique à une autre, d'une espèce à une autre et même entre les plantes de la même espèce. De plus, cette différence de teneur en HE peut être liée à plusieurs facteurs tels que la zone géographique de collecte, le climat, le stade de développement et la saison (KHANAGA., 2011).

## 1.2. Activité antimicrobienne de l'extrait

### 1.2.1. Huiles essentielles

**HJ** : Huile de « *Pituranthos chloranthus* » ;

**HA** : Huile de « *Ruta chalepensis* » ;



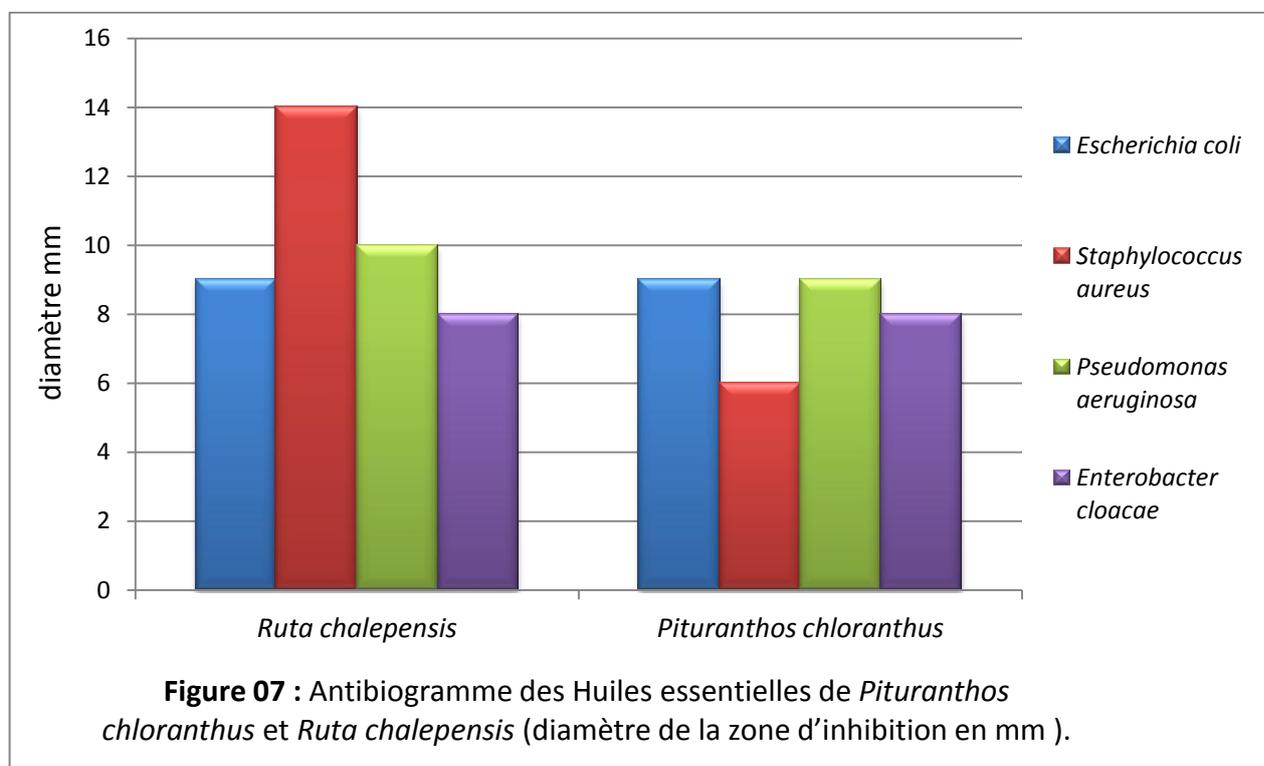
**Photo 9** : Zones d'inhibition des huiles essentielles de *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalepensis*, des souches: *Escherichia coli* (EC), *Pseudomonas aeruginosa* (PS), *Staphylococcus aureus* (ST), et *Enterobacter cloacae* (EN).

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle des *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalepensis* vis-à-vis de quatre souches bactéries. Les zones d'inhibition sont indiquées dans le tableau n°: 03 :

**Tableau 03 :** Résultats de l'antibiogramme des huiles essentielles de *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalepensis* (diamètre de la zone d'inhibition en mm ).

Les souches microbiennes	Diamètre d'inhibition <i>Ruta chalepensis</i>	Diamètre d'inhibition <i>Pituranthos chloranthus</i>
<i>Escherichia coli</i>	9 mm ± 0.6	9 mm ± 0.6
<i>Staphylococcus aureus</i>	14 mm ± 1.0	6 mm ± 0.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 mm ± 0.6	9 mm ± 0.6
<i>Enterobacter cloacae.</i>	8 mm ± 0.6	8 mm ± 0.6

les diamètres d'inhibition sont importants sont considérées dans cette étude. Nos résultats sont regroupés dans le Figure n°: 07.



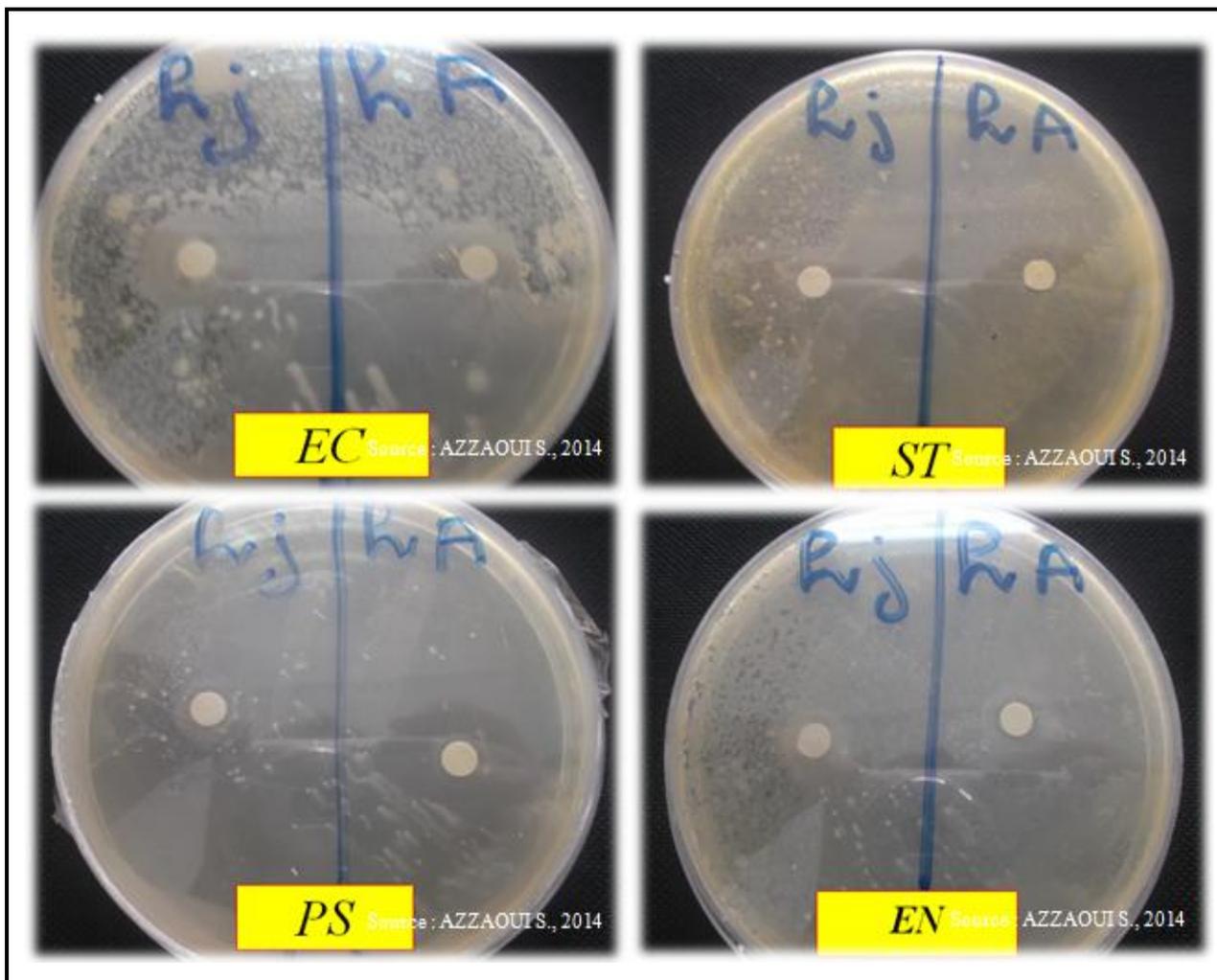
Selon la Tableau n°: 03 et Figure n°: 07

l'extrait de huile essentielle de *Ruta chalepensis* s'est révélé le faible sur *Enterobacter cloacae*. et *Escherichia coli*, et moyenne actif sur *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Par contre avec huile essentielle des *Pituranthos chloranthus*, n'a pas montré une activité antibactérienne intéressante c'est-à-dire faible activité antibactérienne sur 4 souche bactérienne. Cette faible efficacité est due probablement aux pertes des composés volatils de l'huile essentielle durant le stockage et/ou l'extraction.

**1.1.2. Extrait de l'hydrolat.**

**hA** : hydrolat « *Ruta chalepensis* » ;

**hJ** : hydrolat « *Pituranthos chloranthus* » ;

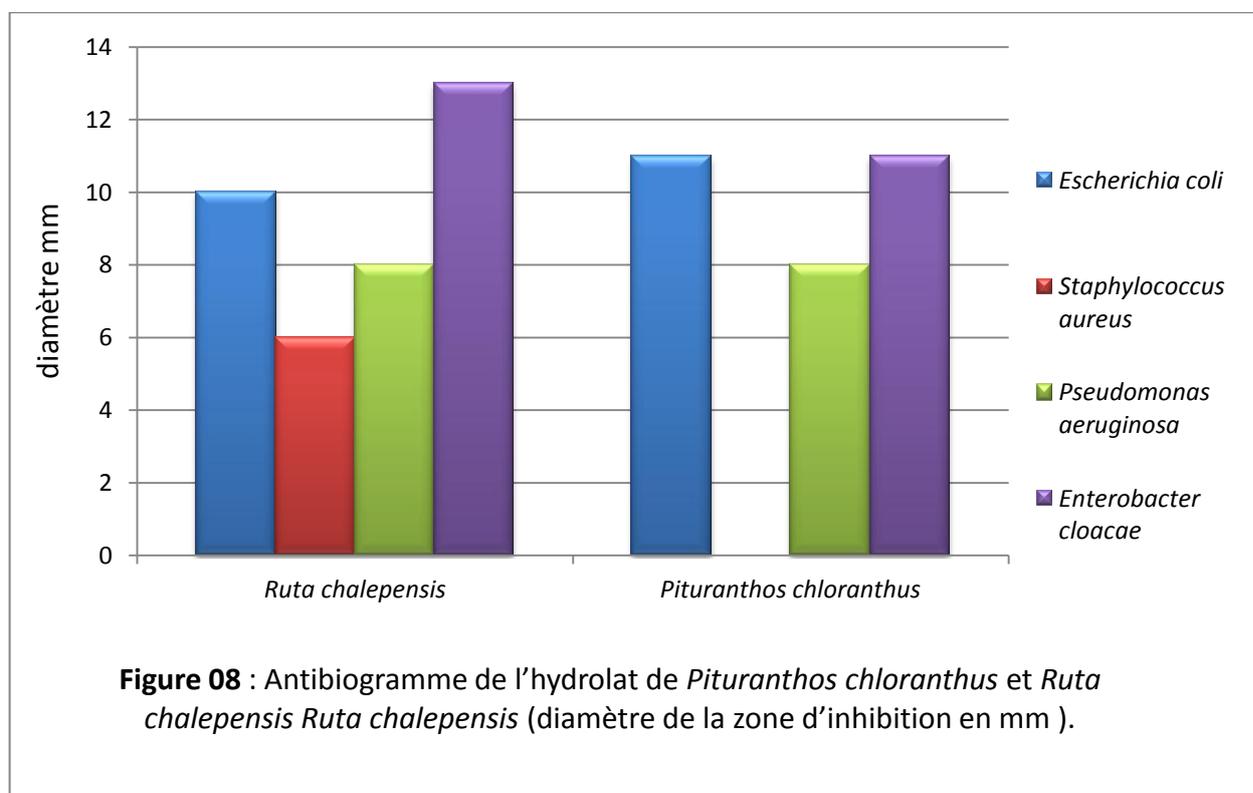


**Photo 10** : Zones d'inhibition des huiles essentielles de *Pituranthos chloranthus* et *ruta chalpansis*, des souches: *Escherichia coli* (EC), *Pseudomonas aeruginosa* (PS), *Staphylococcus aureus* (ST), et *Enterobacter cloacae* (EN).

**Tableau 04** : Résultats de l'antibiogramme de l'hydrolat de *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalepensis* (diamètre de la zone d'inhibition en mm ).

Les souches microbiennes	Diamètre d'inhibition <i>Ruta chalepensis</i>	Diamètre d'inhibition <i>Pituranthos chloranthus</i>
<i>Escherichia coli</i>	10 mm ± 0.6	11 mm ± 0.8
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 mm ± 0.0	0 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 mm ± 0.6	8 mm ± 0.6
<i>Enterobacter cloacae.</i>	13 mm ± 0.8	11 mm ± 0.8

les diamètres d'inhibition sont importants sont considérées dans cette étude. Nos résultats sont regroupés dans le Figure n°: 08.



L'hydrolat de la plante *Ruta chalepensis* donc active sur l'ensemble des souches testées, avec des zones d'inhibition variant entre 6 et 13 mm. Moyenne activité antibactérienne présente sur la souche bactérienne *Enterobacter cloacae*. (13 mm). Et faible activité antibactérienne présente sur les souche bactériennes de l'*Escherichia coli*, et *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* par diamètres d'inhibitions de il ; 10, 6 et 8 mm respectivement. Par contre avec L'hydrolat de la plante *Pituranthos chloranthus* présente un effet antibactérien principalement contre *Escherichia coli*, et *Enterobacter cloacae*. par diamètre 11 mm (moyenne activité antibactérienne), et *Pseudomonas aeruginosa*, par diamètre 8 mm (faible activité antibactérienne).

Alors que cette hydrolat présente aucun effet inhibiteur contre les *Staphylococcus aureus*.

L'huile de *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalepensis* présente un effet positif sur les quatre souches bactériennes étudiées avec des zones d'inhibition varient de 6 à 14 mm. Par contre avec l'hydrolat de *Pituranthos chloranthus* présente un effet antibactérien principalement contre *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* et *Pseudomonas aeruginosa* sauf contre les *Staphylococcus aureus*. Et extrait de l'hydrolat de *Ruta chalepensis* présent un effet positif sur les quatre souches bactériennes étudiées avec des zones d'inhibition varient de 6 à 13 mm.

Au cours de ce travail, il est étudié l'activité biologique de *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalpansis*, Ces plantes sont largement utilisées en médecine traditionnelle. Nous avons tenté de contribuer à une étude de son activité antimicrobienne.

L'extraction des huiles essentielles par l'hydrodistillation a montré une rentabilité en huile essentielle chez *Pituranthos chloranthus* (0,25 %), la valeur du rendement en huile essentielle de *Ruta chalpansis* (0,07 %).

Pour l'activité antibactérienne, la méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle et l'hydrolat de la plante *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalpansis* vis-à-vis de quatre bactéries. Ce pouvoir est relativement actif, avec des zones d'inhibition variant entre 6 et 14mm. Sauf avec l'hydrolat de la plante *Pituranthos chloranthus* chez la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* aucune zone d'inhibition est marquée. Donc l'absence de zone d'inhibition est due préalablement à la résistance de ces souches ou à la dégradation des hydrolats à l'effet de température ou à nos conditions expérimentales tels que la faible concentration utilisée, la faible rendement résulte de notre extraction et le nombre limité des souches testées...

Afin mieux étudier l'activité biologique des huiles essentielles de ces plantes :

- Il serait intéressant de réaliser d'autres techniques d'extraction comme l'entraînement à la vapeur d'eau ou extraction assistée par micro-ondes ou par Soxhlet...
- Il serait intéressant de l'augmenter le nombre des souches testées et la concentration des HEs impliquées sur les disques d'inhibitions.
- Il serait intéressant de purifier et de déterminer le principe actif de *Pituranthos chloranthus* et *Ruta chalpansis* et faire d'autres conditions de l'étude de l'effet antimicrobien et plutôt d'autres tests biologiques non relative à l'effet antimicrobien tel que l'activité antioxydant ... etc.

---

---

**REFEREBCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. **ABDULBASSET M et ABDE TAWAB A., 2008** : Medicinal Herbal Guide, Ed: LFA – PUBLISHING, pp 428 – 429.
2. **ADOSSIDES Anthoula., 2003** : “Plantes Aromatiques et Médicinales” pp 06 – 07.
3. **AFNOR., 1986** : Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57 p.
4. **AFNOR Normes., 1992** : Recueil des normes françaises. Huiles essentielles. AFNOR, Paris.
5. **AL kADI A., 1989** : Usage de quelques plantes dans la médecine populaire en libie, Voll-2.
6. **AMALIA I Kartika., 2005** : Nouveau procédé de fractionnement des graines de tournesol : expression et extraction en extrudeur bi vis, purification par ultrafiltration de l’huile de tournesol. Thèse doctorat de l’institut national polytechnique de Toulouse, France.
7. **ATTOU Amina., 2011** : Mémoire vue l’obtention du diplôme de magister en biologie, Option : « Produits naturels : Activités biologiques et synthèses», Contribution à l’étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante Ruta chalepensis (Fidjel) de la région d’Ain Témouchent, P i.
8. **BABA IASSA., 1999** : Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d’Algérie et du Maghreb ; Ed : LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA ; p : 243 - 244.
9. **BENAYAD Nisrin., 2008** : Projet de recherche : Les huiles essentielles d extraites des plantes médicinale marocaines : Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées 05p.

10. **BEKHECHI Chahrazed et ABDELOUAHID Djamel., 2010** ; les huiles essentielles 09p.
11. **BELLAKHDAR J.,1997** : Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée marocaine traditionnelle, ibis Press,.
12. **BONNIER G., 1999** : La Grande Flore en Couleur; Ed : BELIN; Tome 3; p:205 - 206.
13. **BOTTIN Lorraine., 2006** : Déterminants de la variation moléculaire et phénotypique d'une espèce forestière en milieu insulaire : cas de Santalum austrocaledonicum en Nouvelle-Calédonie, Montpellier, Thèse.
14. **BOUDJOUREF Mourad., 2011**: Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister, En Biochimie Option: Biochimie appliquée Thème ; Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L P 28.
15. **BRUNETON Jean., 1993** : Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, 2e édition. Technique documentation, Paris. pp 406 - 410.
16. **CHEHMA Abdelmadjid., 2006** : catalogue des plantes spontanées du sahara septentrional algérien p14.p125.
17. **CLAVE Danielle., 2011** : Fiche technique \_ Bactériologie 113, Association déclarée à la Préfecture de la Haute-Garonne le 30 Octobre 1973 et enregistrée sous le n° 8-543 ,EN.FTBAC. 14-10-11.01 Emis le 03 août 2011, Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU Toulouse PP 01 02.
18. **DAMINTOTI K, Mamoudou H D, Jacques S, Saydou Y, Souleymane S, et Alfred S T., 2005** : Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Mémoire de l'université de Burkina Faso.

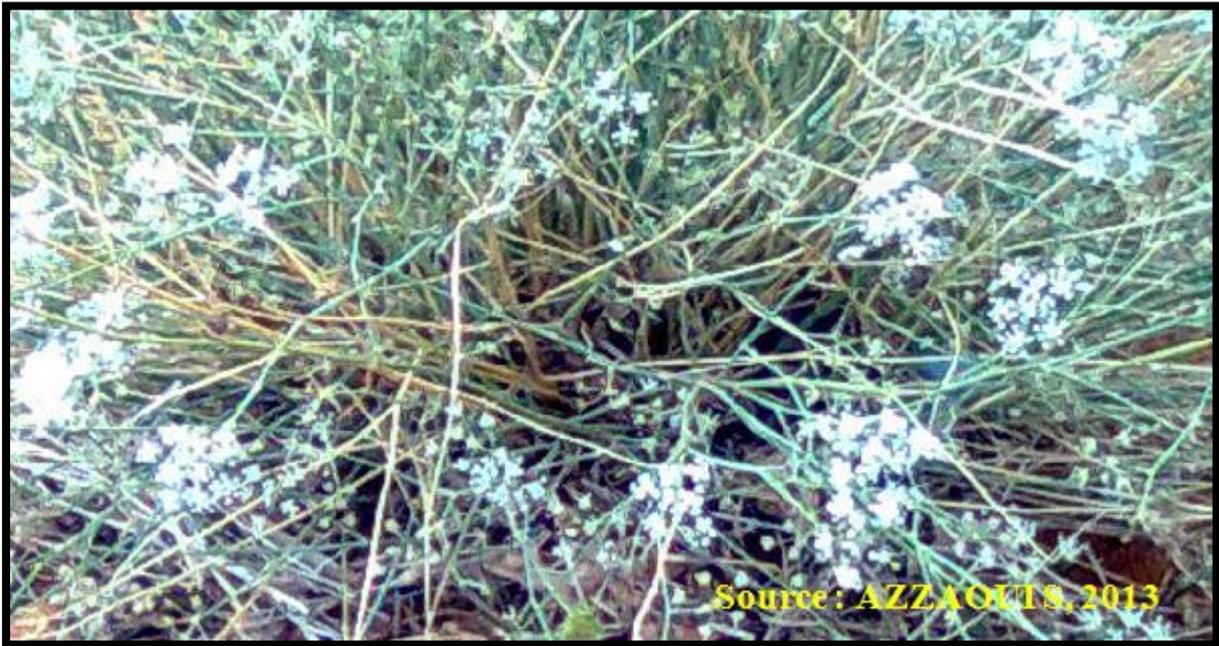
19. **DCEM1., 2003** : Bactériologie, Niveau DCEM1, Université Pierre et Marie Curie, PDF, pp 29-50.
20. **DUKE A.J., DUKE P.A.K. et DUCELLIE J.L., 2008** : DUKE'S HANDBOOK of Medicinal Plants of the Bible, Ed: CRC PRESS.
21. **ENDRIAS Abraham., 2006** : Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l'Hibiscus sabdarif Ja L. et à l'Artemisia annua, p18, p21.
22. **FROUHAT Zoulikha, LAHCINI Basma., 2013** : MEMOIRE MASTER ACADEMIQUE  
Domaine : Science de la Nature et de la vie Filière : Biologie Spécialité : biochimie appliquée,  
THEME « Lutte biologique par l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis. » PP 29.30
23. **GHEDABNIA S et MEZOUAR K., 2008** : Inventaire de quelques espèces spontanées à caractère médicinale hypoglycémiant utilisées dans la région d'Ouargla, mémoire de fin d'étude université d'Ouargla, p89.
24. **HAMEURLAINE Samir., 2009** : Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaïa mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister Spécialité: Chimie Organique, Université de Kasdi Merbah –Ouargla- p1.
25. **ISERIN paul., 2001**: Encyclopédie des plantes médicinales ; identification, préparations, soins., Larousse / VUEF, p335.
26. **KAABECHE M., 1990** : Les Groupements Végétaux de la région de Bousaada, Thesis Université Paris Sud.
27. **LECLERC H, GAILLARD J-L, SIMONET M ., 1995** : Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
28. **LE MOINE E., 2001** : Les Plantes : Aromatiques et Médicinales; Ed : MOLIERE (Paris); p92.

29. **LUCCHESI M., 2005** : Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, Thèse de Université de la Reunion.
30. **LUICITA 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.
31. **MERAD CHIALI R ., 1973** : Contribution à la Connaissance de la Pharmacopée Traditionnelle Algérienne ; Thèse de Doctorat d'état en Pharmacie ; Institut Des Sciences Médicales ; p10 p370.
32. **MEYER-Warnod B., 1984** : Natural essential oils, extraction processes and applications to some major oils, Perfumer et Flavorist. J.
33. **MIOULANE P., 2004** : Encyclopédie Universelle des 15000 plantes et fleurs de jardins ; Larousse ; Ed : PROTEA ; pp7, 50.
34. **MOKKADEM A., 1999** : Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. in Revue Vie et Nature n° 7. pp24, 26.
35. **OZENDA P., 1991** : Flore du Sahara. Deuxième Edition CNRS. Paris, France p 626.
36. **PADRINI F et LUCHERONI M T., 1996** : Le grant livre des huiles essentielles.Ed. de Vecchi.
37. **PIBIRI M C., 2005** : Assainissement microbiologiques de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles ; Thèse de Doctorat de la Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit LAUSANNE, pp 28-42.

38. **PONCE A, FRITZ R., DEL VALLE C et ROURA S.I., 2003** : Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* p 676.
39. **QUEZEL F et SANATA S., 1962** : Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Vol. 1-2 Ed. CNRS, Paris France.
40. **RAUL L et OCHOA H., 2005** : Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse.
41. **RICHARD C et KIREDJIAN M., 1995** : Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brucella*, *Bordetella*. 2<sup>ème</sup> édition. Ed Institut. Pasteur .Paris. PP: 42-43.
42. **ROUILIER G., 1990** : Les huiles essentielles pour votre santé. Editions Dangles, St. Jean-De-Braye, France.
43. **SMADJA Jacqueline., 2009** : Les Huiles Essentielles p06.
44. **TAKHTAJAN A., 2009**: Flowering Plants; Ed 2: SPRINGER; p 33, 41.
45. **WAN P, PAKARINEN D.1995**: Hron. Alternative hydrocarbon solvent for cottonseed extraction. *J. Am.Oil Chem. Soc* 72.
46. **WIART C., 2006** : Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future?; Ed: WORLD SCIENTIFIC, p 401, 416.
47. **WILLEM JP., 2002** : Les huiles essentielles ;médecine d'avenir. Editions du Dauphin,Paris.



Floraison de plante *Ruta chalpansis*



Floraison de plante *pituranthos chloranthus*



Station de la collecte de plante *Ruta chalpansis* « Oued Gazalatte » dans la commune de Mansoura  
la wilaya de Ghardaïa



Station de la collecte de plante *pituranthos chloranthus* la zone dite « des Souarègues » dans la commune de Métlili la wilaya de Ghardaïa