



ÉPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB BLIDA 1
FACULTÉ DE SCIENCES DE LA NATURE

DÉPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES ET AGROÉCOLOGIE

Mémoire

En Vue de l'obtention du diplôme de Master académique en
Science Agronomique.

Spécialité : Phytopharmacie et Protection des Végétaux.

Thème

Evaluation des rendements, analyse physico-chimique et activité
antibactérienne des huiles essentielles extraites des feuilles de Pin d'Alep,
Pinus halepensis, collectées dans deux sites distincts

Laribi Rania

Réalisé Par :

Zouaoui Ghada Yasmine

Date de soutenance : 08/07/2025 devant le jury composé de :

Mme Chaichi .W	MCA	Présidente	Université de blida 1
Mme Allal.L	PR	Examinatrice	Université de blida 1
Mme Ghanai .R	MCB	Promotrice	Université de blida 1

Année universitaire
2024 - 2025

Remerciements

La réalisation de ce mémoire représente l'aboutissement d'une étape importante de notre parcours universitaire. Il est le fruit d'un travail qui n'aurait pu aboutir sans le soutien, l'encadrement et les conseils de plusieurs personnes auxquelles je tiens à exprimer ma gratitude. Louange à Dieu, le Tout-Puissant, qui m'a accordé la santé, la patience et la force nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Madame **Ghania Rafika**, notre promotrice, pour sa confiance, sa disponibilité et ses conseils précieux tout au long de la réalisation de ce mémoire. Son encadrement rigoureux, ses orientations scientifiques et ses encouragements ont été essentiels à l'avancement de ce travail.

Nous remercions sincèrement Madame **Chaichi Wissem**, présidente du jury, d'avoir accepté d'évaluer ce mémoire malgré ses multiples responsabilités, ainsi que pour l'attention qu'elle portera à ce travail.

Nos remerciements s'adressent également à Madame **Allal Lila**, examinatrice, pour avoir accepté de lire et d'évaluer ce mémoire. Ses remarques et critiques constructives seront d'une grande utilité pour notre amélioration scientifique et personnelle.

Nous remercions chaleureusement Mme **Meddad Nesrine** la directrice de **AMAWAZ.LAB** pour son accueil, son appui technique et la mise à disposition de ses équipements.

Nos remerciements vont également à Mme **Achour Imane** et Mme **Merzoug Fatima** pour leurs conseils et leur accompagnement durant les analyses.

Un grand merci à M. **Ranem Mohamed** pour sa disponibilité, sa bienveillance.

Leur professionnalisme a largement contribué à la réussite de ce travail.

Nous exprimons notre gratitude à l'ensemble des enseignants et du personnel du département, pour les connaissances transmises et leur accompagnement tout au long de notre parcours académique.

À toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire, Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et l'expression de notre profond respect.

Dédicace

C'est avec une joie immense et le cœur ému que je dédie ce mémoire
À mon père Kamel,
Toi qui m'as appris la valeur du travail, du silence porteur et de la persévérance. Merci pour
ton soutien indéfectible, même dans l'ombre.
À ma mère Amel,
Ton amour, ta douceur et tes prières m'ont guidée à chaque étape. Tu es la force tranquille
derrière chacun de mes pas.
À mes sœurs Nesrine et Hadjer , et mon frère Abd el djalil ,
pour leurs soutiens et attentions. Ils m'ont permis de réaliser que la famille est sacrée. Ils
étaient pour moi, une vraie source d'inspiration et ont été toujours à mes côtés durant les
moments difficiles.
A ma grand-mère Zhor ,
Pour leur prières et confiance.
A la mémoire de ma grand-mère Houria ,
Que Dieu lui accorde Sa miséricorde et lui ouvre les portes de Son vaste Paradis.
Tu restes dans mon cœur et dans chacune de mes prières.
À mes amies Assia, Anfel et Ghada,
qui m'ont toujours motivé et encouragé. Nos fous rires et les bons moments passés ensemble
vous me manquer. Je n'oublierais jamais ces instants magiques. Ils seront gravés à jamais
dans mon esprit.
À mon café,
pour avoir été mon meilleur allié durant les nuits blanches passées à rédiger ce mémoire.
Et à tous les membres de ma famille, mes cousines et cousins, même ceux que je ne nomme
pas ici, mais qui ont contribué par un mot, un geste ou une pensée à mon cheminement.
Ce mémoire est le reflet d'un bout de mon chemin, mais aussi du vôtre, à mes côtés.

Rania .

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à ma famille de cœur, celle dont j'ai la chance de faire partie.

A mes chers parents,
pour leur amour, leur soutien, leurs sacrifices ainsi que leurs encouragements tout au long de
mes études. Ce travail est le fruit de vos efforts et de vos prières.

Je suis fière d'être votre fille

A toi, mon papa d'amour, Abdelkader

Tu n'es pas qu'un simple papa, tu es mon meilleur ami. Ta présence rassurante et notre
complicité sont l'un des plus beaux trésors de ma vie.

A toi, ma douce maman Ratiba

Tu es un véritable modèle, une épaule solide, une guide discrète, toujours présente. Tu me
pousses chaque jour à avancer, à me dépasser, et à aller toujours plus loin.

Achraf mon grand frère, Badis mon petit frère

Le simple fait de vous avoir à mes côtés c'est est un véritable rayon de bonheur et une source
de force.

Mon cher grand-père Mustapha

Tu es un exemple de sagesse et de dignité. Tes histoires, tes chansons douces et ton beau
sourire réchauffent les cœurs. Ta présence est un véritable pilier, une source de paix et
d'amour. Que allah t'accorde encore de longues et belles années parmi nous.

A la mémoire de mon grand-père mohamed qu'il repose en paix.

À mes chères grand-mères, mama fissa , yema khadra

Vous êtes les racines de la tendresse, vos prières m'ont portée dans les moments les plus durs.

Que allah vous bénisses pour votre amour sans limite.

À mes cousins, cousines, à toutes mes chères tantes, à chahira et nadia, votre soutien moral,
vos encouragements sans faille, on comptés plus que vous ne l'imaginez.

À la mémoire de ma tante nassima, ton départ a laissé un vide, mais aussi une force en nous,

Je sais que tu serais fière de mon parcours, je n'oublier jamais tes beaux conseils.

A celles qui ont donné un sens à l'amitié assia , anfel, rania des sœurs sans liens du sang avec
tant de moments partagés, entre entraide et éclats de rire. Votre solidarité a rendu ce parcours
plus beau et plus léger.

Ghada yasmine.

Résumé

Evaluation des rendements, analyse physico-chimique et activité antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles de Pin d'Alep, *Pinus halepensis* collectées dans deux sites distincts

Les huiles essentielles extraites des aiguilles de *Pinus halepensis* (pin d'Alep) suscitent un intérêt croissant en phytopharmacie en raison de leurs propriétés biologiques et de leur potentiel dans la protection des cultures. Dans cette étude, les huiles essentielles extraites par hydrodistillation à partir des rameaux feuillus de Pin d'alep provenant de deux régions différentes d'Algérie, Blida et Boumerdès, ont été analysés afin de comparer le rendement, les caractéristiques physico-chimiques et leur activité antibactérienne. Les résultats révèlent des rendements, d'huiles essentielles, variables selon les sites, influencés par les conditions écologiques locales, avec une valeur de 0,13 % pour les échantillons de Blida et de 0,08 % pour la plante collectée à Boumerdès. L'analyse physico-chimique a révélé un pH légèrement acide, une densité conforme aux standards des huiles de conifères, une bonne stabilité avec un faible taux d'humidité, ainsi qu'une bonne miscibilité dans l'éthanol, garantissant la qualité des huiles extraites. Concernant l'activité anti-bactérienne, l'huile essentielle extraite des échantillons de blida a montré une efficacité contre *Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition de 1.9 mm et *klebsiella sp* dont le diamètre est de 1.7 mm, cependant aucune activité vis-à-vis *Proteus sp* n'a été observée (diamètre = 0.8 mm). De même l'huile essentielle extraite des échantillons de Boumerdes se caractérise aussi par une efficacité contre *E.coli* de (1.7 mm) et *klebsiella sp* (1.4mm) sans aucune inhibition contre *Proteus sp*. Ces résultats confirment le potentiel des huiles essentielles de *Pinus halepensis* comme alternative naturelle aux produits de synthèse, contribuant ainsi à leur valorisation dans les domaines pharmaceutique et agricole.

Mots clés

Huiles essentielles, *Pinus halepensis*, rendement, analyse physico-chimiques, activité antibactérienne, hydrodistillation,.

Summary

Evaluation of Yields, Physico-Chemical Analysis, and Antibacterial Activity of Essential Oils Extracted from the Leaves of Aleppo Pine (*Pinus halepensis*) Collected from Two Distinct Sites

Essential oils, *Pinus halepensis*, phytopharmacy, yield, physico-chemical analysis, antibacterial activity, hydrodistillation, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*

Essential oils extracted from the needles of *Pinus halepensis* (Aleppo pine) are gaining increasing interest in phytopharmacy due to their biological properties and potential in crop protection. In this study, essential oils obtained by hydrodistillation from leafy twigs of *Pinus halepensis* collected from two different regions in Algeria—Blida and Boumerdès—were analyzed to compare yield, physico-chemical characteristics, and antibacterial activity.

The results showed varying essential oil yields depending on the sites, influenced by local ecological conditions, with a yield of 0.13% for samples from Blida and 0.08% for those from Boumerdès. Physico-chemical analysis revealed a slightly acidic pH, a density consistent with conifer oil standards, good stability with low moisture content, and good miscibility in ethanol, ensuring the quality of the extracted oils.

Regarding antibacterial activity, the Blida sample showed effectiveness against *Escherichia coli* (1.9 mm) and *Klebsiella sp.* (1.7 mm), but not against *Proteus sp.* (0.8 mm). For the Boumerdès samples, effectiveness was also observed against *E. coli* (1.7 mm) and *Klebsiella sp.* (1.4 mm), but not against *Proteus sp.* These results confirm the potential of *Pinus halepensis* essential oils as a natural alternative to synthetic products, thereby supporting their valorization in the pharmaceutical and agricultural fields.

Keywords:

Essential oils, *Pinus halepensis*, , yield, physicochemical analysis, antibacterial activity, hydrodistillation,.

الصنوبر أوراق من المستخرجة الأساسية للبكتيريا للزيوت المضاد والنشاط الكيميائي-الفيزيائي التحليل المردودية، تقييم البليلة وبومرداس، وتم تحليلها بهدف مقارنة المردودية، الحلبي الفيزيائية: مختلفين بالجزائر موقعين من المجموعة الحلبي الكيميائية، والنشاط المضاد للبكتيريا

تثير الزيوت الأساسية المستخلصة من إبر صنوبر حلبي *Pinus halepensis* اهتمامًا متزايدًا في مجال الطب النباتي (الفايتوفارماكولوجيا) نظرًا لخصائصها البيولوجية وإمكاناتها في حماية المحاصيل. في هذه الدراسة، تم استخراج الزيوت الأساسية بواسطة التقطير البخار من الأغصان الورقية لصنوبر حلبي مأخوذة من منطقتين مختلفتين في الجزائر، البليلة وبومرداس، بهدف مقارنة المردودية والخصائص الفيزيائية والكيميائية والنشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية. أظهرت النتائج وجود تباين في المردودية حسب الموقع، ويتأثر ذلك بالظروف البيئية المحلية، حيث بلغ معدل الاستخلاص 0.13% لعينات البليلة و0.08% لنبات بومرداس. أما التحليل الفيزيائي-الكيميائي فقد أظهر درجة حموضة منخفضة قليلاً، وكثافة مطابقة للمعايير المعروفة لزيوت الصنوبريات، واستقراراً جيداً مع نسبة رطوبة منخفضة، وقابلية جيدة للامتزاج مع الإيثانول، مما يضمن جودة الزيوت المستخرجة.

فيما يخص النشاط المضاد للبكتيريا، فقد أظهرت عينة البليلة فعالية ضد *Escherichia coli* القلونية بقطر 1.9 ملم وضد *Klebsiella sp* بقطر 1.7 ملم. بينما لم تُسجل أي فعالية ضد *Proteus sp* بقطر 0.8 ملم أما عينات بومرداس، فقد أظهرت كذلك فعالية ضد *Escherichia coli* القلونية بقطر 1.7 ملم وضد *Klebsiella* بقطر 1.4 ملم، بينما لم يسجل أي فعالية ضد *Proteus sp*. تؤكد هذه النتائج الإمكانات الواعدة لزيت *Pinus halepensis* كبديل طبيعي للمنتجات الكيميائية الصناعية، مما يدعم استخدامها في المجالين الصيدلاني والزراعي

الكلمات المفتاحية:

، المردودية، التحليل الفيزيائي-الكيميائي، النشاط المضاد للبكتيريا، التقطير *Pinus halepensis* الزيوت الأساسية، البخار،

Liste des figures

figures	Titre	Page
Figure 01	Arbre du <i>Pinus halepensis</i>	16
Figure02	les aiguilles de pin d'alep	16
Figure03	les cônes de pin d'alep	16
Figure04	Carte de répartition géographique naturelle du <i>Pinus halepensis</i> (Pin d'Alep) dans le bassin méditerranéen Échelle : 1:25 000 000 (approx.	17
Figure05	Station du centre de conservation de la forêt de Blida ,pépinière Beni Ali	25
Figure06	foret sghirate ,Boumerdes	26
Figure07	Localisation de foret sghirate ,Boumerdes	26
Figure08	alambic de L'hydrodistillation	29
Figure09	Séparation de HE de son hydrolat	29
Figure10	les souche bactériennes (<i>E.coli</i> , <i>klebsiella sp</i> , <i>Proteus sp</i>)	32
Figure11	les 3 solution des 3 souche bactériennes	33

Liste des tableaux

Tableaux	Pages
Tableau 01 : Méthodes d'extraction des huiles essentielles	9
Tableau 02 : classification botanique de <i>Pinus halepensis</i>	15
Tableau 03 : Caractéristiques des 3 souches bactériennes .	27
Tableau04 : les propriétés organoleptiques de He <i>Pinus halepensis</i>	35
Tableau 5 : les résultats des analyse physicochimiques	38
Tableau 6 : les Diamètres d'inhibition des huiles essentielles sur les souches bactériennes étudiées	41

Liste des abréviations

HE	Huile essentielle
<i>P. halepensis</i>	<i>Pinus halepensis</i>
ISO	International Organisation of Standardisation
AFNOR	Association Française de normalisation

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 1

partie bibliographique

Chapitre 1 : Les huiles essentielles

I.	Les huiles essentielles	6
II.	Composition des huiles essentielles	6
III.	Facteurs de variabilité des huiles essentielles	8
1.	<i>Facteurs internes</i>	8
2.	<i>Facteurs externes</i>	8
IV.	Méthode d'extraction	8
V.	Domaines d'utilisation des huiles essentielles	9
VI.	Activités biologiques des huiles essentielles	10
VII.	Analyses physico-chimiques des huiles essentielles	12

Chapitre 2 : Le pin d'Alep (*Pinus halepensis*)

I.	famille <i>Pinaceae</i> (<i>Pinacées</i>)	15
I.	<i>Pin d'Alep</i> (<i>Pinus halepensis</i>)	15
II.	Classification botanique de <i>Pinus halepensis</i>	15
III.	Caractéristiques morphologiques du pin d'Alep	16
IV.	Répartition	17
V.	Conditions climatiques	17
VIII.	Huile essentielle de <i>Pinus halepensis</i>	18
1.	<i>Composition chimique de l'HE de Pinus halepensis Mill.</i>	19
2.	<i>Usage et rôle de HE du pin d'Alep</i>	20

partie expérimentale

chapitre 01: Matériels et méthodes

I.	Matériel	24
II.	Méthode.....	26
1.	<i>extraction des huiles essentielles</i>	28
2.	<i>Le Rendement</i>	29
4.	<i>Analyse physico-chimique</i>	28
5.	<i>Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles</i>	30

chapitre 02 : Résultats et discussion

I.	Rendement	35
II.	Propriétés organoleptiques	35
III.	Indices physico-chimiques	37
IV.	Etudes bactériennes.....	41

Conclusion	44
-------------------------	----

Refferences bibliographiques	45
---	----

Annexes

Introduction

La recherche biomédicale contemporaine accorde une attention croissante aux plantes médicinales, en raison de leur rôle essentiel en phytothérapie et en phytopharmacie, suscite un intérêt croissant dans la recherche biomédicale et pharmaceutique. Cet engouement s'explique par le fait que les plantes médicinales constituent une source riche, variée et inépuisable de molécules naturelles bioactives exploitées par l'homme depuis des siècles, aussi bien dans les pratiques de santé traditionnelle que dans l'industrie pharmaceutique (Chamount et Leger, 1989).

Les huiles essentielles, extraites des parties aromatiques des plantes telles que les feuilles, les fleurs, les écorces se caractérisent par une forte concentration en composés volatils responsables de leurs propriétés biologiques. Riches en monoterpènes, sesquiterpènes, phénols et aldéhydes, elles sont reconnues pour leurs effets antiseptiques, anti-inflammatoires, antioxydants et antifongiques. Utilisées depuis l'Antiquité en médecine traditionnelle, elles sont largement exploitées dans les secteurs de la santé, de la cosmétique, de l'agroalimentaire et de la protection des végétaux. Leur étude revêt une importance particulière dans le contexte actuel de recherche de substances naturelles alternatives aux produits chimiques de synthèse, contribuant ainsi à la valorisation des ressources végétales locales (Khiari, 2018 ; Bouzenna et Krichen, 2013).

Les conifères, espèces aromatiques gymnospermes, occupent une place particulière en raison de la richesse de leurs huiles essentielles et résines en composés bioactifs, notamment les monoterpènes et les sesquiterpènes, qui leur confèrent des propriétés pharmacologiques remarquables. Répandus principalement dans les forêts tempérées et méditerranéennes, ces arbres sont connus pour leurs vertus antiseptiques, expectorantes, cicatrisantes et anti-inflammatoires (Quézel et Médail, 2003). Le Pin d'Alep (*Pinus halepensis*), est une espèce emblématique des paysages méditerranéens, son huile essentielle, extraite principalement des aiguilles par hydrodistillation, présente des activités biologiques notables et fait l'objet d'études pour ses propriétés antibactérienne et antifongiques, ainsi que pour son potentiel dans les domaines cosmétique et pharmaceutique (Nabeti, 2013 ; Khiari, 2018)

Cette espèce y trouve des conditions idéales pour le développement de ses métabolites secondaires, notamment les huiles essentielles, qui présentent un intérêt phytothérapeutique et industriel. En dépit de ce potentiel, peu de travaux ont été spécifiquement consacrés à la valorisation de son huile essentielle (Bouzenna & Krichen, 2013 ; Djamel, S 2017). Par

ailleurs, la variabilité des huiles essentielles, ainsi que le rendement et la composition, changent selon le site (Dob et al., 2005).

Dans ce contexte le présent travail s'est fixé les objectifs suivants :

- Extraction des huiles essentielles issues du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) provenant de deux régions différentes , Blida et Boumerdes
- Comparer le rendement et les propriétés physico-chimiques de ces huiles essentielles
- Évaluer l'activité antibactérienne de ces huiles essentielles vis-à-vis de souches microbiennes de référence

Partie

Bibliographique

Chapitre 1

Les huiles essentielles

I. Généralités

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés organiques volatils synthétisés naturellement par les plantes, en particulier dans le cadre de leur métabolisme secondaire. Contrairement aux métabolites primaires (*glucides, lipides, acides aminés*), ces substances ne participent pas directement aux fonctions vitales de la plante, mais remplissent des rôles écologiques essentiels, tels que la défense contre les agents pathogènes ou les herbivores, ou encore l'attraction des pollinisateurs (Bakkali et al., 2008 ; Isman, 2000).

Selon l'espèce végétale, les huiles essentielles peuvent être présentes dans différentes parties du végétal : les feuilles (ex. : *Eucalyptus globulus*), les fleurs (ex. : *Matricaria recutita*, camomille), l'écorce (ex. : *Cinnamomum verum*, cannelle), le bois (ex. : *Cedrus atlantica*, cèdre), le zeste (ex. : *Citrus limon*, citron), aussi dans les graines, les baies, les fruits, les racines, ou les bulbes.

Dans le secteur agricole, les huiles essentielles suscitent un intérêt croissant en raison de leurs propriétés biopesticides. En effet, plusieurs études ont démontré leur efficacité en tant qu'agents antifongiques, antibactériens, insecticides ou encore herbicides, ce qui les positionne comme des alternatives prometteuses aux produits phytosanitaires de synthèse (Ben Jabeur et al., 2015 ; Pavela et Benelli, 2016). Ainsi, elles s'intègrent parfaitement dans les stratégies de protection des végétaux durables et respectueuses de l'environnement, ce qui leur confère une importance particulière dans le domaine de la phytopharmacie.

II. Composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées d'un mélange complexe de composés organiques volatils, dont les principes actifs sont principalement des monoterpènes et des sesquiterpènes, ainsi que leurs dérivés oxygénés tels que les alcools, cétones, aldéhydes, phénols, et esters (Bakkali et al., 2008). Ces molécules sont responsables des propriétés biologiques des huiles essentielles, notamment leurs effets antimicrobiens, insecticides, antioxydants, et antifongiques. Parmi les composés les plus couramment identifiés, on retrouve le thymol et le carvacrol, qui possèdent une forte activité antibactérienne et antifongique en agissant sur la perméabilité membranaire des micro-organismes (Ultee et al., 2002).

Elles sont principalement constituées de deux grandes familles de composés odorants, issus de différentes voies métaboliques secondaires :

II.1. Les composés phénoliques

bien que souvent présents en plus faible quantité, sont très puissants sur le plan biologique. Ils confèrent aux huiles une forte activité antimicrobienne et antioxydante, même à faibles concentrations (Miguel, 2010). La synergie entre les différents composants d'une huile essentielle joue également un rôle fondamental dans son efficacité globale, car les interactions entre molécules peuvent renforcer ou moduler leurs effets (Bassolé et Juliani, 2012).

II.2. Les composés terpéniques (ou isopréniques)

Ces composés dérivent de la condensation d'unités d'isoprène (C_5) et sont synthétisés par deux voies métaboliques principales :

La voie du mévalonate (MVA) : localisée dans le cytosol

La voie du méthylérythritol phosphate (MEP) : localisée dans les plastides.

On distingue :

Les monoterpènes (C_{10}) : limonène, α -pinène, myrcène, menthol, etc.

Les sesquiterpènes (C_{15}) : β -caryophyllène, bisabolol, farnésène, etc.

Leurs dérivés oxygénés : alcools, cétones, esters, oxydes (e.g., linalol, carvone, 1,8-cinéole, géraniol).

Ces substances sont responsables de nombreuses activités biologiques, notamment antimicrobiennes, anti-inflammatoires, et insectifuges (Bakkali et al., 2008 ; Kamatou et al., 2008 ; Ultee et al., 2002 ; Viuda-Martos et al., 2008).

III. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

La composition des huiles essentielles est affectée par divers facteurs internes, tels que les caractéristiques génétiques de la plante, ainsi que par des facteurs externes, notamment les conditions environnementales et la méthode d'extraction utilisée (Bakkali et al., 2008 ; Burt, 2004).

III.1. Facteurs internes

- **Patrimoine génétique** : La diversité génétique observée chez les plantes est un facteur qui peut induire des variations de composition chimique des huiles essentielles. Différentes variétés ou espèces peuvent donner des profils de composés volatils différents. (Bakkali et al., 2008).

- **L'âge de la plante** : Le degré de maturité de la plante peut influencer également le rendement en huiles essentielles et / ou leur qualité. Par exemple, les jeunes plantes ne produisent pas forcément les mêmes huiles essentielles que celles plus matures (Sefidkon et al., 2007).

III.2.Facteurs externes

- **L'environnement** : Les conditions environnementales telles que le climat, le sol, l'altitude, l'ensoleillement sont essentielles dans la synthèse des huiles essentielles. Des variations environnementales peuvent induire des variations dans la production des métabolites secondaires dont font partie les huiles essentielles (Bouzenna et Krichen, 2013).. .

IV. Méthode d'extraction

Le mode d'extraction des huiles peut également induire différentes performances et compositions chimiques des huiles. Les différentes méthodes peuvent extraire des constituants spécifiques en plus , ou au contraire moins , selon les techniques utilisées ce qui peut avoir un impact sur le profil aromatique et les propriétés (Silva et al., 2020).

IV.1. hydrodistillation

Cette méthode repose sur le principe de l'entraînement à la vapeur d'eau des composés volatils présents dans le matériel végétal. Les plantes sont introduites dans la cuve de l'alambic contenant de l'eau, puis l'ensemble est chauffé au feu direct. Sous l'effet de la chaleur, la vapeur d'eau entraîne les huiles essentielles à travers un serpentin de condensation, où elles se liquéfient. Le distillat obtenu est recueilli dans un récipient de décantation, permettant la séparation de l'huile essentielle de l'eau florale (hydrolat), en raison de leur différence de densité. Cette méthode , largement utilisée en milieu rural ou semi-industriel, est bien adaptée à l'extraction des métabolites secondaires des plantes locales (Chemat et al., 2010 ; Guenther, 1972).

IV.2- Autres méthodes d'extraction

D'autres méthodes d'extractions sont montrés dans le Tableau suivant

Tableau 1 : Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Methode	Principe	Avantages	Inconvenient	References
---------	----------	-----------	--------------	------------

Enfleurage	Fixation des composés sur des graisses	Préserve les composés fragiles, adaptée aux fleurs délicates	Procédé long, peu utilisé aujourd'hui, coûteux	Guenther (1972) ; Bible des huiles essentielles (2002)
Expression à froid	Pressage mécanique sans chauffage (surtout pour les agrumes)	Pas de dégradation thermique, méthode naturelle	Réservée aux zestes d'agrumes, rendement limité	Guenther (1972) ; Bible des huiles essentielles (2002)
Extraction par solvant	Utilisation de solvants organiques pour extraire une concrète	Très bon rendement, utilisée en parfumerie	Risque de résidus de solvants, moins naturelle	Guenther (1972) ; Bible des huiles essentielles (2002)
Distillation à la vapeur	Vapeur d'eau traverse la plante sans contact avec l'eau	Meilleur contrôle thermique, bonne qualité d'huile	Matériel plus complexe et coûteux	Chemat et al. (2010) ; Guenther (1972)

V. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

L'huile essentielle est utilisée dans divers domaines

V.1. Phytopharmacie et protection des cultures

Les huiles essentielles sont de plus en plus étudiées pour leur usage dans la lutte biologique contre les bioagresseurs (insectes, champignons, bactéries). Elles peuvent être utilisées :

- comme biopesticides ou biofongicides (ex. contre *Botrytis*, *Fusarium*, *Alternaria*)
- comme répulsifs ou attractifs pour les insectes (ex. contre pucerons, mouches...)

- en traitement post-récolte pour prolonger la conservation

Exemple : L'huile essentielle extraite du *Pinus halepensis* (Pin d'Alep), a montré des activités intéressantes contre certains champignons phytopathogènes et insectes ravageurs (Chaoui et Chegroune, 2019 ; Khiari, 2018).

V.2. Médecine traditionnelle et aromathérapie

Utilisées depuis l'Antiquité, les HE sont intégrées dans les pratiques de soins naturels :

- traitement des infections cutanées ou respiratoires
- propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques ou calmantes
- diffusion pour le bien-être mental (stress, insomnie)

Exemple : L'huile essentielle de lavande est reconnue pour ses effets anxiolytiques et sédatifs (Lis-Balchin, 2002).

V.3. Industrie cosmétique et parfumerie

Les HE sont des composants essentiels dans

- la formulation de parfums (ex. HE de néroli, jasmin, cèdre...)
- les crèmes, savons, shampoings, lotions, pour leurs arômes naturels et effets dermocosmétiques (antibactériens, apaisants). (Bakkali et al., 2008 ; El Asbahani et al., 2015 ; Dawidowicz et al., 2018).

V.4. Industrie agroalimentaire

Certaines huiles essentielles sont utilisées comme

- arômes alimentaires naturels (citron, cannelle, menthe...)
- agents de conservation naturels, grâce à leurs propriétés antimicrobiennes

Exemple : HE d'origan ou de girofle ajoutées à des huiles végétales augmentent la durée de conservation des produits carnés. (Burt, 2004 ; Hyldgaard et al., 2012 ; da Silva Bomfim et al., 2020).

VI. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits naturels qui possèdent un large éventail d'activités biologiques bénéfiques, notamment des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires,

relaxantes et renforçant le système immunitaire. (Tsai et al., 2011 ; Aazza et al., 2014 ; Lorenzo-Leal et al., 2019 ; Spisni et al., 2020 ; Ben Miri, 2025)..

VI.1. Activité antibactérienne

L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles dépend de deux paramètres principaux: l'huile et sa composition chimique d'une part et les micro-organismes d'autre part (Chaoui et Chegroune, 2019).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles leur est principalement associée à leur composition chimique, en particulier ses principaux composés volatils. Selon la complexité de sa composition chimique, tout indique que ce mode d'action est assez complexe et difficile à comprendre d'un point de vue moléculaire. Il est très probable que les composants des huiles essentielles ont leur propre mécanisme d'action (Bazzine et Benzaid, 2019).

Les huiles essentielles riches en composés phénoliques tels que l'eugénol, le thymol et le carvacrol sont de puissants effets antibactériens. (Khiari 2018).

VI.2. Activité antifongique

L'activité antifongique des huiles essentielles a été démontrée par de nombreux auteurs contre les moisissures allergènes, *dermaphytes*, champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus*. Au total, les champignons sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries. (Duarte ;2005).

VI.3. Activité antivirale

Les virus sont généralement très sensibles aux molécules d'HE telles que les *monoterpénols* et les *monoterpènes*. De nombreuses maladies virales graves traitées avec les huiles essentielles ont montré des améliorations significatives. L'activité antivirale de l'HE de *Mentha piperita* a été testée "in vitro" contre les virus de l'herpès simplex (HSV-1 et HSV-2), une inhibition de 50% est obtenue à des concentrations allant de 0,002% à 0,008%. (Khiari;2018).

VI.4. Activité antioxydante

Les huiles essentielles exercent leur activité antioxydante selon deux mécanismes complémentaires. D'une part, l'action primaire repose sur des composés capables d'interrompre la chaîne d'auto-oxydation des lipides en neutralisant directement les radicaux libres. D'autre part, l'action secondaire, ou préventive, repose sur des mécanismes indirects tels que la complexation des métaux de transition, la neutralisation des formes actives de l'oxygène, ainsi que la réduction de la concentration en oxygène dissous, retardant ainsi le déclenchement

de l'oxydation. Ces deux modes d'action expliquent la capacité des huiles essentielles à protéger efficacement les molécules lipidiques de la dégradation oxydative (Khiari, 2018).

VII. Analyses physico-chimiques des huiles essentielles

Les analyses physico-chimiques des huiles essentielles représentent une étape cruciale dans l'évaluation de leur qualité, de leur stabilité et de leur conformité aux normes. Ces analyses permettent de caractériser les propriétés fondamentales des huiles, indépendamment de leur origine botanique ou géographique. Parmi les paramètres les plus couramment étudiés figurent la densité relative, qui renseigne sur la richesse en composés volatils ; l'indice de réfraction, indicateur de la pureté du mélange ; le pH de l'hydrolat associé, souvent utilisé comme critère indirect de stabilité ; ainsi que la teneur en eau, qui influence la conservation et la sensibilité à l'oxydation. Un autre paramètre important est la solubilité dans l'éthanol à 70° ou 90°, utilisée pour évaluer la miscibilité de l'huile essentielle avec des solvants polaires, ce qui peut orienter son utilisation en formulation. Ces mesures permettent de garantir la qualité physico-chimique des huiles essentielles, critère indispensable dans leurs diverses applications, notamment en phytothérapie, aromathérapie, cosmétique et industrie agroalimentaire (AFNOR, 2000).

Chapitre 2

Le pin d'Alep

(Pinus halepensis)

I. La famille *Pinaceae* (*Pinacées*)

La famille des *Pinaceae* (ou *Pinacées* en français) est une grande famille de conifères résineux, appartenant à l'ordre des *Pinales*. Elle regroupe des arbres et arbustes majoritairement à feuillage persistant et à aiguilles, bien adaptés aux climats tempérés et froids. Présente principalement dans l'hémisphère Nord (Amérique du Nord, Europe, Asie), en montagne ou en climat tempéré à froid Cronquist, A. (1981). C'est l'une des familles d'arbres les plus importantes sur le plan écologique et économique (bois, papier, résine, ornement, etc.). Les Genres principaux sont *Pinus* (*pins*) , *Abies* (*sapins*) , *Picea* (*épicéas*) , *Larix* (*mélèzes*) , *Cedrus* (*cèdres*) , *Tsuga* (*pruche*)

II. Le Pin d'Alep (*Pinus halepensis*)

Le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) est une espèce de conifère emblématique des régions méditerranéennes. Il se distingue par sa grande capacité d'adaptation aux conditions climatiques arides, à la pauvreté des sols et aux incendies fréquents dans son habitat naturel. Cette spécialité forestière joue un rôle écologique majeur en stabilisant les sols, en favorisant la biodiversité et en luttant contre la désertification. Utilisé depuis l'Antiquité pour son bois, sa résine et même son écorce, le pin d'Alep est également apprécié pour ses qualités ornementales et son intérêt en reboisement. Sa résilience et ses nombreuses utilisations en font une essence de choix dans les programmes de gestion durable des forêts méditerranéennes. (Farjon, 2010)

II.1. Classification botanique de *Pinus halepensis*

Le pin d'Alep est une espèce gymnosperme , sa classification est montrée dans le tableau 2 (Richardson, 1998).

II.2. Caractéristiques morphologiques du pin d'Alep

Cette espèce est reconnaissable par ses caractéristiques particulières comme sa hauteur qui varie entre 10 et 25 mètres (figure 1) avec des feuilles en aiguilles fines souples de 6 à 10 cm, verte, regroupées par deux, des écorces grisâtres (figure 2) et fissurées ainsi que ses cônes petits, ovoïdes, contenant des graines (pignons) ses dernières sont prêtes à germer à partir de juin (figure 3). Ils vont alors suivre deux voies : soit s'ouvrir au cours de l'été avec la sécheresse, soit rester fermés durant des années pour conserver des graines à l'abri des feux. Son bois léger, est utilisé parfois pour le chauffage ou la menuiserie grossière. Son odeur est caractéristique et très reconnaissable, elle dégage une sensation fraîche de forêt, avec des nuances de bois sec et de

végétation. On y détecte parfois un aspect légèrement médicinal ou camphré, rappelant l'eucalyptus ou certaines huiles essentielles. (Farjon, 1984).

Tableaux 2 classification botanique de *Pinus halepensis*

Règne	Plantae (plantes)
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i> (plantes vasculaires)
Division	<i>Pinophyta</i> (Conifères)
Classe	<i>Pinopsida</i>
Ordre	<i>Pinales</i>
Famille	<i>Pinaceae</i> (Pinacées)
Genre	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Pinus halepensis</i>

(Richardson, 1998)



(1)

(2)

(3)

Figure 1 : Arbre du *Pinus halepensis* Source : Pépinières Naudet. (2012, 10 août).

Figure 2 : les aiguilles de pin d'Alep Source : Nature Jardin

Figure 3 : les cônes de pin d'Alep Source : PictureThisAI. (s.d.).

II.3. Répartition

Concernant sa répartition dans le monde, cet arbre est très répandu dans le sud de la France, en Espagne, en Italie et autour du bassin méditerranéen (Quézel et Médail, 2003).

En Algérie, le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) est l'une des essences forestières les plus répandues, notamment dans les zones semi-arides et subhumides. Il occupe une place centrale dans la reforestation, la stabilisation des sols et la protection contre l'érosion. On peut le trouver au nord de l'Algérie, notamment dans les wilayas de Tizi Ouzou, Béjaïa, Bouira, Blida, Médéa, Boumerdes, Sétif, Bordj Bou Arréridj... (Benabadji et al., 2001 ; Ghalem et al., 2012). (figure 4)



Figure 4 : Carte de répartition géographique naturelle du *Pinus halepensis* (Pin d'Alep) dans le bassin méditerranéen Échelle : 1:25 000 000 (approx.) (Euforgen, 2016)

II.4. Conditions climatiques

Cette espèce vit dans un Climat Méditerranéen caractérisé par des étés chauds et secs et des hivers doux et humides. Elle supporte des températures élevées en été (jusqu'à 40 °C) et peut tolérer des hivers modérément froids (jusqu'à -6 à -10 °C environ). Elle préfère des zones dont les précipitations varient de 400 à 800 mm de pluie par an, souvent concentrées en automne et hiver. Le pin d'Alep est très tolérant à la sécheresse, ce qui en fait un arbre typique des zones arides ou semi-arides (Barbero et al., 1998). Demande un ensoleillement important, ne pousse pas bien à l'ombre (Quézel et Médail, 2003). Pousse généralement jusqu'à 800 m d'altitude, mais peut parfois monter plus haut selon les conditions locales.

Grâce à ses conditions climatiques le pin d'Alep est très adapté au climat méditerranéen sec, il tolère bien la sécheresse et les sols pauvres il croît sur des terrains calcaires, schisteux ou marneux, même très pauvres en matière organique (Barbero et al., 1998).

III. Huile essentielle de *Pinus halepensis*

L'huile essentielle de *Pinus halepensis* Mill est obtenue principalement à partir des aiguilles et rameaux. Le pin d'Alep est réputé pour sa résilience face aux conditions climatiques extrêmes, notamment la sécheresse, les sols pauvres et rocaillieux, ce qui en fait une espèce dominante des forêts méditerranéennes (Quézel et Médail, 2003). Cette capacité d'adaptation remarquable peut être due à la composition biochimique de son huile essentielle, riche en monoterpènes tels que l' α -pinène, le β -pinène, le *limonène* ou encore le *camphène* (Boukhatem et al., 2014).

L'extraction de cette huile se fait généralement par hydrodistillation, une méthode permettant de préserver la majorité des composés volatils sans altérer leur structure chimique (Baser & Buchbauer, 2015). L'huile essentielle obtenue se caractérise par une odeur boisée, résineuse et fraîche, évoquant l'atmosphère pure des pinèdes méditerranéennes. Ses propriétés sont à la fois physiologiques et psychotropes : elle stimule, tonifie et assainit, tout en procurant un effet calmant et rééquilibrant sur le système nerveux (Ormeño et al., 2009).

Sur le plan thérapeutique, l'huile essentielle de *Pinus halepensis* est traditionnellement reconnue pour ses effets antiseptiques, expectorants, anti-inflammatoires et décongestionnants (Cavanagh et Wilkinson, 2005). Elle est notamment utilisée en cas de troubles respiratoires (bronchite, rhume, sinusite), souvent en diffusion atmosphérique ou en inhalation. Appliquée localement, diluée dans une huile végétale, elle soulage les douleurs musculaires et articulaires grâce à son action rubéfiante qui favorise la circulation sanguine (Boukhatem et al., 2014).

Cette huile est également appréciée en dermatologie naturelle, en particulier pour les peaux grasses ou à tendance acnéique, en raison de ses propriétés purifiantes et antiseptiques. Elle entre ainsi dans la composition de savons, crèmes et lotions à visée assainissant. Sur le plan émotionnel, son parfum boisé et tonique aide à lutter contre la fatigue mentale, le stress et les tensions nerveuses, apportant ancrage et clarté d'esprit (Lawless, 1995).

Utilisée avec précaution notamment en respectant les doses et en évitant un usage prolongé non encadré l'huile essentielle de pin d'Alep constitue un remède naturel polyvalent. Elle illustre parfaitement les richesses aromatiques offertes par les écosystèmes forestiers méditerranéens, et souligne le lien entre biodiversité végétale et bien-être humain.

III.1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Pinus halepensis*

L'huile essentielle de *Pinus halepensis*, obtenue par distillation des aiguilles, rameaux ou cônes, présente une composition chimique dominée par les monoterpènes, notamment les hydrocarbures et leurs dérivés oxygénés. Les principaux composés identifiés sont l' α -pinène (jusqu'à 50 %), le β -pinène, le *limonène*, le *camphène*, le *myrcène*, et le β -*caryophyllène*, accompagnés de quantités moindres de *bornéol*, *terpinéol*, et 1,8-cinéole (Boukhatem et al., 2014 ; Dhouibi et al., 2022). Cette richesse en terpènes confère à l'huile des propriétés biologiques multiples, notamment antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires et antioxydants.

La proportion relative de ces constituants peut varier selon plusieurs facteurs : la partie de la plante utilisée, la saison de récolte, les conditions climatiques, ou encore la méthode d'extraction (Ormeño et al., 2009 ; Baser et Buchbauer, 2015). Par exemple, une étude menée en Algérie a révélé que l' α -pinène représentait environ 48,3 % de l'huile distillée à partir d'aiguilles, suivi par le limonène (14,2 %) et le β -pinène (9,1 %) (Boukhatem et al., 2014). Ces composés sont non seulement responsables de l'odeur caractéristique de l'huile fraîche, boisée et résineuse mais aussi de son efficacité thérapeutique dans les domaines respiratoire, dermatologique et musculaire.

III.2. Usage et rôle de l'huile essentielle du pin d'Alep

L'huile essentielle de *Pinus halepensis* se distingue par la diversité de ses applications, grâce à sa composition riche en métabolites secondaires bioactifs. Ses usages s'étendent à plusieurs domaines tels que la médecine traditionnelle, l'agriculture, la cosmétique ou encore la valorisation locale.

➤ Domaine médical et thérapeutique

L'huile essentielle de *Pinus halepensis* est traditionnellement utilisée en phytothérapie pour traiter les affections des voies respiratoires, telles que la bronchite, le rhume ou la toux. Grâce à ses propriétés antiseptiques, expectorantes et anti-inflammatoires, elle aide à dégager les voies respiratoires et à calmer les inflammations. Elle est souvent administrée par inhalation ou massage, sous forme diluée, dans des préparations à usage local (Nabeti, 2013 ; Khiari, 2018).

➤ Domaine agricole et protection des végétaux

Dans le secteur agricole, l'huile essentielle du pin d'Alep est reconnue pour son potentiel biopesticide naturel. Elle possède des activités antifongiques et antibactériennes contre des

agents phytopathogènes, comme certains champignons du genre *Fusarium* ou *Aspergillus*. Grâce à ses composés volatils comme l' α -pinène, elle agit aussi comme un répulsif contre certains insectes nuisibles. Cela en fait un candidat prometteur dans les stratégies de lutte biologique intégrée et de protection durable des cultures (Chaoui & Chegroune, 2019 ; Khiari, 2018).

➤ **Domaine cosmétique**

L'huile essentielle de *Pinus halepensis* est également utilisée dans le domaine de la cosmétique naturelle. Grâce à son odeur fraîche, boisée et résineuse, elle entre dans la composition de savons, lotions, parfums et produits de soin de la peau. Ses propriétés toniques, antiseptiques et relaxantes sont recherchées dans les produits de massage ou de bain, souvent associés à des effets revitalisants (Khiari, 2018).

➤ **Domaine de l'aromathérapie**

En aromathérapie, cette huile est utilisée pour ses effets stimulants et équilibrants. Elle est réputée pour renforcer l'immunité, soulager le stress, et favoriser la concentration. En diffusion atmosphérique ou en inhalation sèche, elle procure une sensation de fraîcheur et de purification de l'air ambiant, ce qui est utile dans les contextes de fatigue chronique ou de convalescence (Khiari, 2018).

➤ **Domaine agroalimentaire et conservation**

Bien que moins développée, l'huile essentielle de pin d'Alep présente un potentiel intéressant dans l'agroalimentaire, en tant qu'agent de conservation naturel. Ses propriétés antioxydants et antimicrobiennes peuvent contribuer à la prolongation de la durée de vie de certains produits alimentaires, notamment dans les emballages actifs ou les revêtements protecteurs. Des recherches sont en cours sur cette application (Nabeti, 2013).

➤ **Valorisation locale et forestière**

Enfin, l'exploitation des huiles essentielles issues des aiguilles, écorces ou cônes du pin d'Alep représente un axe de valorisation des ressources forestières locales en Algérie. Ce type d'activité s'inscrit dans une logique de développement durable, de diversification économique en zones rurales, et de préservation des forêts à travers des usages non destructeurs et à haute valeur ajoutée (Nabeti, 2013).

Partie Expérimentale

Chapitre 1

Matériels et méthodes

Cette étude consiste à évaluer, d'une part, les propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle extraite des aiguilles de *Pinus halepensis*, et d'étudier son activité antibactérienne d'autre part. L'expérimentation menée dans cette présente étude s'est déroulée sur une période de trois mois à cinq mois. Elle comprend deux étapes principales : la première concerne la récolte du matériel végétal, suivie par l'extraction de l'huile essentielle et l'analyse de ses propriétés physico-chimiques et organoleptiques. La deuxième étape a consisté à évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle contre des souches bactériennes sélectionnées.

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée au sein de l'unité Bio EXTRAPAMAL a Oued Alleug avec l'aide de Mr. cheikhi. Les analyses physico-chimiques et l'activité antibactérienne ont été évaluée au niveau du laboratoire AMAWAZ : LAB, laboratoire d'essai et d'analyse de qualité situé à Benimared, avec l'aide des chimistes, Mme Achour Imane et Merzoug Fatima pour les analyses physico-chimique des huiles essentielles et Ms Ranem Mohamed pour l'étude de l'activité bactérienne.

I. Matériel

I.1-Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des aiguilles de *Pinus halepensis* récoltées au niveau de deux régions différentes, Blida et Boumerdes.

➤ Présentation des localités de récolte

Localité de Blida

La région de Blida, située au nord de l'Algérie, à une trentaine de kilomètres au sud d'Alger, est réputée pour sa diversité écologique et sa richesse floristique. Elle se trouve au pied de l'Atlas tellien, notamment dans la Mitidja, une plaine fertile bordée par les reliefs du massif de Chréa. Le climat y est de type méditerranéen à influence montagnaise, caractérisé par des précipitations abondantes en hiver et des étés modérément chauds, ce qui favorise une couverture végétale dense. Ce contexte climatique, combiné à des sols bien structurés et riches en matière organique, permet une croissance vigoureuse des espèces forestières, en particulier du pin d'Alep (*Pinus halepensis*), largement répandu dans les forêts de Chréa et ses environs. Le lieu de récolte se trouve au centre de conservation de la forêt de Blida, (District forestier de Blida, région forestière, pépinière Beni Ali) .(figure 5) La localité de Beni Ali, est située à une altitude moyenne de 946 m et aux coordonnées géographiques 36,45° N et 2,86° E, Chréa (Open Street Map, 2025). La récolte a été réalisée la matinée selon les conditions suivantes

- Température : environ 17 °C
- Ciel : dégagé
- Vent : sud-sud-est à 13 km/h
- Humidité : 64 %
- Visibilité : 10 km



Figure 5 : Station du centre de conservation de la forêt de Blida, pépinière Beni Ali

Localité de Boumerdes

La région de Boumerdes est située dans le nord de l'Algérie, sur la bande côtière centre-est du pays. Elle bénéficie d'un climat méditerranéen, caractérisé par des hivers doux et humides, ainsi que des étés chauds et secs. Le territoire est partiellement couvert de forêts, notamment de Pin d'Alep (*Pinus halepensis*). Cette couverture végétale s'étend principalement dans les zones montagneuses et semi-montagneuses de la wilaya, où le pin d'Alep occupe une place importante dans les écosystèmes forestiers. Le lieu de récolte se trouve au niveau de la forêt de sghirate. commune de Thénia, wilaya de Boumerdes, dont la latitude est d'environ 36,717° N, 3,52° E (Figures 6 et 7), La récolte s'est réalisée la matinée selon les conditions suivantes

- Ciel : Partiellement nuageux
- Température : Environ 24°C
- Vent : Modéré, soufflant du sud à environ 17 km/h
- Humidité : 81%
- Mer : Calme



Figure 6 : foret sghirate, Boumerdes.



Figure 7 :la localisation de foret sghirate, Boumerdes

I.2- Souches bactériennes

Trois souches bactériennes ont été utilisés (tableau 3)

L'identification de ses souches a été préalablement validée par le service de microbiologie du laboratoire d'essai et d'analyse de qualité Amawaz.lab situé à Diar el bahri à Benimared de Blida

Une fois l'identification confirmée, les souches ont été conservées sur gélose selon la méthode de piqûre centrale jusqu'à leur utilisation

Tableau 3 caractéristiques des trois souches bactériennes utilisées.

Bactéries	Caractéristiques	Infections associées
<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i> est une bactérie Gram-négative, en forme de bacille, appartenant à la famille des Enterobacteriaceae. •Elle est naturellement présente dans le tube digestif des humains et des animaux. •Aérobie/facultativement anaérobie •Fermente le lactose (avec production d'acide et de gaz) •Certaines souches sont pathogènes	•Infections urinaires (cystites, pyélonéphrites) •Gastro-entérites •Méningites néonatales •Septicémies
<i>Klebsiella sp</i>	<i>Klebsiella</i> est un genre de bactéries Gram-négatives, bacilles encapsulés, également de la famille des Enterobacteriaceae. Les espèces les plus courantes sont <i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>Klebsiella oxytoca</i>. •Non mobiles •Fermentent le lactose •Présence d'une capsule épaisse, facteur de virulence •Résistance fréquente aux antibiotiques	•Pneumonies nosocomiales •Infections urinaires •Infections de plaies •Septicémies
<i>Proteus sp</i>	<i>Proteus</i> est un genre de bacilles Gram-négatifs, très mobiles, également membres des Enterobacteriaceae. Les espèces les plus fréquentes sont <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Proteus vulgaris</i>. •Très mobiles •Ne fermentent pas le lactose •Produisent de l'urée (activité uréasique élevée) •Odeur désagréable	•Infections urinaires compliquées (avec risque de formation de calculs) •Infections des plaies •Infections nosocomiales

II. Méthode

II.1- Extraction des huiles essentielles

L'extraction est faite par hydrodistillation (avec un alambic) . C'est une technique traditionnelle et efficace pour l'extraction d'huiles essentielles à partir de fleurs, de feuilles ou d'autres matières végétales. Cette technique repose sur la distillation à la vapeur d'eau, qui permet de séparer les composés volatils des matières végétales. (Bruneton, 1999). (figure 8)

Mode opératoire

Remplir l'alambic avec eau + plante (La quantité de l'eau est le double de la quantité de la plante) (8.3 kg de pin d'Alep+16,60 l d'eau). Puis Chauffer l'alambic progressivement jusqu'à ce que l'eau bout, la vapeur d'eau passe dans la matière végétale et entraîne les composés volatils. Ensuite la vapeur aromatique passe dans le col de cygne puis dans le condenseur ou elle est refroidie. Elle redevient liquide (mélange hydrolat + huile essentielle). Pour la dernière étape, la décantation, le liquide arrive dans le vase florentin et une séparation naturelle entre l'huile essentielle en surface et l'hydrolat (eau aromatique) est réalisée. (Figure 9) Cette opération a duré 2h30 pour les échantillons de la région de ben ali (blida) et 3h pour les plantes récoltées dans la région de Boumerdes



Figure 8 ; alambic de L'hydrodistillation.



Figure 9 : séparation des huiles esentieeles de
l' hydrolat

Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la masse de matière végétale sèche, conformément à la norme AFNOR [2000].

Il est défini comme le rapport entre la masse d'huile essentielle extraite et celle de la matière végétale sèche utilisée. Ce rendement, exprimé en pourcentage, est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{m_{HE}}{m_v \times 100}$$

R : rendement en huile essentielle (%)

m_{HE} : masse de l'huile essentielle extraite (en grammes)

m_V : masse de la matière végétale sèche (en grammes)

II.2- Propriétés organoleptiques

Les propriétés organoleptiques désignent l'ensemble des caractéristiques d'une substance que l'on peut percevoir par les organes des sens : l'odorat, le goût, l'observation, le toucher AFNOR (1999). Analyse sensorielle vocabulaire. Norme NF ISO 5492. Association Française de Normalisation .

II.2.1- Analyses physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques ont été déterminées conformément aux protocoles normalisés définis par l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) et la Pharmacopée Européenne [AFNOR, 2000].

➤ Densité relative

La densité relative est le rapport entre la masse d'un volume donné de substance et celle d'un volume équivalent d'eau à 20 ° [Ph. Eur., 2008].

$$d_{20}^{20} = \frac{d_{\text{substance}}}{d_{\text{eau}}}$$

Méthode opératoire

Un volume déterminé d'huile essentielle est prélevé à l'aide d'une micropipette, puis pesé à l'aide d'une balance analytique de précision, en tenant compte du coefficient de correction lié à la température et considérons à la même procédure pour l'eau (NF ISO 279, 1999).

➤ Miscibilité à l'éthanol

Selon Burt (2004), la miscibilité des huiles essentielles dans des solvants polaires comme l'éthanol est essentielle pour assurer une distribution homogène dans les milieux biologiques.

Dans un tube conique graduée de 15 mL, on introduit 1,0 ml d'huile essentielle. À l'aide d'une burette, on ajoute progressivement des fractions de 0,5 ml d'éthanol à 90°, en agitant fréquemment, jusqu'à obtenir une solution limpide. Le volume d'éthanol nécessaire à la dissolution est alors noté.

Une huile essentielle est considérée comme soluble dans n volumes ou plus, d'éthanol, à un titre donné.

➤ **Indice d'acide**

L'indice d'acide IA est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1 g de substance.

Mode opératoire

Une quantité de 1 g de chaque huile essentielle à tester a été dissoute dans 30 ml d'éthanol à 96%, neutralisé au préalable par l'hydroxyde de potassium 0,02 M en présence de 0,5 ml de solution de rouge de phénol. Nous avons titré par l'hydroxyde de potassium 0,02 M Jusqu'à ce que la couleur rose persiste pendant au moins 15 s (n ml de réactif titrant KOH). Le contenu du ballon a été mis en réserve pour les analyses ultérieures (indice d'ester). L'indice d'acide est donné par la relation suivante (Ph. Eur 6. 2008)

$$IA = \frac{v \times n \times 56,11}{m} \times f_{KOH}$$

IA : L'indice d'acide

V : le volume (ml) de potasse employée

N : la normalité de la solution

M : la masse (mg) de la prise d'essai

F KOH : facteur de correction

➤ **Teneur en eau (taux d'humidité)**

Déterminée par dessiccation dans une étuve selon les normes en vigueur.

La teneur en eau de nos échantillons de poids déterminé (1 g), a été déterminée par le procédé de dessiccation à une température de 70° dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Zerrad et al., 2006).

Considérons :

x: poids de l'échantillon

y : poids de l'échantillon après déshydratation

T% : Teneur en eau exprimé en pourcentage $T\% = \frac{x-y}{x} \times 100$

➤ PH (potentiel hydrogène)

La mesure du pH est réalisée par potentiomètre à l'aide d'un pH-mètre, par immersion de deux électrodes appropriées dans 3 ml d'huile essentielle (Lehir et Cohen, 2001).

II.3- Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

La méthode utilisée est l'aromatogramme, c'est une méthode de diffusion sur gélose, utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles vis-à-vis de germes pathogènes. Elle repose sur le même principe que l'antibiogramme, où des disques imprégnés d'huile essentielle sont déposés sur une géloseensemencée par la souche microbienne à tester.

La pureté des souches a été vérifiée par l'observation des caractéristiques cellulaires, ainsi que par des tests biochimiques et culturels.

➤ Préparation des souches

Trois souches bactériennes ont été utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pinus halepensis* : *Escherichia coli*, *Proteus sp*, *Klebsiella sp*.

Ces bactéries ont été choisies en raison de leur pertinence en microbiologie appliquée et de leur fréquence dans les infections opportunistes (Van Overbeek et al., 2021). Les souches ont été obtenues à partir de collections de laboratoire et conservées à 4 °C sur gélose inclinée. (Figure 10)

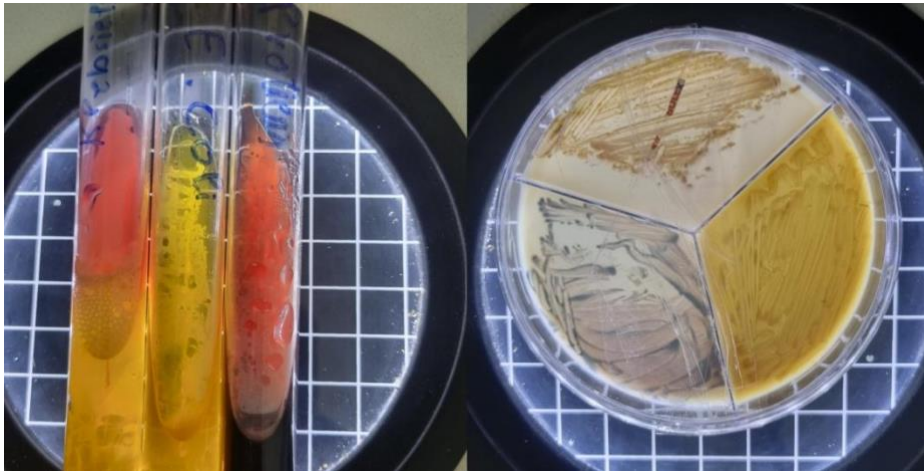


Figure 10 les souche bactériennes (*E.coli*, *klebsiella sp*, *Proteus sp*).

➤ Préparation des suspensions bactériennes

La réactivation des souches a été réalisée par ensemencement sur gélose Mueller-Hinton (MH), suivie d'une incubation à 37 °C pendant 24 heures.

Après croissance, une suspension bactérienne a été préparée en transférant des colonies isolées dans une solution stérile d'eau physiologiques. (Figure 11)

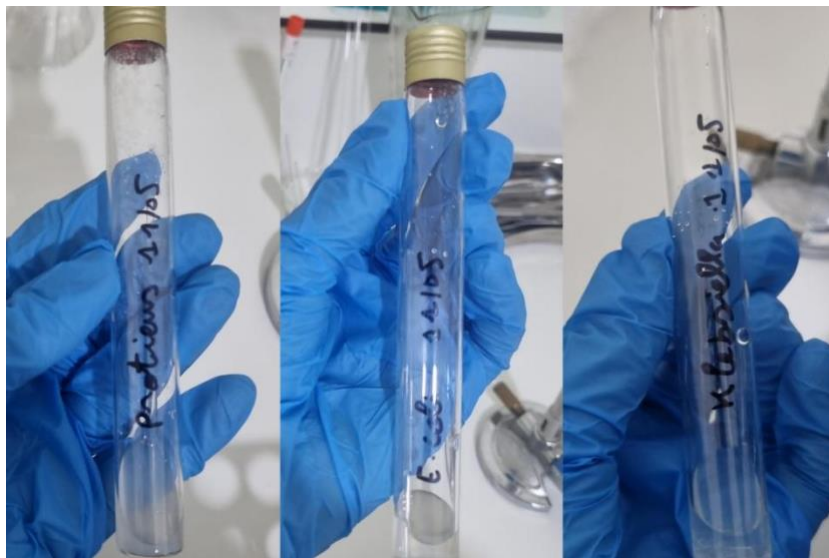


Figure 11 : les 3 solutions des 3 souches bactériennes.

➤ Ensemencement des milieux de culture

Des boîtes de Pétri contenant 20 ml de gélose Mueller-Hinton stérile ont été utilisées comme support de culture. 100 µl de chaque suspension bactérienne ont été répartis uniformément sur la surface de la gélose à l'aide d'une pipette Pasteur stérile. Les boîtes ont été laissées à

température ambiante pendant 10 minutes afin de favoriser une bonne absorption et fixation des cellules sur le milieu.

➤ **Imprégnation des disques**

Des disques vierges stériles de papier filtre (6 mm de diamètre) ont été imprégnés avec des volumes de 40 ul d'huile essentielle.

Les disques ont ensuite été délicatement déposés à la surface des boîtesensemencées à l'aide de pinces stériles (un disque sûr chaque boîte). (Annexe 4)

Les boîtes ont été mis dans l'étuve pour effectuer la lecture après 24h

Chapitre 2

Résultats et discussion

I-Rendement des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle représente un critère essentiel pour évaluer la richesse des aiguilles de *Pinus halepensis* en composés volatils (Nabeti, 2013). Dans notre étude, les rendements obtenus sont de 0,13 mg % pour les échantillons de Blida et 0,08 mg % pour celles de Boumerdes. Nous remarquons une différence notable entre les rendements des huiles essentielles des deux régions, où l'échantillon de Blida a présenté un meilleur rendement par

rapport à celui de Boumerdes. Cette variation peut s'expliquer par les conditions climatiques différentes entre les deux zones, mais aussi par d'autres facteurs comme la composition du sol, l'exposition et l'altitude,

Nous rappelons que la localité de Boumerdes présente une altitude plus faible et elle est proche de la mer, nous pouvons dire que le rendement dans ce cas-là est influencé par les provenances marines. (Abdel-Monem et al., 2019).

Des travaux réalisés sur des plants de romarin soumis à une irrigation saline de la mer (reflétant des conditions littorales) ont montré que le rendement des huiles essentielles est significativement plus faible (0,375 ml/100 g) comparé aux plants cultivés dans des régions non salines (0,501 ml/100 g).

Ces résultats montrent clairement qu'un stress salin, souvent induit par la proximité de l'océan, réduit le rendement en huile essentielle, validant ainsi que la provenance marine (littorale) peut influencer négativement la quantité d'huile extraite.

II-Propriétés organoleptiques

Les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle ont été soigneusement évaluées afin de caractériser son aspect, sa couleur et son odeur, éléments essentiels pour en apprécier la qualité. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 4.

Les huiles essentielles extraites des aiguilles de *Pinus halepensis* provenant des régions de Blida et de Boumerdes présentent des similitudes notables sur le plan organoleptique. Dans les deux cas, l'huile se caractérise par une odeur fraîche, boisée et résineuse, typique des conifères.

Tableau 4 : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de *Pinus halepensis*

\	Blida	Boumerdes	Norme
Odeur	douce, fraîche, boisée et résineuse	fraîche, boisée et résineuse	Fraîche, boisée et résineuse (Nabeti, 2013 ; Khiari, 2018).

Couleur	 Vert pâle	 Bleu-vert très clair	Vert pâle au jaune verdâtre (Nabeti, 2013 ; Khiari, 2018).
Aspect	liquide limpide	liquide limpide	liquide limpide, (Nabeti, 2013 ; Khiari, 2018).
Mobilité	très mobile	très mobile	très mobile (Nabeti, 2013 ; Khiari, 2018).

Ces résultats sont en accord avec les données admises dans la littérature pour cette espèce et conformes aux caractéristiques mentionnées dans les études de certains auteurs (Khiari, 2018 ; Nabeti, 2013). Cependant, pour l'odeur, une note plus douce est perceptible pour l'huile des échantillons récoltés à Blida, ce qui pourrait être lié à des différences dans la composition chimique, notamment dans les proportions des monoterpènes, ou aux conditions climatiques locales spécifiques (altitude, ensoleillement).

La couleur varie du vert pâle à verdâtre pour les échantillons de Blida, et du bleu-vert très clair pour les échantillons de Boumerdes. L'aspect des deux huiles est celui d'un liquide limpide et homogène, avec une mobilité très élevée, traduisant une faible viscosité. Ce comportement correspond aux critères de qualité habituellement admis pour les huiles essentielles de conifères riches en monoterpènes (Nabeti, 2013 ; Khiari, 2018).

D'un point de vue normes, bien qu'il n'existe pas de norme AFNOR spécifique à l'huile essentielle de *Pinus halepensis*, les propriétés observées sont conformes aux critères généraux de qualité des huiles essentielles : aspect limpide, absence de dépôt, fluidité, et odeur caractéristique de l'espèce (AFNOR, 2000 ; Bible des huiles essentielles, 2002).

Les résultats obtenus montrent que les propriétés organoleptiques des huiles de Pin d'Alep des deux localités (Blida et Boumerdes) sont conformes aux standards généraux attendus pour les huiles essentielles de conifères. Les légères différences observées (note plus douce, teinte plus

claire) peuvent s'expliquer par l'influence des facteurs environnementaux locaux, notamment le climat, la proximité de la mer pour Boumerdes, et la composition des sols. Ces variations sont courantes dans les huiles essentielles, où la chimie des composés volatils est fortement modulée par l'environnement, le stade de développement de la plante et la méthode d'extraction (Chemat et al., 2010). Ces premiers résultats organoleptiques confirment l'intérêt de compléter l'étude par une analyse instrumentale (chromatographie, spectroscopie) pour préciser les profils chimiques et vérifier la conformité aux exigences de qualité pour des applications industrielles ou thérapeutiques.

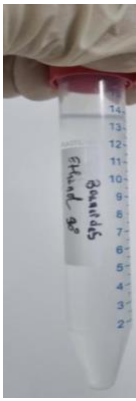
Il est important de souligner que la récolte a été réalisée au mois d'avril, une période de transition entre l'hiver et le printemps. Durant cette période, la biosynthèse des huiles essentielles peut être moins active comparativement aux mois d'été, où la chaleur stimule davantage la production des métabolites secondaires. Cela peut justifier les faibles rendements obtenus par rapport à d'autres études menées durant les saisons plus chaudes.

III. Indices physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques tels que la densité relative, l'indice de réfraction, le pH, l'indice d'acide, l'humidité, constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité d'huile essentielle (Afssaps, 2008). Le Tableau 5 regroupe les résultats des mesures réalisées.

Tableau 5 des résultats des analyse physicochimiques

//	Blida	Boumerdes	En Algérie
PH	4,27	4.72	4,98 (Sadou et al., 2015)Nord d'Algérie
Densité relative	0.84	0.83	0,95–0,824 (AFNOR, 2000 ; Sadou et al., 2015)

Indice d'acidité	0.48	0.92	<≈1.5 (Ben Jabeur, M., et al. ,2015). Tlemcen
Taux d'Humidité %	0.7	0.8	≈ 0,7 % (Sadou et al., 2015 ; Nabeti, 2013).
L'extrait sec %	99.3	99.2	//
Miscibilité a l'éthanol	10.73 ml 	12.20 ml 	//

➤ Ph

Les valeurs mesurées sont de 4,27 pour l'huile essentielle des échantillons de Blida et 4,72 pour les échantillons de Boumerdes, toutes deux légèrement acides. Cela est cohérent avec la présence de composés tels que les acides organiques et les phénols (Nabeti, 2013). Ces valeurs sont légèrement inférieures par rapport à celles obtenues par certains auteurs en Algérie, pour les huiles essentielles de *Pinus halepensis*, (4,98) (Sadou et al., 2015), ce qui pourrait indiquer des différences dans la composition acide en fonction des conditions écologiques locales.

➤ Densité relative

Les densités mesurées sont de 0,84 pour les échantillons de Blida et de 0,83 pour les échantillons de Boumerdes. Elles se situent dans la fourchette de la norme algérienne (0,824–0,950) pour les huiles essentielles de conifères (AFNOR, 2000 ; Sadou et al., 2015), ce qui confirme la conformité de nos extraits avec les standards attendus.

➤ Indice d'acidité

L'indice d'acidité mesuré est de 0,48 pour échantillons de Blida et de 0,92 pour les échantillons de Boumerdes. Ces valeurs sont largement inférieures à la limite de qualité généralement admise pour les huiles essentielles (inférieure à $\approx 1,5$ (Ben Jabeur et al., 2015), ce qui indique un bon état de fraîcheur et une faible altération des huiles obtenues.

➤ Taux d'humidité

Les taux sont très faibles : 0,7 % pour l'huile essentielle extraite des plantes prélevées à Blida et 0,8 % pour celle des échantillons de Boumerdes. Ces valeurs reflètent une bonne stabilité des huiles essentielles, limitant les risques d'altération par hydrolyse ou développement microbien. Elles sont conformes aux données des études antérieures menées en Algérie ($\approx 0,7$ % ; Sadou et al., 2015 ; Nabeti, 2013).

➤ Extrait sec

Les pourcentages élevés (99,3 % Blida ; 99,2 % Boumerdes) traduisent une très faible teneur en résidus non volatils, ce qui est le signe d'une bonne pureté des huiles obtenues (Sadou et al., 2015).

➤ Miscibilité à l'éthanol

L'huile des plantes de Blida a montré une meilleure miscibilité (10,73 ml) que celle des plantes prélevées à Boumerdes (12,20 ml). Cette différence pourrait s'expliquer par une variation des teneurs en composés oxygénés, sachant qu'une meilleure solubilité dans l'éthanol traduit souvent une huile plus pure et plus riche en constituants légèrement polaires (Nabeti, 2013).

Les analyses physico-chimiques réalisées confirment la bonne qualité des huiles essentielles extraites des aiguilles de *Pinus halepensis* pour les deux régions étudiées. Les valeurs du pH, légèrement acides (entre 4,27 et 4,72), sont en accord avec la composition attendue des huiles essentielles de conifères, riches en acides organiques et en phénols (Bakkali et al., 2008 ; Boukhatem et al., 2014). Ces valeurs sont comparables à celles rapportées par Djamel (2017), dans son étude sur les huiles de *P. halepensis* de la région de Médéa. La densité des huiles obtenues est conforme aux standards décrits pour les huiles essentielles de conifères, témoignant de leur richesse en composés volatils (Burt, 2004 ; Lawrence, 1995 ; Belkhodja, 2019).

L'indice d'acidité mesuré reflète un bon état de fraîcheur des huiles, ce qui indique une faible altération des constituants (Burt, 2004). De faibles taux d'humidité ont également été relevés, confirmant une bonne stabilité des huiles, avec un risque réduit d'hydrolyse ou de dégradation microbienne (Bakkali et al., 2008). Des valeurs similaires ont été signalées par Djamel, S (2017), qui note des taux d'humidité inférieurs à 1 % pour des huiles essentielles extraites selon un protocole comparable.

Les taux d'extrait sec élevés observés dans nos échantillons traduisent une pureté satisfaisante des huiles extraites. Enfin, les différences de miscibilité à l'éthanol entre les huiles des plantes des deux sites, Blida et Boumerdes, confirment une variation de la composition chimique, notamment en constituants polaires, ce qui rejoint les observations faites par Boukhatem et al. (2014) et Belkhodja (2019) sur la variabilité liée à l'origine géographique et aux conditions écologiques.

L'huile des plantes prélevées à Blida a montré une meilleure miscibilité dans l'éthanol (10,73 ml) par rapport à celle des échantillons prélevés à Boumerdes (12,20 ml), ce qui suggère une huile plus riche en composés légèrement polaires et probablement en constituants oxygénés (Nabeti, 2013 ; Boukhatem et al., 2014). Des résultats similaires ont été rapportés par Belkhodja (2019), qui a observé une meilleure miscibilité des huiles de *P. halepensis* provenant de la région de Chréa, avec des volumes de miscibilité autour de 10 ml, traduisant une bonne pureté.

VI- Activité antibactérienne

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux huiles essentielles du pin d'Alep des deux régions sont regroupés dans le Tableau suivant

Tableau 6 : Diamètres d'inhibition des huiles essentielles sur les souches bactériennes étudiées

Souches bactériennes	La région de récolte	Diamètre de zone d'inhibition	Interprétation
<i>Escherichia coli</i>	Blida	1,9 cm	Sensible
	Boumerdes	1,7 cm	Sensible

<i>Proteus sp</i>	Blida	0,8 cm	Résistant
	Boumerdes	0 c m	Résistant
<i>Klebsiella sp</i>	Blida	1,7 cm	Sensible
	Boumerdes	1,4 cm	Intermédiaire

Les résultats obtenus, montrent qu'il existe une variabilité de l'activité antibactérienne des huiles essentielles testées en fonction de la souche cible.

- *Proteus sp*

Il s'est avéré qu'aucune zone d'inhibition n'a été observée vis-à-vis *Proteus sp*, pour les huiles essentielles des plantes des deux régions (Tableau 6 et Annexe 4)

- *Escherichia coli*

Concernant la bactérie *Escherichia coli* une zone d'inhibition a été observé pour les huiles essentielles des plantes des deux régions (1.9 cm pour blida et 1.7 cm pour boumerdes), (Tableau 6 et Annexe 4)

- *Klebsiella sp*

Pour la bactérie *klebsiella sp* deux types de zone d'inhibition on été observées; sensible pour l'huile essentielle des plantes prélevées à Blida (1.7 cm) et intermédiaire (limite) pour celle des échantillons de boumerdes (1.4 cm) (Tableau 6 et Annexe 4)

Les résultats obtenus dans notre étude révèlent une certaine variabilité de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Pinus halepensis* en fonction des souches testées ainsi que de leur origine géographique. Cette variabilité, même faible, est conforme à celle rapportée dans plusieurs travaux antérieurs.

Concernant la souche *Proteus sp.*, nos résultats indiquent une absence totale d'inhibition, quel que soit l'origine géographique des huiles essentielles (Blida ou Boumerdes). Ces observations suggèrent une résistance intrinsèque de cette bactérie aux composés bioactifs présents dans les

huiles testées. Ces données contrastent avec les travaux de Ramdani et al. (2020), qui ont mis en évidence une activité inhibitrice de l'huile essentielle de *P. halepensis* contre *Proteus mirabilis*. Toutefois, elle est en accord avec les résultats obtenus par Fekih et al. (2014) qui ont travaillé dans la région de Tlemcen, où aucune activité antibactérienne n'a été observée vis-à-vis de cette souche. Ces divergences peuvent être attribuées à des facteurs tels que la variabilité chimique des huiles, les conditions de croissance bactérienne, ou encore les méthodes d'extraction et de test utilisés.

En ce qui concerne la souche *Escherichia coli*, nos résultats ont montré une inhibition importante (zone sensible) pour les huiles essentielles des plantes prélevées au niveau des deux régions étudiées (1.9cm pour blida et 1.7cm pour boumerdes). Ce résultat est en contradiction avec plusieurs études antérieures, notamment celles de Fekih et al. (2014) et de Settouf et Bchir, (2019), qui ont toutes deux noté une absence d'activité antibactérienne de l'huile de *P. halepensis* contre *E. coli*. Cette divergence pourrait refléter des différences dans la composition chimique des huiles liées à l'environnement (sol, climat), au stade de développement des aiguilles, ou encore à la variabilité génétique des souches d '*E. coli* utilisées.

Pour la souche *Klebsiella sp.*, une zone d'inhibition importante a été observée pour l'huile essentielle des plantes provenant de Blida (Diametre d'inhibition = 1.7cm), tandis qu'une inhibition intermédiaire a été notée pour celle des plantes collectées à Boumerdes (1.4cm). Cette différence suggère une influence de l'origine géographique de la plante sur l'intensité de l'effet antibactérien. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature, notamment ceux de Fekih et al., qui rapportent un halo modéré de 10 mm contre *K. pneumoniae*, ainsi que ceux de Messaoud Ramdani et al., qui confirment une efficacité notable de l'huile contre cette souche.

Finalement nos résultats confirment le potentiel antibactérien variable des huiles essentielles de *Pinus halepensis* selon les souches bactériennes ciblées, et mettent en évidence l'importance de l'origine géographique et des caractéristiques chimiques spécifiques des huiles testées. Ces observations renforcent l'intérêt d'une caractérisation chimique approfondie pour mieux comprendre les mécanismes d'action antibactériens et optimiser leur usage en phytothérapie ou en alternative aux antibiotiques classiques.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Pinus halepensis* est due principalement à son profil chromatographique. Les alcools terpéniques (Terpinen-4-ol, α -Terpineol, Epimanol) et les terpènes (Camphène, B-pinène, caryophyllène) sont réputés pour avoir une certaine action bactéricide (Dorman et Deans, 2000 ; Inouye et al., 2001 ; Belletti et Al., 2004 ; Abi-Ayad et al., 2011).

Conclusion

Ce travail a porté sur l'étude des analyses physico-chimiques et de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Pinus halepensis* extraites par hydrodistillation à partir des rameaux feuillus récoltés dans deux régions différentes : Blida et Boumerdès.

Le rendement obtenu est de 0,13 % pour les échantillons de Blida et de 0,8 % pour celles de Boumerdès.

L'analyse physico-chimique a révélé un pH acide pour les deux huiles essentielles (pH = 4,27 pour échantillons de Blida et 4,72 celles pour Boumerdès), ainsi que des indices physico-chimiques conformes à ceux rapportés dans la littérature, confirmant la stabilité du profil chimique de l'huile essentielle de pin d'Alep.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a montré une efficacité notable contre deux souches bactériennes testées (*Escherichia coli* et *klebsiella sp*), la souche *Proteus sp.*, a manifesté une résistance totale vis-à-vis les deux huiles essentielles. Ces résultats sont en accord avec des études antérieures et confirment l'intérêt des huiles essentielles de *Pinus halepensis* comme alternatives potentielles aux agents antibactériens classiques.

Ainsi, cette étude met en évidence le potentiel des huiles essentielles de pin d'Alep, reflétant à la fois la richesse du patrimoine végétal méditerranéen et l'intérêt croissant de la recherche pour les produits naturels bioactifs.

Il serait pertinent d'identifier précisément les composés actifs responsables de ces effets, d'optimiser les procédés d'extraction, et de développer des formulations valorisant ces extraits naturels à des fins pharmaceutiques ou cosmétiques.

Références bibliographiques

1. **Abdel-Monem, G., El-Wahab, S. M. A., El-Metwally, M. A., & El-Gawad, A. M. A. (2019).** Effect of salinity and water stress on the essential oil components of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Agronomy*, 9(5), 214.
2. **Abi-Ayad, A., Bensoltane, A., & Ayad, A. (2011).** Antibacterial activity of essential oils: Review and perspectives. **Journal of Applied Microbiology**, 110(1), 148-156. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04887.x>
3. **AFNOR (1999).** Analyse sensorielle – Vocabulaire. Norme NF ISO 5492. Association Française de Normalisation, La Plaine Saint-Denis, France.
4. **AFNOR. (2000).** **Huiles essentielles — Normes générales**. Paris : AFNOR.
5. **Aazza, S., Lyoussi, B., Megías, C., Cortés-Giraldo, I., Vioque, J., Figueiredo, A. C., & Miguel, M. G. (2014).** Anti-oxidant, Anti-inflammatory and Anti-proliferative Activities of Moroccan Commercial Essential Oils. *Journal of Essential Oil Research*, 26(1), 1–9.
6. **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—A review. **Food and Chemical Toxicology**, 46(2-11), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
7. **Barbero, M., Loisel, R., Quézel, P., Richardson, D. M., & Romane, F. (1998).** Pines of the Mediterranean Basin. **Ecosystems**, 1(5), 471–487. <https://doi.org/10.1007/s100219900040>
8. **Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (Eds.). (2015).** **Handbook of essential oils: Science, technology, and applications** (2nd ed.). Boca Raton: CRC Press.
9. **Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012).** Essential oils in combination and their antimicrobial properties. **Molecules**, 17(4), 3989–4006. <https://doi.org/10.3390/molecules17043989>
10. **Bazzine, H., & Benzaid, C. (2019).** Propriétés biologiques des huiles essentielles : application dans l'industrie agroalimentaire. Mémoire de Master Université de Mostaganem. Algérie .
11. **Belkhodja, M. (2019).** **Étude des propriétés physico-chimiques et biologiques des huiles essentielles de *Pinus halepensis* dans la région de Chréa** (Mémoire de Master). Université de Blida.
12. **Belletti, N., Ndagijimana, M., Sisto, C., Guerzoni, M. E., Lanciotti, R., & Gardini, F. (2004).** Evaluation of the antimicrobial activity of essential oils. **Journal of Food Protection**, 67(3), 773-778. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.3.773>

13. **Ben Jabeur, M., Ghabri, E., Myriam, H., et al. (2015).** Chemical composition and antifungal activity of essential oils. **Industrial Crops and Products**, 67, 201–208.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.032>
14. **Benabadji, N., Khelil, M. A., & Bouazza, M. (2001).** La végétation forestière en Algérie. **Annales de l'Institut National de la Recherche Forestière**, 25, 33–46.
15. **Ben Miri, Y. (2025).** Essential Oils: Chemical Composition and Diverse Biological Activities: A Comprehensive Review. *Journal of Essential Oil Research*, 37(2), 85–110.
16. **Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., Kebir, H. T. (2014).** Chemical composition and biological activities of *Pinus halepensis* essential oil. **Industrial Crops and Products**, 55, 49–56.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.01.030>
17. **Bouzenna, H., & Krichen, L. (2013).** Les huiles essentielles et leurs applications. **Revue des Sciences de la Vie**, 5, 45–60.
18. **Bruneton, J. (1999).** **Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales** (3e éd.). Paris : Lavoisier.
19. **Burt, S. (2004).** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications. **International Journal of Food Microbiology**, 94(3-11), 223–253
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
20. **Cavanagh, H. M. A., et Wilkinson, J. M. (2005).** Biological activities of lavender essential oil. **Phytotherapy Research**, 19(9), 701–708.
<https://doi.org/10.1002/ptr.1713>
21. **Chamount, D., et Leger, D. (1989).** Les substances naturelles d'origine végétale : intérêt et exploitation. Paris : Masson.
22. **Chaoui, A., et Chegroune, R. (2019).** Effet des huiles essentielles de *Pinus halepensis* sur les bioagresseurs. **Revue des Sciences Agronomiques**, 12(1), 87–95.
23. **Chemat, F., Vian, M. A., et Cravotto, G. (2010).** Green extraction of natural products: Concept and principles. **Trends in Analytical Chemistry**, 29(4), 243–254. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.12.005>
24. **Cronquist, A. (1981).** *An Integrated System of Classification of Flowering Plants.* Columbia University Press, New York.

25. **Dhouibi, R., Bouzid, J., & Khouja, M. L. (2022).** Composition chimique et propriétés biologiques des huiles essentielles de *Pinus halepensis*. *Journal of Essential Oil Research*, 34(2), 125–135.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2021.1931482>
26. **Djamel, S. (2017).** *Étude physico-chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Pinus halepensis* dans la région de Médéa* (Mémoire de Master). Université de Médéa. Algérie .
27. **Dob, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., & Chelghoum, C. (2005).** Chemical composition of the essential oil of *Pinus halepensis* Mill. growing in Algeria. Comptes Rendus Chimie, 8(11–12), 1939–1944.
<https://doi.org/10.1016/j.crci.2005.09.001>
28. **Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308–316. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>
29. **Duarte, M. C. T., Figueira, G. M., Sartoratto, A., Rehder, V. L. G., & Delarmelina, C. (2005).** Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 97(2), 305–311.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.016>
30. **EUFORGEN. (2016).** *Pinus halepensis* Mill. – Aleppo pine. In J. San-Miguel-Ayanz et al. (Eds.), European Atlas of Forest Tree Species (pp. 148-149). Luxembourg: Publications Office of the European Union.
31. **European Pharmacopoeia. (2010).** *Pharmacopoeia Europaea* (7th ed.). Strasbourg: EDQM Council of Europe.
32. **Farjon, A. (1984).** *Pines: Drawings and Descriptions of the Genus Pinus*. Brill, Leiden
33. **Farjon, A. (2010).** A Handbook of the World's Conifers. Brill Academic Publishers.
34. **Fekih, N., Belabid, L., & Hamlaoui, B. (2014).** Étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du *Pinus halepensis*. *Revue des Sciences et Technologies*, 25(2), 93–102.
35. **Ghalem, B. R., Boudi, D., & Amrane, A. (2012).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Pinus halepensis* essential oils from Algeria. Journal of Medicinal Plants Research, 6(11), 2110–2114.
36. **Guenther, E. (1972).** *The essential oils* (Vol. 1). New York: Krieger Publishing.

37. **Inouye, S., Takizawa, T., & Yamaguchi, H. (2001).** Antibacterial activity of essential oils against respiratory tract pathogens. **Chemotherapy**, 47(2), 72–79. <https://doi.org/10.1159/000063603>
38. **Isman, M. B. (2000).** Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, 19(8–10), 603–608. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X)
39. **Kamatou, G. P. P., Vermaak, I., & Viljoen, A. M. (2008).** Eugenol—from the remote Maluku Islands to the international market place. **Molecules**, 13(3), 6953–6981. <https://doi.org/10.3390/molecules13036953>
40. **Khiari, H. (2018).** **Les huiles essentielles: propriétés, extraction et usages** (Mémoire). Université d'Alger.
41. **Knittel, M. D. et al., Applied Environmental Microbiology, 1977 :** *Klebsiella pneumoniae* isolée et persistante sur pommes de terre et laitue .
42. **Lawless, J. (1995).** **The illustrated encyclopedia of essential oils**. London: HarperCollins.
43. **Lehir, Y., & Cohen, P. (2001).** **Techniques analytiques en pharmacognosie**. Paris : Masson.
44. **Lis-Balchin, M. (2002).** **Aromatherapy science: A guide for healthcare professionals**. London: Pharmaceutical Press.
45. **Lorenzo-Leal, A., et al. (2019).** Antimicrobial, Cytotoxic, and Anti-Inflammatory Activities of *Pimenta dioica* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils. *BioMed Research International*, 2019, 1–11.
46. **Miguel, M. G. (2010).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15(12), 9252-9287.
47. **Nabeti, N. (2013).** Étude des propriétés biologiques de l'huile essentielle de *Pinus halepensis*. Mémoire de Master, Université d'Alger.
48. **Nature Jardin (s.d.).** Pin d'Alep – *Pinus halepensis*. http://nature.jardin.free.fr/arbre/ft_pinus_halep.html
49. **OpenStreetMap. (2025).** **Carte des régions forestières algériennes**. Consulté en mai 2024 sur <https://www.openstreetmap.org>
50. **Ormeño, E., Fernandez, C., & Mévy, J. P. (2009).** Monoterpenes in *Pinus halepensis*: A review. **Chemistry and Ecology**, 25(3), 221–237. <https://doi.org/10.1080/02757540902763924>

51. **Pavela, R., & Benelli, G. (2016).** Essential oils as ecofriendly biopesticides. **Trends in Plant Science**, 21(11), 1000–1017.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.001>
52. **Pépinières Naudet. (2012, 10 août).** Pin d'Alep (*Pinus halepensis*). Pépinières-Naudet.com. Disponible sur : <https://www.pepinieres-naudet.com/arbres/142-pin-d-alep-pinus-halepensis.html>
53. **PictureThisAI. (s.d.).** *Pinus halepensis*. Disponible sur : https://www.picturethisai.com/fr/wiki/Pinus_halepensis.html
54. **Quézel, P., & Médail, F. (2003).** Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Paris : Elsevier.
55. **Richardson, D. M. (1998).** Forestry trees of the Mediterranean. **Forest Ecology and Management**, 105(1–3), 1–16. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(97\)00238-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(97)00238-9)
56. **Sadou, H., et al. (2015).** Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Pinus halepensis*. **Journal of Essential Oil Research**, 27(2), 123–131.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2015.987987>
57. **Sefidkon, F., et al. (2007).** Variation in essential oil content and composition. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 10(1), 42–52.
58. **Silva, L. F. M., et al. (2020).** Extraction of essential oils: A review. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, 19, 100271.
<https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2020.100271>
59. **Spisni, E., Petrocelli, G., Imbesi, V., Spigarelli, R., Azzinnari, D., Donati Sarti, M., & Valerii, M. C. (2020).** Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Microbial-Modulating Activities of Essential Oils: Implications in Colonic Pathophysiology. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 4152.
60. **Tsai, M. L., Lin, C. C., Lin, W. C., & Yang, C. H. (2011).** Antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of essential oils from five selected herbs. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75(10), 1977–1983.
61. **Ultee, A., Bennik, M. H. J., & Moezelaar, R. (2002).** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the bacterial membrane. **Applied and Environmental Microbiology**, 68(4), 1561–1568.
<https://doi.org/10.1128/AEM.68.4.1561-1568.2002>
62. **Van Overbeek, L. S. et al., 2021.** Transmission et persistance d'*E. coli* dans le sol et les plantes telles que laitue, chou ou pois .

63. **Viswanathan et Kaur, BMC Microbiology 2017** : *Proteus sp.* et *E. coli* trouvés sur carottes et salades prêtes à consommer .
64. **Zerrad W., Hillali S., Mataoui B.S., EL Antri S., Hmyene A.**, Etude comparative des mécanismes biochimiques et moléculaires de résistance au stress hydrique de deux variétés de blé dur , 《 Congrès International de Biochimie, Agadir, (2006), 371-376.》

Annexes

Annexe 1

Appareillage, verrerie et consommables

Appareillage :

- Autoclave
- Bain marie
- Balance de paillasse
- Bec bunsen
- Etuve isotherme
- Micropipette
- Balance analytique de précision
- Hotte à flux laminaire avec lampe UV
- Alambic hydrodistillateur
- Incubateur bactériologique
- pH-mètre
- Pied à coulisse
- Plaque chauffante
- Titracteur Karl Fisher
- Vortex

Verrerie et consommable

- Anse de platine
- Bêchers : 100 ml, 250 ml
- Boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre
- Burettes
- Disques d'aromatogramme en cellulose stériles 6 mm
- Écouvillons Stériles
- Epprouvettes
- Flacons avec bouchon
- Pincés
- Pipettes graduées stérile
- Pipettes Pasteurs
- Tubes à essai

Solutions et réactifs

- Méthanol
- L'hydroxyde de potassium (KOH)
- Rouge de phénol
- Eau distillée
- Eau physiologique

Annexe 2

Milieu de culture

- Gélose Sabouraud
- Gélose Mueller-Hinton (MH)

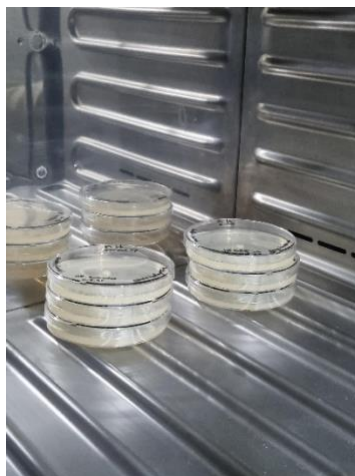
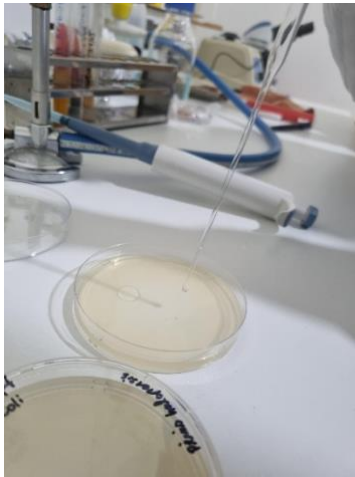
Annexe 3

Matériels utilisés pour les analyses physico-chimiques

Analyse	Boumerdes	Blida
Ph		
Densité relative		
Indices d'acidité		

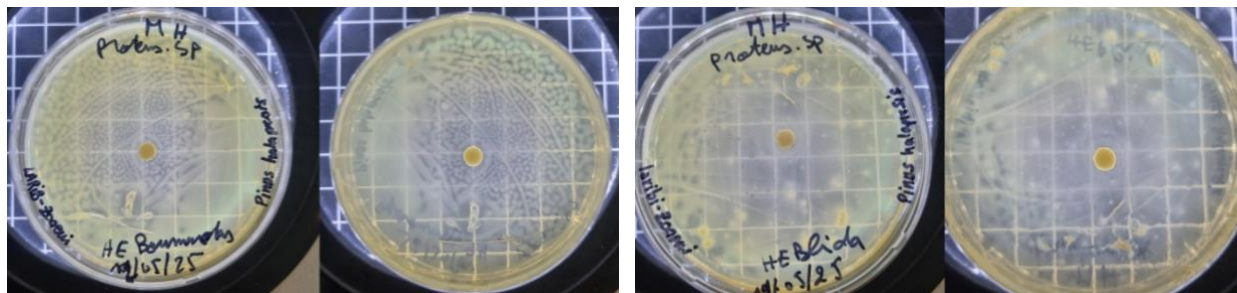
Annexe 4

Méthodes de diffusion sur disques

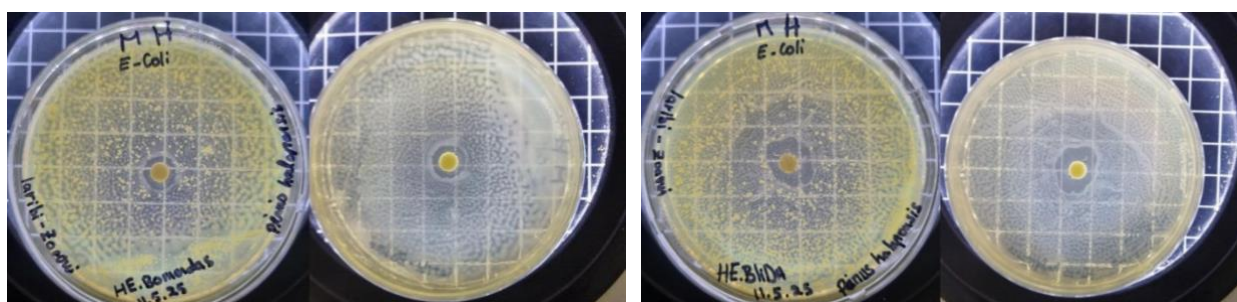


diamètres d'inhibition de chaque bactérie

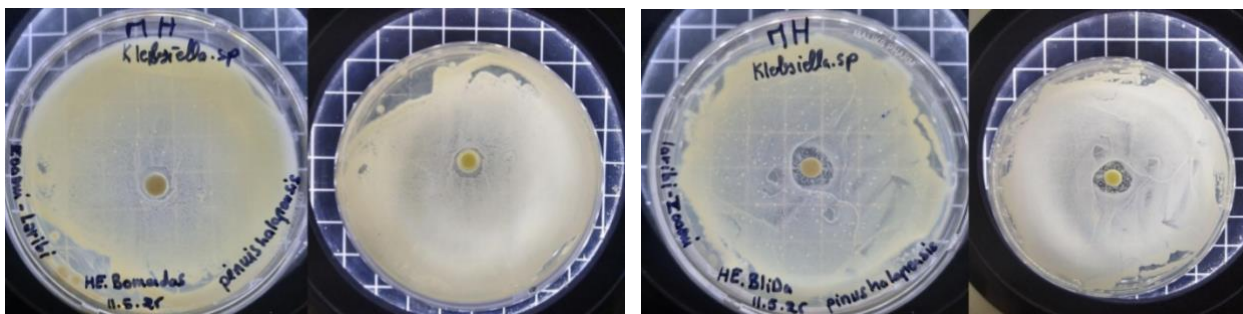
Proteus sp



Escherichia coli



Klebsiella sp





RÉPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB BLIDA 1
FACULTÉ DE SCIENCES DE LA NATURE

DÉPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES ET AGROÉCOLOGIE

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique en

Science Agronomique.

Spécialité : Phytopharmacie et Protection des Végétaux.

Thème :

Evaluation des rendements, analyse physico-chimique et activité
antibactérienne des huiles essentielles extraites des feuilles de Pin d'Alep,
Pinus halepensis, collectées dans deux sites distincts.

Réalisé Par :

Laribi Rania

Zouaoui Ghada Yasmine

Date de soutenance : 08/07/2025 devant le jury composé de :

Mme Chaichi .W	MCA	Présidente	Université de Blida 1
Mme Allal.L	PR	Examinatrice	Université de Blida 1
Mme Ghanai .R	MCB	Promotrice	Université de Blida 1

Année universitaire
2024 - 2025

par M. Allal
un avis favorable
le 27/10/2024
[Signature]