

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1

Université de Blida 1



Faculté des sciences Biologiques

Département de biotechnologie agro-écologie.

Laboratoire de recherche des PAM

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention
du diplôme de Master 2 Enciensces de la nature et de la vie.

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

THEME

**L'extraction des huiles essentielles de l'Origanum floribundum
et Mélissa officinalis et étude de leur activité antimicrobienne**

Présenté par :

Aliouat Khaoula

Loualiche Nihad

Chezief Imene

Soutenu le : 13/07/2022 à 10h30min

Devant les jurys composé de :

M^{me} BELGUENDOZ.R

MCA

Université Blida1

Examineur

M^{me} ALAL.L

Professeur

Université Blida1

Président

M^{me} AYACHI.N

MCA

Université Blida1

Promotrice

2021-2022

REMERCIEMENTS

NOUS Tenons tout d'abord à remercier et en premier lieu ALLAH, le Tout Puissant et Miséricordieux qui nous a donné la force, la volonté et le courage pour mener à bonne fin ce travail.

• Nos sincères remerciements et notre profonde reconnaissance vont à notre promotrice Mme Ayachi pour son dévouement, ses conseils et son soutien tout au long de l'élaboration de ce travail, et les jurées Mme Alal et Mme Belgundouz.

• Nos sincères remerciement à tous les personnes qui faire la récolte. Mr Aliouat, Mr Kahia, et les cadre de l'entreprise Bio.extrapamal qui ont participé à notre formation. Mr CHikhi, Mr Mouhamed.

• Nos pensées vont à tous les cadres de l'entreprise Saïdal Gué de Constantine. Mme Chader, Mme Linda, Mme Ouarek, et laboratoire de pharmacie de Université Blida, qui ont participé à notre formation. Mme Nabi

• Finalement, un grand merci à tous ceux et toutes celles qui d'une manière ou d'une autre nous ont aidé et soutenu de près ou de loin

Dédicace

• *Je dédie ce travail à mes très chers parents, qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant toutes mes études, et toujours présentes et attentives,*

• *A mes sœurs adorées Nesrine et Mériem*

• *A mes frères merveilleux Mohamed Amine et Imad
Eldine*

• *A mes belles sœurs Ahlam, Fatima et Maroua, Sarah,
Hanane, Sabrina, Mériem, chahrazed, Rania, khaoula,
Imene*

• *A toute ma grande famille Loualiche et bellache.*

• *A tous ceux et celles qui œuvrent de près ou de loin
pour que brille la lumière du savoir.*

Nihad

Dédicace

- *Je dédie ce travail à mes très chers parents, qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant toutes mes études, et toujours présents et attentifs.*

- *A ma chers grand mère.*

- *A mes frères merveilleux Mohamed Imad Eldine et Hamide et Mouaad et Alala, Zakí, Abd Samad, Armia Mahfoude.*

- *A ma chère amie Nour El houda.*

- *A mes chère tante et son mari.*

- *A mes sœurs adorées Fatma Zohra et Hadjer, Abba, Asma Kanza et Amina.*

- *A mon trinôme Nihadé, Imene.*

- *A toute ma grande famille Aliouat et Hammouda.
A tous ceux qui m'ont aidé directement et indirectement
merci.*

Khaoula

Dédicace

Ce projet de fin d' étude est dédié à :

Mes très chers parents qui m'ont offert leur amour et qui n'ont cessé de m'encourager et m'enseigner persévérance durant toutes mes années d' études

A mon chère frère : Yahia

A mes chères sœurs : Soundous, Sirine, Rihab

*A mes chères grands-mères
Que dieu les protègent*

A toutes mes familles paternelles et maternelles

A mon trinôme : Nihad et Khaoula

A toutes mes amies d' enfance et mes collègues d' étude

*A toutes personnes dont ils ont une place dans mon cœur,
que j'estime et que j'aime*

Enfin, à tous ceux qui mon aidé de près ou de loin

IMENE

ملخص

بلسم الليمون والزعتر. نباتات نادرة ومستوطنة بالجزائر تنمو هذه النباتات بصفة برية بالجبال العالية في عدة مناطق ساحلية بالجزائر من بينها منطقة حمام ملوان (البليدة- الجزائر). تمثلت دراسة النباتات في إستخراج الزيوت الأساسية لهما فكانت مردود الزيت الأساسية للنبتة *Mélissa officinalis* ضعيف جدا بنسبة 0.01%، أما نبات *Origanum floribundum* كان مردود زيتها الأساسية معتبرة بنسبة 20،0%، فقمنا بوصفه وتحليل وظائفه المضادة للجراثيم.

أظهرت دراستنا حول حيوية الزيت الأساسية ضد الميكروبات تبيين لنا أن لها مجال حيوي معتبر ضد البكتيريا والجراثيم المدروسة تمكنا من تحديد نشاط أقل تركيز للزيت الاساسي ضد الميكروبات

الكريمة المحضرة بالزيت الأساسية ضد الميكروبات برهن على أنه مصنف غير مهيج للبشرة ومفعول جيد لتضميد الجروح عن طريق الإختبار الحي للنشاط البيولوجي.

الكلمات المفتاحية: زيت أساسي، *Mélissa officinalis*، *Origanum floribundum*، بلسم الليمون والزعتر، مضاد للجراثيم، كريمة جلدية، مضمّد للجروح.

Résumé :

Origanum floribundum(Zaater) et *Mélissa officinalis* sont des plantes rares et endémiques d'Algérie. Ces plantes poussent à l'état sauvage en haute montagne dans plusieurs zones côtières d'Algérie, dont Hammam Melwan (Blida - Algérie). Notre travail a consisté à L'étude de ces plantes à travers l'extraction des huiles essentielles et l'étude de l'effet antimicrobien. Le rendement en huile essentielle de la plante *Mélissa officinalis* est très faible était de 0.01%. Quant à la plante *Origanum floribundum*, son rendement en huile essentielle était de 0,20 %. Les résultats de l'activité antimicrobienne nous a montré qu'elle possède un champ d'action microbiologique biologique important contre les bactéries et levures étudiées et Nous avons pu déterminer les concentrations minimales Inhibitrices de l'huile essentielle. La crème préparée avec de l'huile essentielle contre les microbes s'est avérée être très stable et de bonne consistance selon le teste biologique in vivo.

Mots clés : huile essentielle, *Origanum floribundum*, *Melissa officinalis*, antimicrobienne, crème.

Summary:

Origanum floribundum (Zaater) et *Mélissa officinalis* are rare and endemic plants in Algeria. These plants grow wild in the high mountains in several coastal areas in Algeria, including Hammam Melwan (Blida - Algeria). The study of plants consisted of extracting essential oils for them, and the essential oil yield of the plant *Mélissa officinalis* is very weak was 0.01% . As for the plant *Origanum floribundum*, its essential oil yield was 0.20%. We described and analyzed its antibacterial functions. Our study on the vitality of the essential oil against microbes showed us that it has a significant bio field against the studied bacteria and yeasts and we were able to determine the activity of the lowest concentration of the essential oil against microbes.

- The cream prepared with essential oil against microbes has been shown to be a non-irritating and good wound-healing agent by in vivo biological.

Keywords: Essential oil, *Origanum floribundum*, *Melissa officinalis*, antibacterial, skin cream, wound dressing

GLOSSAIRE

- **Alambic** : appareil permettant la distillation.
- **Antibactérien** : qui détruit les bactéries
- **Antifongique** : qui détruit les champignons
- **Anti-inflammatoire** : qui élimine l'inflammation
- **Antioxydant** : produit qui empêche l'oxydation
- **Antiparasitaire** : qui détruit les parasites
- **Antiseptique** : qui détruit tous les germes
- **Antispasmodique** : qui empêche l'action des spasmes
- **Antitoxique** : qui élimine les toxines
- **Antivenimeuse** : qui neutralise l'action des venins
- **Antiviral** : qui détruit les virus
- **Bactéricide** : qui tue les bactéries
- **Bactériostatique** : qui inhibe la multiplication et croissance des bactéries
- **Bractée** : est une pièce florale en forme de feuille faisant partie de l'inflorescence
- **Chromatographie préparative** : est considérée, dans une large mesure, comme un processus de purification utilisant la chromatographie en phase liquide.
- **Hydrolat** : c'est l'eau distillée obtenue par l'extraction des huiles essentielles

LISTE DES ABREVIATIONS

ATTC : American type culture collection

HE : huile essentielle

AFNOR : association Française de Normalisation

CMI: concentration minimale inhibitrice

CCM : chromatographique sur couche mince

CRD : centre de recherche et de développement

OF: Origanum floribundum

Co2: dioxyde de carbone

MH: Muller-Hinton

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicaces

ملخص

Résumé

Summary

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. La Phytothérapie.....	3
I.1.1. Historique.....	3
I.1.2. Définition.....	4
I.1.3. Avantages de la phytothérapie.....	4
I.1.4. Dangers de la Phytothérapie.....	4
I.1.5. Phytothérapie en Algérie.....	5
I.2. Les huiles essentielles.....	6
I.2.1. Historique.....	6
I.2.2. Définition.....	6
I.2.3. Localisation des huiles essentielles.....	7
I.2.4. Caractéristiques et propriétés des huiles essentielles.....	7
I.2.5. Composition chimique des huiles essentielles.....	8
I.2.6. Conservation des huiles essentielles.....	12
I.2.7. Toxicité des huiles essentielles.....	12
I.2.8. Domaine d'application des huiles essentielles.....	13
I.2.9. Méthode d'extraction des huiles essentielles.....	14
I.2.9.1. Hydro-distillation.....	15
I.2.9.2. Hydro diffusion.....	15
I.2.9.3. Entraînement à la vapeur d'eau.....	15
I.2.9.4. Expression à froid.....	15

I.2.9.5.Enfleurage	16
I.2.9.6.Extraction par micro-onde.....	16
I.2.9.7.Extraction par solvants	16
I.2.9.8.Extraction par dioxyde de carbone CO2	16
I.3.Plantes médicinales.....	17
I.3.1.Historique.....	17
I.3.2.Définition	17
I.3.3.Importance de l'utilisation des plantes médicinales	18
I.3.4.Les Plantes médicinales en Algérie	18
I.3.5.La famille des lamiacées	18
I.4.Description des plantes étudiées.....	19
I.4.1. <i>Mélissa Officinales</i>	19
I.4.1.1.Historique de la <i>Mélisse</i>	19
I.4.1.2.Définition de la <i>Mélisse</i>	19
I.4.1.3.Caractéristique botanique de la <i>Mélisse</i>	19
I.4.1.4. Propriétés de la <i>Mélissa</i>	21
I.4.1.5. Caractéristiques de l'huile essentielle de la <i>Mélisse</i> :	22
I.4.2. <i>Origanum floribunmdum</i>	23
I.4.2.1.Historique d' <i>Origanum floribundum</i>	23
I.4.2.2.Définition d' <i>Origanum floribundum</i>	24
I.4.2.3.Caractéristique botanique d' <i>Origanum floribundum</i>	25
I.4.2.4. Principales utilisations d' <i>Origanum floribundum</i>	27
II.2.5. Huile essentielle d' <i>Origanum floribundum</i>	27

CHAPITRE II : Partie expérimentale

II.1. Matériel et méthodes	28
II.1.1.Matériel.....	28
II.1.1.1.Matériel végétale.....	28
II.1.1.2. Matériel microbiologique.....	30
II.1.1.3.Matériel de laboratoire	32
II.1.2. Méthodes	32
II.1.2.1.Récolte des plantes.....	32
II.1.2.2. Extraction des huiles essentielles.....	34
II.1.2.3.Calcul du rendement en huiles essentielles.....	37
II.1.2.4.Caractérisation de l'HE d' <i>Origanum floribundum</i>	37

II.1.2.5.Caractérisation chromatographique	38
II.1.2.6.l'activité antimicrobienne des huiles essentielles	40
II.1.2.7. Préparation d'une crème à base d'une huile essentielle <i>Origanum floribundum</i>	45
II.2.Résultats et Discussion.....	48
II.2.1.Rendement en l'huile essentielle	48
II.2.2.Caractérisation de l'huile essentielle	49
II.2.2.1.Caractéristiques organoleptiques	49
II.2.3.2.Indices physique.....	49
II.2.4.Caractérisation chromatographique.....	50
II.2.5. Activité antibactérienne	51
II.2.5.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne d'hydrolat de <i>Mélissa officinalis</i>	51
II.2.5.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne d'HE d' <i>Origanum floribundum</i>	52
II.2.5.2.Résultats de l'activité anti- microbienne de <i>l'origan</i>	53
II.2.6.Formulation de la crème d' <i>Origanum floribundum</i>	58
II.2.6.1.Aspect macroscopique de formulation de crème :.....	58
II.2.6.2.Détermination des caractères organoleptiques.....	58
II.2.6.3. Aspect microscopique de formulation de crème :.....	59
Conclusion générale	60
Références bibliographique	66

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Quelques exemples de différents types de sesquiterpènes. (Calsamiglia et al, 2007)	11
Tableau 2: Présente la classification de la <i>Mélisse</i> .	20
Tableau 3: Représente la classification de <i>l'origanum floribundum</i> .	26
Tableau 4: Coordonnées géographiques du site de récolte de <i>Mélisse officinalis</i> et <i>d'Origanum floribundum</i> (Hamimeche.M 2007).	30
Tableau 5: Caractéristiques des souches microbiennes (CRD).	31
Tableau 6: Technique de la Chromatographie sur couche mince (CCM).	39
Tableau 7: Les ingrédients de la formulation de crème.	46
Tableau 8: Technique de formulation de la crème (originale).	47
Tableau 9: Caractères organoleptiques de l'HE <i>d'Origanum floribundum</i> .	49
Tableau 10: Caractères physiques de l'HE <i>d'Origanum floribundum</i> .	49
Tableau 11: Résultats de l'activité antibactérienne de la <i>Mélisse</i> .	51
Tableau 12: Résultats de l'activité antimicrobienne <i>d'Origanum</i> .	53
Tableau 13: Etude comparative des zones d'inhibition des travaux de recherche.	54
Tableau 14: Les CMI d'HE <i>d'Origanum floribundum</i> contre les différentes souches testées.	57
Tableau 15: Aspect macroscopique de la crème.	58
Tableau 16: Les photos microscopiques de la crème.	59
Tableau 17: les équipements utilisés.	82

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Quelques exemples des composants mono terpènes (Calsamiglia et al., 2007)	10
Figure 2: Structure chimique des quelques composés aromatique (Khenaka , 2011).....	12
Figure 3: Distribution de la Mélisse dans le monde (Morales, 2002).	21
Figure 4: Aire de répartition du genre <i>Origanum floribundum</i> (Figueredo, 2007)	23
Figure 5: <i>Melissa officinalis</i> L (Original2022).....	28
Figure 6: <i>Origanum floribundum</i> (Original2022).....	29
Figure 7: Localisation de la région d'étude. (Hamimiche,M)	29
Figure 8: L'appareil de la Hydro- distillateur (chez bioextrapamal, 2022)	32
Figure 9: <i>Mélissa officinalis</i> (1) (originale 2022).....	33
Figure 10: <i>Mélissa officinalis</i> (2) (originale 2022).....	33
Figure 11: <i>L'Origanum floribundum</i> (originale2022).....	34
Figure 12: Schéma de technique d'extractions de la huile essentiel (original)	36
Figure 13: Principe simplifié de la méthode des aromagrammes (chikhoun, et al 2007) ...	40
Figure 14: Technique qualitative de l'effet antimicrobien (technique de l'aromatogramme)	43
Figure 15: Préparation des dilutions de l'huile essentielle.	44
Figure 16: Flacon d'huile essentiel récupéré.	48
Figure 17: Photo de la CCM.....	50
Figure 18: Zones absence d'inhibitions de l'HE de la Mélisse testée sur des micro-organismes	52
Figure 19: Histogramme de l'activité antibactérienne d' <i>Origanum</i>	53
Figure 20: Zones d'inhibitions de l'HE d' <i>Origanum floribundum</i> testée sur des bactéries Gram – Gram + et les levures.....	54
Figure 21: Les résultats de l' activité antimicrobienne obtenue.	56
Figure 22: Evaluation de l'activité antimicrobienne d'EH d' <i>Origanum floribundum</i> (CMI) .	57
Figure 23: Crème à base de l'huile essentielle d' <i>Origanum floribundum</i>	58
Figure 24: L'appareil de l'Hydro diffusion (canalblog.2012).....	79
Figure 25: L'appareil de la Entraînement à la vapeur d' eau (Mohamed.D.2010)	79
Figure 26: Schéma du montage de l'expression à froid (farhat, 2007).	80
Figure 27: Schéma résumant l'extraction par les corps gras (Jerry, 2020)	80
Figure 28: Schéma et photo de l'appareil d'extraction par micro-onde (El haib.a.2011)	81
Figure 29: Schéma de l'appareille de l'extraction par solvants (Tessir.2018)	81
Figure 30: Schéma de l'appareil de l'extraction par dioxyde de carbone CO2 (Uraca.2018) .	82

Introduction Générale

Introduction générale

Les infections microbiennes demeurent des affections graves et leur fréquence ne cesse d'augmenter. Par ailleurs, l'usage extensif des antibiotiques dans la médication humaine et dans l'élevage des animaux a conduit à la sélection des souches microbiennes résistantes. Ce phénomène de résistance des bactéries aux antibiotiques se développe de plus en plus de manière quasi universelle, et il est devenu donc primordial d'orienter les recherches vers des agents thérapeutiques efficaces et avec le moins d'effets secondaires possible. Cependant, les extraits issus des végétaux commencent à avoir beaucoup d'intérêts comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet de multiples études pour leur éventuelle utilisation ~~comme~~ alternative dans le traitement des maladies infectieuses.

Les plantes médicinales contiennent un grand nombre de molécules actives d'intérêt multiple mis au profit de l'industrie, de l'alimentation, de cosmétologie et la pharmacologie. Parmi ces molécules, on retrouve, les coumarines, alcaloïdes, acides phénoliques, tannins, lignines, terpènes et flavonoïdes (Bahorun, 1997).

Elles sont une source importante pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque leurs constituants sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse des médicaments. Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. L'aromathérapie, l'art de soigner par les huiles essentielles, est devenue une science méthodique depuis qu'elle repose sur une classification de ces huiles selon leur capacité à lutter contre les bactéries (Collectif ; « Encyclopédie des plantes médicinales 2001).

La famille des Lamiacées est l'une des plus répandues dans le règne végétal (Naguib F et al., 2005). C'est une famille d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant (Gherman et al., 2000 ; Bouhdid et al., 2006 ; Hilan et al., 2006).

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutiques que représentent les Lamiacées :

Notre étude s'est portée sur deux espèces « *Origanum floribundum* » et « *Melissa officinalis* » ; des plantes relativement abondantes et largement utilisés. En Algérie ces plantes sont un peu ignorées due à une négligence par la communauté scientifique de leur intérêt.

Le but de notre travail est de valoriser ces deux plantes à travers l'étude de leurs effets antimicrobiens.

Notre travail expérimental repose sur l'extraction des huiles essentielles de *Melissa officinalis* et *Origanum floribendum* de la région de Hammam Melouane –Blida -Algérie, ainsi que l'évaluation de leur pouvoir antimicrobien.

Notre manuscrit comprend une partie sur la synthèse bibliographique qui est subdivisée en deux principaux chapitres, dont : Le premier chapitre sera un rappel bibliographique sur la phytothérapie et les plantes médicinales, Le deuxième chapitre regroupe la partie expérimentale divisée en matériel et méthodes expérimentales réalisés au cours de ce travail et résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1.La Phytothérapie

I.1.1. Historique

La phytothérapie correspond à l'utilisation des plantes pour traiter ou prévenir les maladies. On peut utiliser les plantes entières ou une partie de plantes soit les feuilles ou les fleurs et sommités fleuries ou les racines. Nous pouvons utiliser des plantes spontanées ou cultivées mais les conditions réglementaires de culture propre doivent être exigées. (LETARD, 2015).

Les préparations peuvent être obtenues par macération, infusion, décoction, ou sous forme de teinture, poudre totale, extraits, gélule, alcoolats ... etc. pour l'utilisation externe et interne. Les plantes médicinales peuvent être des espèces cultivées mais dans la plupart des cas des espèces sauvages (MOHAMMEDIE, 2013).

Les plantes comportent un certain nombre de constituants qui se potentialisent et s'harmonisent, constituant le totem de la plante, à l'inverse de l'allo-thérapie qui concentre en quantité importante une seule voire quelques molécules. Il y a 60 000 ans, l'homme de Neandertal utilisait les plantes et les chamans ont joué un rôle important dans la collection.

Les plantes étaient employées largement dans l'alimentation, la gestion de certaines maladies et aussi pour atteindre un monde plus spirituel. Puis les Grecs avec Hippocrate, Aristote, Théophraste, Le terme de phytothérapie provient du grec *python* ("plante") et *thérapie* ("traitement"). Elle se définit donc comme l'utilisation des plantes pour soigner les maladies (Roger moatti 1990).

Galien, Discorde et les Romains ont enseigné l'art de traiter par les plantes les connaissances avec plus de 500 plantes médicinales répertoriées.

En 529, le pape Grégoire le Grand interdit l'enseignement en France de la médecine par les plantes et ce n'est qu'aux alentours du début du IXe siècle que le Moyen-Orient, l'Afrique du nord et l'Espagne avec l'université de Cordoue ont repris l'enseignement de ces connaissances, puis Avicenne (980-1037) distilla les premières huiles essentielles. Au début du XIXe siècle, on isolait la morphine de l'opium, la strychnine de la noix vomique, la quinine de l'écorce de quinquina. Actuellement, certaines civilisations (chinoise, Ayurvédique, arabe, tibétaine, indienne...) sont encore fondées sur ces systèmes thérapeutiques ancestraux, moins onéreux. (Létard, 2015).

I.1.2. Définition

Etymologiquement le traitement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales. (Gahbiche ,2009).

La Phytothérapie est une médecine qui utilise des plantes ou le seule "principe active" de ces plantes - ayant des propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont appelées "plantes médicinales". (MOHAMMEDIE, 2013).

I.1.3. Avantages de la phytothérapie

Les avantages de la phytothérapie Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine, La phytothérapie offre plusieurs avantages. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (qui est considère comme la solution quasi universelle aux infections grave) décroît car les bactéries et les virus sont adaptés aux médicaments et résistent de plus en plus, au le sclérose qui sont soignées de façon très difficile. La phytothérapie est une alternative importante qui peut amener un confort dans le traitement classique de ces maladies graves (Durrity, 1994).

I.1.4. Dangers de la Phytothérapie

➤ Intoxication

Les plantes peuvent contenir des composés chimiques puissants, responsables d'effets indésirables et de toxicité. Leur utilisation nécessite une vigilance continue. Des études antérieures du Centre Anti Poison d'Alger montre que l'intoxication par les plantes présente 2.34 % en 2007 parmi tous les cas d'intoxications mais avec un nombre des décès élevé « 21 cas décès » (Durrity. 1994).

➤ Interaction

La prise simultanée de plantes médicinales et de médicaments peut entraîner l'interaction des deux remèdes et l'apparition d'effets secondaires, parfois graves par exemple le millepertuis peut inhiber l'effet de médicaments comme la digoxine, la théophylline. L'anti coagulants à base d'anti-vitamine K, des contraceptifs oraux et certains antidépresseurs (Durrity. 1994).

➤ Allergie

Les herbes des fois contiens des substances qui causent des allergies, c'est le cas par exemple de « Aloe Vera », Certaines plantes peuvent provoquer une allergie grave de l'organisme ' choc anaphylactique' nécessiter une intervention médicale immédiate (Durrity. 1994).

➤ **Les enfants**

Les doses d'herbes ont été conçus dans la plupart des cas pour s'adapter à des adultes ; Et quelques types seulement sont adapté aux enfants, vous ne devriez pas donner aux enfants certains types de plantes sans avoir consulté votre médecin et faites attention lorsque vous l'utilisés (Durrity .1994).

➤ **Grossesse et allaitement**

Certaines plantes peuvent causer des dommages peuvent aller jusqu'a l'avortement, parce qu'il fonctionne sur la contraction des muscles de l'utérus. Il n'est pas recommandé d'utiliser des herbes pendant une longue période avant et après la grossesse le cas de « GINGEMBRE » (Durrity. 1994).

➤ **Hypertension artérielle**

Certaines plantes peuvent provoquer une diminution de la pression artérielle, comme c'est le cas dans les herbes diurétiques (Durrity. 1994).

Il faut éviter de manger certaines herbes qui peuvent influencer sur le diabète, ou des médicaments pour traiter le diabète ‘ insuline ou hypoglycémiant ‘ ou affecter sur la sécrétion pancréatique d'insuline, ou de réduire l'absorption du sucre par les cellules (Durrity .1994).

I.1.5. Phytothérapie en Algérie

En Algérie les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé. Des publications anciennes et récentes révèlent qu'un grand nombre de plantes médicinales sont utilisées pour le traitement de nombreuses maladies (HAMMICHE, MAIZA ; 2006).

Durant les années dernières la phytothérapie est très répandue, des herboristes mécanisent le traitement par les plantes sans aucune formation spécialisée ou connaissance scientifique sur la phytothérapie, des plantes et de mélanges pour toutes les maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables.

Des chiffres recueillis auprès du Centre national du registre de commerce, montrent qu'à fin 2009, l'Algérie comptait 1.926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1.393 sédentaires et 533 ambulants.

La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec 199 magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et El Oued avec 60 magasins. (MPONDO et al, 2012).

I.2. Les huiles essentielles

I.2.1. Historique

Les huiles essentielles sont connus depuis des millénaires pour leur action bénéfique sur l'homme, ce terme a été inventé au 16^{ème} siècle par le médecin suisse Paracelse Von Hohénhein afin de désigner le composé actif d'un remède naturel (Burt, 2004).

Les premières preuves de fabrication et de l'utilisation des huiles essentielles datent de l'année 3000 avant J.C , les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la cavillation humaine depuis ses première genèses, les égyptiennes puis les grecs et les romains ont employé diverses matières première végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles, ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, alimentation ... (Baser & Buchbauer, 2010).

La première extraction des huiles essentielles par distillation à la vapeur d'eau a été réalisée par le médecin arabe Ibn Sinan « Avicenne » (980-1037), qui mit au point un alambic et produit la première huile essentielle pure. Il faudra attendre la fin des croisades vers le XIIème siècle, afin qu'ils rapportent les découvertes de la distillation à la vapeur d'eau et l'emploi des huiles essentielles. C'est ainsi que l'aromathérapie s'installera en occidents (Veyrone, 2019). René-Maurice GATTEFOSSE a créé en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (Besombes, 2008).

Aujourd'hui l'aromathérapie est répandue dans le monde entier et les connaissances de l'utilisation des plantes sont précises, de nombreux laboratoires travaillent sur la recherche de l'aromathérapie certifiée bio (Desramaux, 2018).

I.2.2. Définition

Une huile essentielle appelée également essence ou l'huile volatil est définie comme étant un produit de composition généralement assez complexe, renferment les principes volatiles contenue dans les végétaux (Pharmacopée française 1965).

Les huiles essentielles sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale ces mélanges passant avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un

courant de vapeur d'eau (Mane Claud, 1992)

Une huile essentielle comme étant un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, qui peut être obtenue par distillation, comme à titre d'exemple l'entraînement à la vapeur d'eau, et qui sera ensuite séparé de la phase aqueuse par des procédés physiques (AFNOR 1990).

I.2.3. Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles se rencontrent dans les familles des plantes à haute teneur en matières odorantes comme les lamiacées, conifères, rotacées, myrtacées, ombellifères (Bernard et Cool, 1988).

Souvent, on distingue deux types de dépôt des huiles essentielles dans les végétaux. Il s'agit des dépôts endogène et exogène.

➤ Le dépôt exogène

C'est un dépôt à la surface de l'organe de végétale qui produit l'huile essentielle durant la végétation donnant l'odeur caractéristique de végétal (Kekuil et Lehb, 1966).

➤ Le dépôt endogène

C'est un dépôt à l'intérieur des organes du végétal, constitué des cellules mortes ou vivantes (Kekuil et Lehb, 1966).

Bien que toutes les parties de la plante puissent produire des essences celles-ci, s'accumulent de préférence dans un organe déterminé tel que : les fleurs, les feuilles... (Gueorguiv, 1980).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées, localisées à proximité de la surface de la plante.

Les huiles essentielles sont produites dans les cellules sécrétrices, ou souvent dans des organes sécréteurs tel que les poils, les poches, les canaux sécréteurs (Berigaud, 2002).

Les poils sécréteurs peuvent être externes comme dans un bon nombre de lamiacées ou bien internes comme le cas de l'eucalyptus (myrtacées). (Loit et Goris, 1942).

I.2.4. Caractéristiques et propriétés des huiles essentielles

➤ Caractéristiques organoleptiques des Huiles essentielles

Les huiles essentielles ont des propriétés organoleptiques, caractéristiques d'une substance qui sont perceptibles par les organes des sens l'odeur, l'aspect, la couleur (Guerrouf, 2017).

La couleur : généralement incolore ou jaune pâle à l'exception de quelque huile essentielle

telle que l'huile de l'Achillée et l'huile de la matricaire. Ces dernières se caractérisent par une coloration bleu à bleu verdâtre, due à la présence de l'azulène et du chamazulène (Lamamra, 2007).

L'odeur : les huiles essentielles sont aisément remarquable par leur odeur qui peut être très agréable (lavande, romarin...), ou repoussante (barbote dite « fétide »). (Rahmouni, 2014).

L'aspect : les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont solubles et liposolubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînaient à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau. Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau (Lakhdar, 2015).

➤ Propriétés physico-chimiques et médicinales des huiles essentielles

Les caractéristiques organoleptiques ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques. Les huiles essentielles sont caractérisées par leurs propriétés physiques (densité relative, indices de réfraction) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide), (Yaacoub et Tlidjane, 2018).

Les huiles essentielles forment donc un groupe homogène du point de vue de leurs propriétés physiques. Par contre, elles sont par leurs constitutions chimiques, le groupe le plus hétérogène qui existe (Benbouali, 2006 ; Raymond, 2005). Beaucoup d'huiles essentielles ont des propriétés médicinales qui ont été utilisées en médecine traditionnelle depuis des temps très anciens et qui sont largement répandues toujours aujourd'hui par exemple :

L'huile essentielle de clou de girofle : analgésique puissant, très utile en art dentaire.

L'huile essentielle de lavande officinale : employée en aromathérapie comme antiseptique et pour un certain nombre d'usages médicaux.

L'huile essentielle d'arbre à thé : Antiseptique de large spectre.

L'huile essentielle de menthe poivrée : utilisée contre les maux de tête.

I.2.5. Composition chimique des huiles essentielles

Elles sont un mélange, complexe et éminemment variable, de constituants qui appartiennent de façon quasi-exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques, distinctes : les terpènes volatils et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Bruneton, 1999).

Tous ces composés existent sous forme d' hydrocarbures ou de dérivés oxygénés : alcools, aldéhydes, cétones, oxydes, estères (Paris et Hurabielle, 1981).

➤ **Les composés terpéniques**

Les mono terpènes (C₁₀H₁₆) : sont issues du couplage de deux unités « isopréniques ». Ils peuvent être acycliques (Myrcènes, ocimène), monocyclique (p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène), ils constituent parfois plus de 90% de l' huile essentielle (Bruneton, 1999). Ce sont des composés (figure 1) :

- Anti-infectieux, bactéricides, virucides, fongicides.
- Stimulent les glandes à mucines (décongestion des voies respiratoires).
- Utilisés dans les pathologies ORL.
- Antalgiques cutanés, lors de douleurs localisées.
- Excellents immunostimulants.

Toniques généraux (Laurent, 2017).

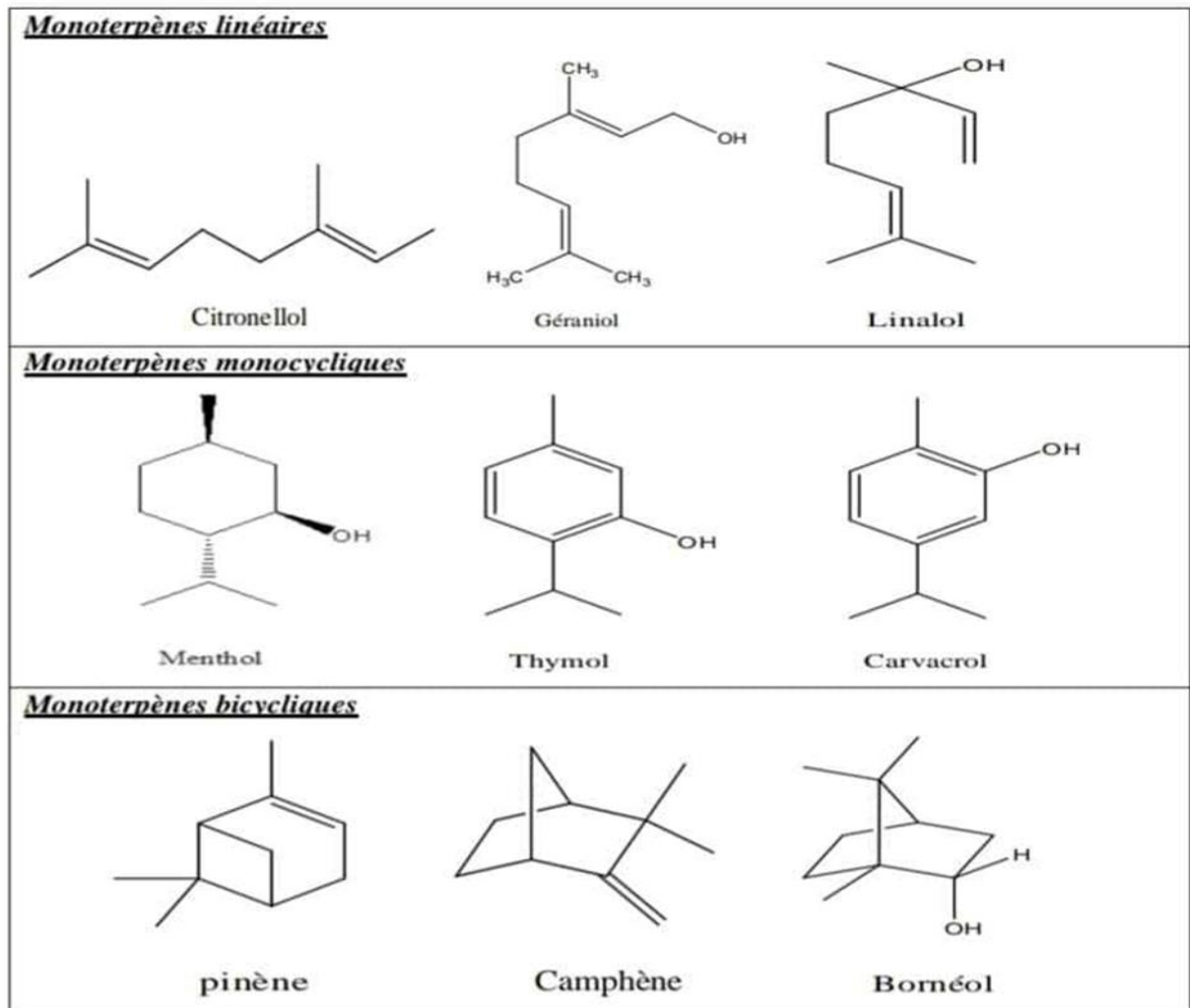


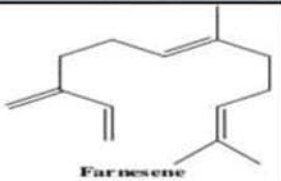
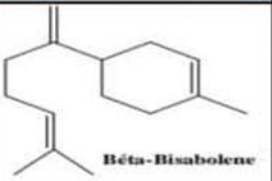
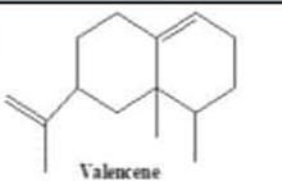
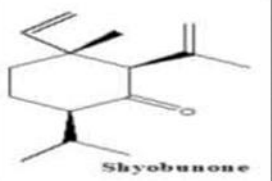
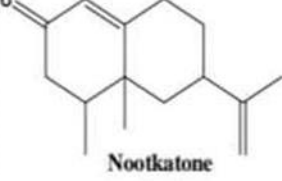
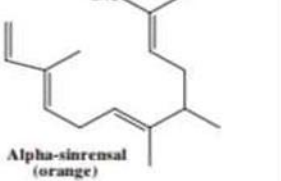
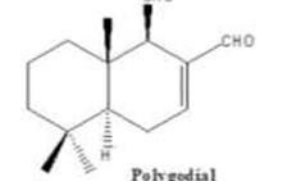
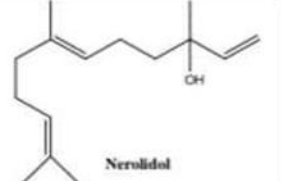
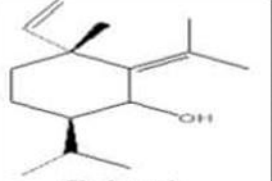
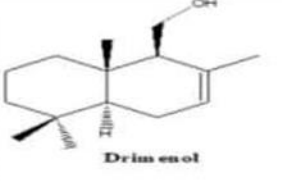
Figure 1 : Quelques exemples des composants mono terpènes (Calsamiglia et al., 2007)

Les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄) : un grand nombre de sesquiterpènes sont des constituants habituels des HEs des végétaux supérieurs attribués à ces fractions volatils (Bruneton, 1999).

Ils sont (tableau) :

- Antiseptiques et bactéricides.
- Puissants anti-inflammatoires.
- Utilisés dans les pathologies artériocapillaires.
- Antiallergiques.
- Antihistaminique chez certains asthmatiques (Laurent, 2017)

Tableau 1 : Quelques exemples de différents types de sesquiterpènes. (Calsamiglia et al, 2007)

Classe	Sesquiterpènes		
	Acyclique	Monocyclique	Bicyclique
Carbure	 Farnesene	 Béta-Bisabolene	 Valencene
Cétone	/	 Shyobunone	 Nootkatone
Aldéhyde	 Alpha-sinrenal (orange)	/	 Polygodial
Alcool	 Nerolidol	 Shybuol	 Drimenol

➤ Les composés aromatiques

Ces composés dérivent du phénylpropane (C₆-C₃), ils sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme : la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragol. Ils se distinguent entre eux par (figure) :

- Le nombre et la position des groupements hydroxyles, et méthoxy.
- La position de la double liaison de la chaîne latérale, allylique ou propénylique.
- Le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (Ouis, 2015).
- Ces composés aromatiques constituent un ensemble important, car ils sont généralement responsables des caractères olfactifs et organoleptiques des HEs (Hurtel, 2006).

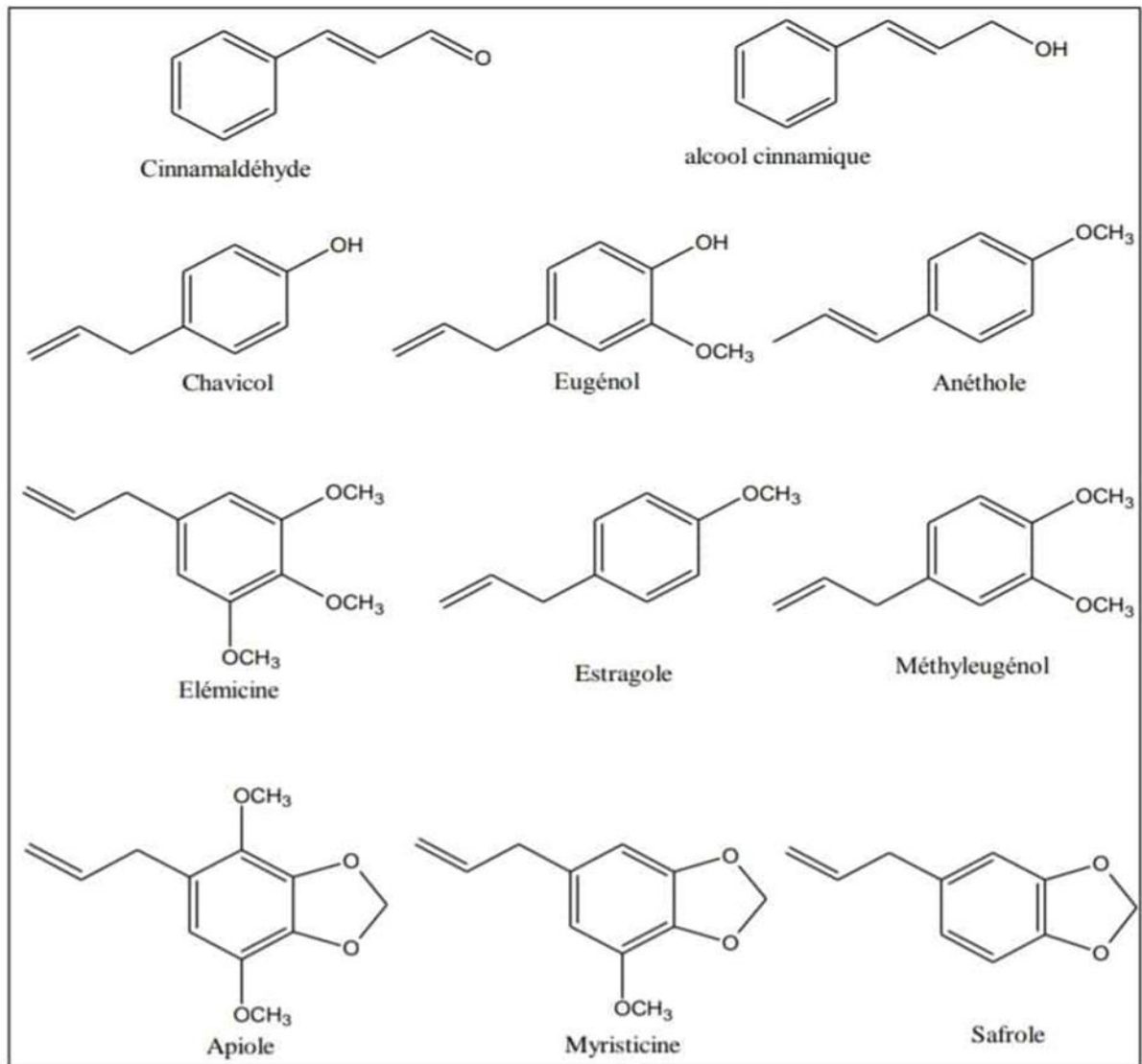


Figure 2: Structure chimique des quelques composés aromatique (Khenaka , 2011)

I.2.6. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles de bon qualité peuvent se conserver plusieurs années (trois années au moins) sous certaines conditions. A cause de leur évaporation rapide (les HEs sont volatils), leur sensibilité à l'air et à la lumière. Il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Stockage à l'abri de la chaleur et de la lumière. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, verre ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante (Valent, 1984 ; Salle, et pelletier, 1991).

I.2.7. Toxicité des huiles essentielles

Les études scientifiques montrent que Les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité, il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose

prise (Degryse et al, 2008). Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque comme tous les produits naturels ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme (Attou , 2017). Par leur composition chimique riche, les huiles essentielles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation aléatoire autonome, surtout que le consommateur est attiré par la facilité d'emploi de ces essences en absorption interne ou en application externe, en ignorant que certaines sont plus rapidement dangereuses que les autres. D'autres sont à éviter durant la grossesse, l'hypertension ou les affections dermatologiques (Atittallah , 2013).

I.2.8. Domaine d'application des huiles essentielles

En raison de leurs diverses propriétés, les HEs sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie, en alimentation, parfumerie et en cosmétique (Ouis, 2015).

➤ Santé : pharmacie et aromathérapie

Les huiles essentielles sont utilisées en aromathérapie, une branche de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles pour traiter un certain nombre de maladies. Beaucoup d'ouvrages décrivent des préparations à base d'huiles essentielles diverses prescrites pour le traitement de plusieurs maladies.

Cependant, ces prescriptions ne possèdent pas de bases scientifiques rigoureuses car elles sont souvent tirées de pratiques empiriques (Fine, 2010).

Plus de 40 médicaments sont à base de composants actifs de plantes, les essences issues des plantes sont utilisées avec une grande partie dans la préparation d'infusion (thym, menthe...), et sous la forme de préparations galéniques (Sallé, 1991). De même, elles permettent par leurs propriétés aromatisantes de l'odeur désagréable de médicaments absorber par voie orale, aussi beaucoup de médicaments vendus en pharmacie sont à base des HEs comme (les crèmes, les élixirs, les collyres...). Les HEs présentent des effets thérapeutiques sur certaines maladies pour les principales : analgésique, antalgique, calmants, anti-inflammatoire, anesthésique (Faucon, 2012).

➤ **Dentisterie :**

Grâce à leurs propriétés aromatisants et antiseptiques, les HEs ont été largement utilisées dans les bains de bouche conçus pour l'hygiène buccodentaire, les préparations à base de thymol, d'eucalyptol et du menthol sont parmi les plus utilisées depuis longtemps dans le monde, surtout ou États-Unis. Cependant, c'est juste en 1987 que les bains de bouche préparés à base des HEs ont été approuvés par l'association dentaire Américaine, attribué à leur efficacité antimicrobienne et leur sûreté (Benbelaid, 2015).

➤ **Parfumerie et cosmétologie**

Dans le domaine des parfums et cosmétiques, les HEs sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de Conservation du produit. Cependant leur utilisation surtout pour leurs caractéristiques odorantes en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse, sont utilisées, notamment dans la formulation de parfums, des produits d'entretien personnels ou ménagers domestique ou industriel (Aburjai et Natsheh, 2004).

➤ **Agro-alimentaire :**

Les huiles essentielles sont utilisés en industrie Agroalimentaire comme arômes ou épices alimentaire pour les boissons gazeuses ou alcooliques, les condiments, les confiserie, les produits laitiers, les produits carné, les produits de boulangerie (Bruneton, 1999).A consommation des HEs dans l'agroalimentaire suit la croissance de la consommation de produit préparés, en réponse à une demande croissante de produits naturels de la part des consommateurs à la mauvaise publicité faite aux consommateurs d'HEs et celui des boissons gazeuses, celle qui est la plus utilisées dans le monde pour agroalimentaire et celle d'orange douce (Garneau, 2005).

I.2.9.Méthode d'extraction des huiles essentielles

De tous temps, on connaît les vertus d'essence de plante et on s'efforça de les extraire depuis la plus haute antiquité. C' vers le 13ème siècle, en Europe, plus précisément dans le sud de la France, au royaume des parfums, que l'on à commencer à explorer diverses méthodes d'extraction de ces huiles volatiles (France- Ida, 1996)

I.2.9.1. Hydro-distillation

L'hydro-distillation simple consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare de la phase aqueuse par différence de densité (figure 3) (Djeddi, 2012).

Proposée par Grenier, 1891, l'hydro-distillation est la méthode la plus utilisée pour l'extraction des HEs, ce procédé permet non seulement d'isoler les HEs à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements (Garnero, 1976 ; Navesy, 1964). Cette méthode est surtout applicable dans le cas où l'échantillon résiste à une température d'ébullition son taux d'huile essentielle est élevé (Djeddi, 2012).

I.2.9.2. Hydro diffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée l'économie du temps, de vapeur et d'énergie, Fig. 24 (en annexe) (Roux, 2008).

I.2.9.3. Entraînement à la vapeur d'eau

À la différence de l'hydro-distillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Ce procédé consiste à récupérer l'HE des plantes en faisant passer à travers ces dernières un courant de vapeur d'eau. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel végétale, les cellules éclatent et libèrent l'HE qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + HE ». Ces vapeurs saturées en composés organiques volatils sont condensées et récupérées par décantation. 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'HE (Fig. 25) (en annexe) (Meyer-Warnod 1984).

I.2.9.4. Expression à froid

Le procédé est utilisé uniquement pour l'obtention des HEs contenues dans les zestes d'agrumes il s'agit d'un processus physique dans lequel les glandes à l'huile essentielle de la peau du fruit sont percées, broyées ou concassées mécaniquement afin de libérer l'essence.

Cette méthode est économiquement plus rentable que l'hydro distillation et permet d'éviter d'éventuelles dégradations thermiques (figure 26) (en annexe) (Venturini, 2012).

I.2.9.5.Enfleurage

L'enfleurage est une technique ancienne qui met en contact l'organe producteur (généralement la fleur) avec une graisse qui se sature en HE après quelques jours. On obtient alors des pommades qui sont utilisées telles quelles ou extraites par l'éthanol. Les extraits alcooliques aux fleurs ainsi obtenus sont appelés « absolues » figure 27 (en annexe) (Lardry et al, 2007).

I.2.9.6.Extraction par micro-onde

Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par micro-onde dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Ces procédés livrent un produit souvent de qualité supérieure par rapport à celui obtenu par l'hydro distillation (Mengel et al, 1993). Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation. Refroidissement et décantation. L'extraction par micro-onde fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée (figure 28) (en annexe) (Lucchesi et al, 2007).

I.2.9.7.Extraction par solvants

Certains procédés d'extraction ne permettent pas d'obtenir des HEs à proprement parler mais des concrètes. Il s'agit d'extraits de plantes obtenus à l'aide de solvants non aqueux. Ces derniers peuvent être des solvants usuels utilisés en chimie organique (hexane, éther de pétrole) mais aussi des graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par des corps gras) ou même encore des gaz. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des corps, des pigments, des acides gras et bien d'autres (figure 29) (en annexe) (Richard, 1992).

I.2.9.8.Extraction par dioxyde de carbone CO₂

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est

ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (figure 30) (en annexe) (Tenaet valcarcel, 1997).

I.3.Plantes médicinales

I.3.1.Historique

Depuis des milliers d'années, l'homme a cherché à se soigner avec des Végétaux (plantes, arbres, fleurs, ...). Pendant des siècles, voire millénaires, l'efficacité de cette médecine reposait sur des croyances, pour ne pas dire des mythes. Avec l'avancée de la science, notamment à la fin du 19ème siècle et pendant le 20ème siècle, il a été possible de commencer à prouver Scientifiquement l'efficacité ou non des plantes médicinales. Une partie importante de ces plantes n'a pas réussi à dépasser le stade de la croyance (on parle dans ce cas de médecine populaire), mais plusieurs plantes médicinales ont vu leur efficacité prouvée scientifiquement. C'est le cas par exemple du Origan, un puissant antiseptique ou encore du millepertuis, un antidépresseur en cas de dépression légère à modérée. Actuellement, de nombreuses études sont en cours à travers le monde (surtout dans les instituts de phytothérapie des facultés de pharmacie). (Creaphrma.2022)

Selon l'OMS, plus de 20000 plantes utilisées dans le monde pour ses propriétés médicinales, seulement 2000 à 3000 plantes ont été étudiées au niveau scientifique. (Topsante.2022)

I.3.2.Définition

Les plantes médicinales et l'herboristerie renvoient à des traditions de soins populaires, fondées sur des usages parfois millénaires. La valorisation des actifs végétaux est aussi à la source de la pharmacie moderne et porteuse d'avancées scientifiques dans des champs de plus en plus divers. Ancrée dans la tradition, tournée vers l'avenir, la « filière plantes » - de la production agricole à la commercialisation des multiples produits dérivés des plantes (tisanes, phytothérapie, compléments alimentaires, huiles essentielles, cosmétiques, etc.) (Joël LABBE.2017/2018).

Les plantes médicinales est une plante dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise, Larousse des plantes qui guérissent, (Ed. Larousse, 1974).

Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie. Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents. (Futura santé.2022).

I.3.3.Importance de l'utilisation des plantes médicinales

Il est acquis que les plantes médicinales sont en mesure de soigner des maladies simples comme le rhume, ou d'en prévenir de plus importantes comme l'ulcère, la migraine, l'infarctus en plus de certaines allergies ou affections. Si l'on y ajoute leurs vertus réparatrices, tonifiantes, sédatives, revitalisantes ou immunologiques, on mesure mieux l'aide précieuse qu'elles sont susceptibles de nous apporter au quotidien. (benarous.2022).

I.3.4.Les Plantes médicinales en Algérie

L'histoire de la botanique moderne en Algérie et Tunisie a commencé à la fin du 18^e siècle avec les explorations et les ouvrages de Poiret (Lettres de Barbarie) et de Desfontaines (Flora Atlantica). Avec la colonisation française, les explorations sont devenues intenses en Algérie entre le milieu du 19^e et le milieu du 20^e siècle au point que la flore du pays était la mieux connue d'Afrique du Nord, surtout dans l'ouest (Oran) et le centre (Alger).(Eroolvéla.2013).

Avec une superficie de 2 381741 km², l'Algérie est le plus grand pays riverain de la Méditerranée. Il est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays. Ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations, le plus souvent rurales. (Aquaprotail.2022).

I.3.5.La famille des lamiacées

Les Lamiacées sont des plantes vertes de la famille Lamiaceae chez les Lamiales. Avec plus de 7900 espèces, la famille est très diversifiée ; elle est géographiquement présente dans le monde entier, sauf dans les régions polaires et les déserts. Les lamiacées sont essentiellement représentées dans le pourtour de la Méditerranée et le Sud-Ouest de l'Asie et dans les forêts tropicales.

Un certain nombre de Lamiaceae abondent dans des groupements méditerranéens de sous-arbrisseaux odoriférants (garrigues et tomillares) : Thymus, Phlomis, Sideritis, Ziziphora, la mélisse, d'origanum floribundum etc. sont une grande famille naturelle constituée principalement de plantes herbacées et de sous-arbrisseaux. C'est une famille d'une

homogénéité très exceptionnelle : une Lamiaceae est très facile à reconnaître. Les huiles essentielles caractérisent cette famille. (Palnte botanique.2022).

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extrait à fort pouvoir antimicrobien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant. (DEHIMECHE .2017).

I.4.Description des plantes étudiées

I.4.1. *Mélissa Officinales*

I.4.1.1.Historique de la *Mélisse*

Parmi les nombreuses plantes aromatiques les plus connues, la mélisse a une place de choix dans les différentes pharmacopées existantes. Elle est connue depuis plus de 2000 ans, les Grecs et les latins l'utilisèrent traditionnellement pour ses vertus culinaires et médicinales contre les troubles de système nerveux (SPECK, URSULA et FOTSCH, 2009). Plusieurs médicaments aujourd'hui contiennent de la *Mélisse* officinale qui peut être administrés par voie orale. Traditionnellement, on utilise la *Mélisse* dans le traitement symptomatique des troubles digestifs (digestion lente, ballonnement épigastrique et flatulences) et dans le traitement symptomatique des états neurotoniques (troubles mineurs du sommeil) (AFSSaPS, 1998).

I.4.1.2.Définition de la *Mélisse*

Le nom de la *Mélissa Officinalis* vient du grec Méliissophulon qui signifie « feuille à abeilles » ; et aussi appelée « piment des abeilles ». Très recherchée par les abeilles ; Elle est traditionnellement utilisée pour ses propriétés apaisantes sur le système nerveux et le système digestif, Elle est plus communément appelée citronnelle ou mélisse-citronnelle, bien que la véritable citronnelle (*Cymbopogon nardus*) soit une graminée asiatique. Les anglais la nomment lemon-balm et les allemands Zitronenmelisse ou Melissenraut. C'est une plante médicinale et aromatique (Kothe , 2007). Elle est également une plante herbacée vivace de la famille des Lamiacées ; avec des feuilles à l'odeur et la saveur citronnées.

I.4.1.3.Caractéristique botanique de la *Mélisse*

A. Description morphologique

La mélisse est une plante mesurant de 30 à 80 cm de hauteur. Elle présente des tiges dressées,

à section carrée, ramifiées velues (Babulka ,2005).

Les feuilles douces et velues sont 2 à 8 cm de long et soit en forme de cœur (Zargari, 1991). La surface des feuilles est grossière et profondément veinée, et le bord de la feuille est festonné ou denté (Turhan, 2006). , opposées, pétiolées et cordiformes, sont de couleur verte sur la face supérieure et vert pâle sur la face inférieure. Elles sont rugueuses au toucher et d'un aspect gaufré caractéristique. Les fleurs sont blanches ou rosées et en forme de cloche. Elles apparaissent au-dessous des feuilles et produisent un nectar très apprécié des abeilles, qui l'utilisent pour produire le miel. Les fruits sont des tétrakènes de couleur brune, contenant des graines luisantes brun foncé. (Babulka ,2005); La mélisse est une espèce à pollinisation croisée et a des fleurs parfaites complètes avec pétales. Deux étamines et quatre ovaires lobés formant 1 à 4 noix. Les graines sont très petites environ 1 à 1,5 mm longue. ovale de couleur brun foncé ou noir.

B. Classification de la *Mélisse*

- La classification Systématique de la *Mélisse officinalis* est la suivante : (Quezel et Santa, 1962-1963).

Tableau 2: Présente la classification de la *Mélisse*.

Règne	Végétale
Ordre	Lami ales
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Eu dicotylédone
Sous-classe	Astérides
Genre	<i>Mélissa</i>
Espèce	<i>Melissa officinalis</i>
La famille	Lamiacée

On note trois espèces : *officinalis*, *inodore* et *altissima*.

L'espèce *officinalis* est la plus utilisée en thérapeutique (Carnat et al., 1998).

Nom botanique : *Melissa officinalis* L (Figure 5).

Nom français : *Mélisse officinale*.

Nom anglais : Lemon balm.

C. Position systématique de la *Mélisse*

La *Mélisse* est un sous-arbrisseau en touffes, vivace. Elle est spontanée dans les bois et dans les broussailles en situation de mi-ombragée jusqu'à 1000m d'altitude ; les bords de chemins, le long des haies et de préférence dans les endroits humides et ombragés. C'est aussi une plante cultivée. Comme pour beaucoup d'autres lamiacées, l'aire de dispersion de la mélisse est extrêmement étendue, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranéennes.

Elle est répandue en Europe méridionale, au Proche-Orient, en Asie occidentale, en Afrique du Nord, très répandue en Algérie et est acclimatée en Amérique du Nord et en Argentine (Bartels, 1986) et (Bruneton, 1999) ; (BOULLARD, 2001). Elle croît à l'état subspontané dans presque toute la France, particulièrement dans les lieux frais du Midi, dans les Alpes, les-Pyrénées et même dans les environs de Paris (RAHTIYA et al, 2006). En Algérie, la mélisse officinale pousse de manière spontanée au niveau des ravins humides des montagnes du Djurdjura, des Babors et de Mouzaia (BELOUED, 2001). La mélisse est cultivée dans le monde entier : France, Allemagne, Italie, Roumanie, Bulgarie, Amérique du Nord (RAHTIYARCA BAGDAT et COSGE, 2006). Elle est cultivée depuis longtemps dans les jardins à cause de son odeur suave (TRUELLE, 2009). En Algérie, occasionnellement cultivée en Kabylie (BABA AISSA, 1999).

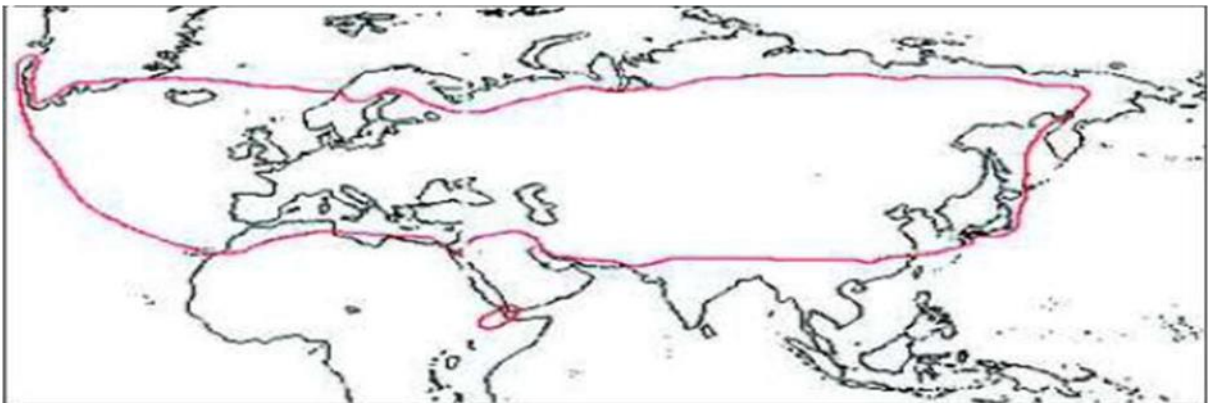


Figure 3: Distribution de la *Mélisse* dans le monde (Morales, 2002).

I.4.1.4. Propriétés de la *Mélissa*

De nombreuses études cliniques ont étudié les effets de la *Mélisse*. Dans ces essais de petite taille, les extraits de *Mélisse* ont été comparés à des placebos. L'une de ces études, effectuée avec de la poudre de mélisse sur une vingtaine de jeunes adultes en bonne santé, semble

suggérer un effet calmant, avec cependant une diminution de la vigilance et de la capacité de mémoriser. (Vidal, et al 2010).

L'application d'huile essentielle de *Mélisse* sur la peau contribue à diminuer les symptômes d'agitation. Un essai similaire portant sur 42 patients souffrant de la maladie d'Alzheimer a donné des résultats de même type, mais il est trop tôt pour en tirer des conclusions. Que l'application de crème à la mélisse sur les lésions diminue les symptômes et accélère la cicatrisation. En revanche, la mélisse ne semble pas efficace sur les lésions d'herpès génital. Paradoxalement, peu d'études cliniques existent sur l'efficacité de la mélisse contre les maux de ventre (vidal et al, 2010).

A. Utilisation interne

Traitement des troubles nerveux : stress, crise de nerfs.

Effets antispasmodiques : spasmes de l'estomac et du colon.

Problèmes cardiaques : tachycardie.

Troubles gastriques : excès d'acidité de l'estomac.

Améliore la circulation sanguine : distension ou contraction des vaisseaux.

B. Utilisation externe

Lutte contre les infections virales : Herpès labial et génital, zona, névralgies et blessures.

Relaxation des muscles et des nerfs : muscles et nerfs tendus (Blumenthal, et al ; 2000).

I.4.1.5. Caractéristiques de l'huile essentielle de la *Mélisse* :

Selon BARDEAU (1976) et SALLE (1991) l'essence de la mélisse est incolore, elle est faiblement jaunâtre quand elle est rectifiée ; elle dégage une odeur très fine et agréable rappelant celle du citron, elle est de saveur chaude et légèrement amère ; l'huile essentielle obtenue à partir de la plante fraîche est de densité $d=0,924$, son pouvoir rotatoire est de -15° . La mélisse produit une faible quantité d'huiles essentielles, elle varie de 0,02 – 0,32 % du poids sec (CARNAT et al., 1998), mais son prix est élevé, car 100 Kg de la mélisse fraîche donnent 20g d'essence, avec 0.12 à 0.15 % en frais et 0.10% en sec selon le procédé choisi.(GILLY,2005). Dans le commerce souvent l'huile essentielle de la mélisse n'est pas authentique, elle fait l'objet de reconstitutions à base d'essences diverses (citrus, andropogon); cette préparation devrait être indiquée, dans tous les cas, par les fournisseurs (BARDEAU, 1976). Selon des études faites en France par CARNAT et al. (1998) sur l'infusion de la mélisse et en Turquie (Ankara) par BAHTGYARCA BAĞDAT et COĞGE

(2006) sur l'huile essentielle de la mélisse obtenue par hydro distillation des parties aériennes fraîches ou séchées, les principaux composés de ses huiles sont le citral (33%) (Représenté par les deux stéréo-isomères : neural et géraniale), le caryophyllée et le citronellal (39%); d'autres composés y sont présents en petites quantités (0.2-0.18%) tels que le germa cène, l'ocimène, le citronellol, l'oxyde de caryophyllée, l'acétate de néral, le linalol, et le géraniol. Divers travaux (CARNAT et al., 1998; ROZZI et al., 2002 ; SADRAEI et al, 2003) ont montré que la composition de l'huile essentielle de mélisse varie selon les différentes techniques d'extraction (hydro distillation et extraction au CO2 supercritique).

I.4.2. *Origanum floribundum*

I.4.2.1. Historique d'*Origanum floribundum*

Le terme origan provient du latin *Origanum*, lui-même issu de grec *Origanon*. Le terme français apparaît au XIII^{ème} siècle. (Dubois et al. 2005).

Le nom de *l'Origan* est dérivé des mots grecs Oros Ganos qui veulent dire « ornement des montagnes » ou « joie des montagnes ». L'origan était autrefois également appelé herbe porte bonheur. (Adam, Géraldine., Wittner, Laurence. et Mandigon, Catherine., 2003).

Les membres du genre sont principalement distribués le long des pays méditerranéens, ainsi que dans de nombreux pays d'Europe et d'Asie. Tandis que 75 % d'entre eux sont limités à la Méditerranée orientale, seulement quelques espèces existent dans la partie occidentale de la Méditerranée (Skoula et al, 1999). (Figure 4).

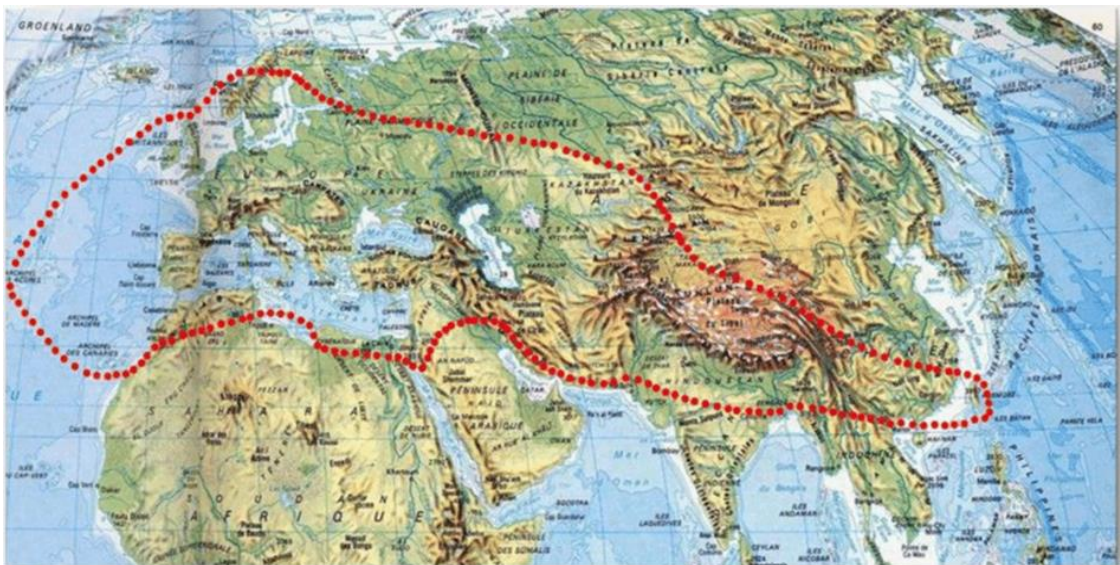


Figure 4: Aire de répartition du genre *Origanum floribundum* (Figueredo, 2007)

Cette plante préfère des altitudes élevées de 400-1800 m dans le climat méditerranéen et dans

les endroits ensoleillés (Vasudeva et Goel., 2015 ; Hazzit, 2008 ; Sakkas et Papadopoulou, 2017).

Le nom vernaculaire d'*Origanum* est zaâter (زعتر). Cette plante est représentée par deux espèces : *Origanum glandulosum* et *Origanum floribundum*. Cette dernière est d'ailleurs une espèce endémique Algérienne. Selon la classification du genre établie par Ietswaart en 1980, les 02 espèces appartiennent aux sections IX *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* et VIII *Elongastipica*, (Ietswaart .1980).

Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement. Elle est représentée par trois espèces spontanées phylogénétiquement:

Origanum majorana et *Origanum vulgare* ssp *glandulosum* Desf en démiq ue Algéro tunisienne.

Origanum floribundum en démiq ue Algérienne. (Ietswaart .1980).

I.4.2.2. Définition d'*Origanum floribundum*

- L'origan appartient à la grande famille des *Lamiaceae* de Dicotylédones. Le genre *Origanum* inclut des arbustes nains, des plantes annuelles, bisannuelles ou vivaces hermaphrodites qui se reproduisent dans les zones chaudes et montagneuses (Boulaghmen.2012).
- *L'Origanum* était l'une des plantes majeures de l'antiquité, qui est connu largement dans le monde des herbes pour ses huiles volatiles (Sari, 2018). La plupart des espèces d'origan sont aromatiques (Vasudeva et Goel., 2015) .

L'Origanum est une herbacée vivace, au feuillage et aux fleurs très odorants quand on les froisse. Elle est ainsi reconnaissable à son odeur et à sa saveur phénolée, épicée et chaude (Arvy et Gallouin, 2003 ; Teuscher et al, 2004).

Le genre *Origanum* se compose de 43 espèces et 18 hybrides disposés en trois groupes et 10 sections (Krishnakumar et Potty., 2012). Ce genre comprend plusieurs espèces, des sous espèces, des variétés et des hybrides (Amar et El Wahab., 2013). *L'origanum* peut être distingué par caractères morphologiques (longueur de la tige, arrangement, nombre et longueur des branches, formes des feuilles,...) (Kintzios, 2002).

Les égyptiens se servaient de l'*Origanum* pour embaumer leurs morts et apaiser les dieux, tandis que les anciens grecs, dans leur croyance tiennent la plante comme un symbole de joie et couronnent les jeunes mariés avec des sommités fleuries d'*Origanum* ; durant le moyen âge

en Pologne, *l'Origanum* était considéré comme protecteur contre les maladies (Eberhard T., Robert A. Annelise, L., 2005).

I.4.2.3. Caractéristique botanique d'*Origanum floribundum*

A. Description morphologique

Le genre *Origanum* est constitué de plantes herbacées ou semi- ligneuses à la base. Il mesure de 25 à 85 cm de haut (Carlier, 2005). .L'origan est un mini arbuste pérenne, à port dressé ou étalé. Les feuilles sont de forme ovale, pétiolée, contenant des poils glandulaires à leur surface. Ces glandes s'étendent également sur la tige et sur les bractées. Les fleurs sont hermaphrodites, petites de 5mm de longueur environ, aux pétales de couleur rose, pourpre avec des lèvres sensiblement égales (Quezel. et Santa, 1963). Les étamines sont en nombre de 4, elles sont exsertes, droites, écartés et divergentes. Les deux étamines inférieures sont un peu plus longues (Rodet,1872),.les fleurs sont groupées en panicule (corymbe) au sommet de la tige et des rameaux.

Le genre *Origanum* est constitué de plantes herbacées ou semi- ligneuses à la base. Il mesure de 25 à 85 cm de haut (Carlier, 2005). .L'origan est un mini arbuste pérenne, à port dressé ou étalé. Les feuilles sont de forme ovale, pétiolée, contenant des poils glandulaires à leur surface. Ces glandes s'étendent également sur la tige et sur les bractées. Les fleurs sont hermaphrodites, petites de 5mm de longueur environ, aux pétales de couleur rose, pourpre avec des lèvres sensiblement égales (Quezel. et Santa, 1963). Les étamines sont en nombre de 4, elles sont exsertes, droites, écartés et divergentes. Les deux étamines inférieures sont un peu plus longues (Rodet, 1872),. Les fleurs sont groupées en panicule (corymbe) au sommet de la tige et des rameaux.

Les inflorescences sont en épis, réunis eux même en inflorescences composées, entourées de bractées ovales imbriquées de couleur rouge violet (Bezanger-Beauquesne.1980). Le calice est tubuleux à 5 dents courtes, parfois bilabiées, à lèvre supérieure émarginée et à lèvre inférieure trilobée.La floraison se prolonge de mai à octobre.

B. La classification systématique

La classification Systématique d'*Origanum floribundum* est la suivante : (Simpson, Michel, 2006)

Tableau 3: Représente la classification de *l'origanum floribundum*

Régné	Végétal
Sous régne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Embranchement	Spermatophyte
Sous embranchement	Angiosperme
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Sous classe	Asteridae
Famille	Lamiacée (labiatae)
Sous famille	Nepeitodeae
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum floribundum</i>
Ordre	Lamailes

C. Position systématique :

L'Origanum F pousse dans méditerranéenne à l'aptitude de pousser dans plusieurs pays d'Europe et d'Asie également, spécialement en Chine et en Inde (Ruberto et al., 2002) et les lieux secs et ensoleillés y compris en montagne (Goetz, Paul., Paris, Michel. et al., 2007), jusqu'à 1500-2000m d'altitude (Hernandez, 2005).

L'Origanum l préfère les terrains fertiles et meubles à tendance calcaire. Il supporte très bien la sécheresse et le froid (Rosenn. et Meudec, Gérard.2002).

- L'origan est une plante répandue en Algérie, elle est représentée par deux espèces : *Origanum glandulosum* et *Origanum floribundum*. Cette dernière est d'ailleurs une espèce endémique algérienne (Quezel et santa, 1963).

I.4.2.4. Principales utilisations d'*Origanum floribundum*

A. Utilisation comme épice

Différentes parties de la plante (feuilles, sommités fleuries) sont actuellement employée en industrie alimentaire en tant qu'épices. Elle est considérée comme étant l'une des épices les plus répandues dans la région méditerranéenne (Baser et al, 2000).

B. Utilisation pour son pouvoir biologique

En Algérie, communément appelé « zaâter », est une plante essentiellement médicinale qui jouit d'une grande ferveur populaire (Baba Aissa, 1990). L'huile essentielle d'origan possède un effet antiseptique, est légèrement tonique et digestive. Elle provoque la menstruation, apaise les nerfs, soulage les maux de tête et de dents, elle aide aussi à lutter contre les insomnies (Kepouche-Hammoun.2015-2016).

La sous-espèce *l'Origanum floribundum* est utilisée comme tisane par la population locale pour guérir plusieurs maladies telles que : rhumatismes, toux, rhume et troubles digestifs (Mahmoudi, 1990 ; Erdogan et Belhattab, 2010).

II.2.5. Huile essentielle d'*Origanum floribundum*

Les études menées sur la composition des HE de différentes *d'origan* .L'huile essentielle de la plante *d'Origanum floribundum* a été identifiée à 99,9% de ses composés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM). Elle est composée de 43 constituants dont Thymol à 38,3% représentant son chémotype suivi du p-Cymène et Terpinène à 24,4% puis du Carvacrol methyl ether à 3,5%, du Carvacrol à 1,8% et du β -Myrcene à 1,5%. Les sites de sécrétion et de stockage des huiles essentielles sont localisés au niveau des organes de la partie aérienne de la plante (tiges, feuilles et fleurs). (Boulaghmen , 2012).Les constituants chimiques de l'origan sont utilisés pour la classification des espèces du genre *Origanum* (Sari, 2018). Les composants, la qualité et le rendement de l'huile essentielle extraite des espèces *Origanum* montrent une grande variation selon la génétique de la plante, le stade végétatif, les procédés d'extraction et notamment les constituants de l'environnement et l'habitude de la plante (Chikhoun, 2007).

CHAPITRE II : Partie expérimentale

Notre stage pratique s'est étalé sur une période de 4 mois, de mars à juin 2022. Les différentes expérimentations ont été effectuées au niveau de :

- Parc national de Chréa station de Hammam Melouane: pour la récolte de la plante *Melissa officinalis* L et *Origanum floribundum*. poussant à l'état spontané au niveau de Hammam Melouane.
- La Société de Monsieur Chikhi Hamide Bio.extrapamal, cité Latraoui Ali N°01 Oued Alleug Blida 09014 : pour l'extraction des huiles essentielles selon le procédé d'extraction, par hydro-distillation.
- Centre de recherche et de développement (CRD) SAIDAL, El Harrach au niveau du laboratoire de microbiologie pour l'activité antimicrobienne.
- Laboratoire de pharmacie galénique et de pharmacognosie du département de pharmacie Blida.

II.1. Matériel et méthodes

II.1.1. Matériel

II.1.1.1. Matériel végétale

Le matériel végétal est constitué de plantes de *Melissa officinalis* (figure 5) et *Origanum floribundum* (figure 6) ; espèces herbacées appartenant à la famille des Lamiacées. Elles poussent en Algérie à l'état spontané.



Figure 5: *Melissa officinalis* L (Original2022)



Figure 6: *Origanum floribundum* (Original2022)

B. Région de récolte :

La zone d'étude de notre travail se situe dans les montagnes Hammam Melouane (W.Blida) à 50km d'Alger. Elle englobe la partie centrale du parc de Chréa (Figure 7), où pousse l'espèce *Origanum floribundum* et *Mélissa officinalis*.

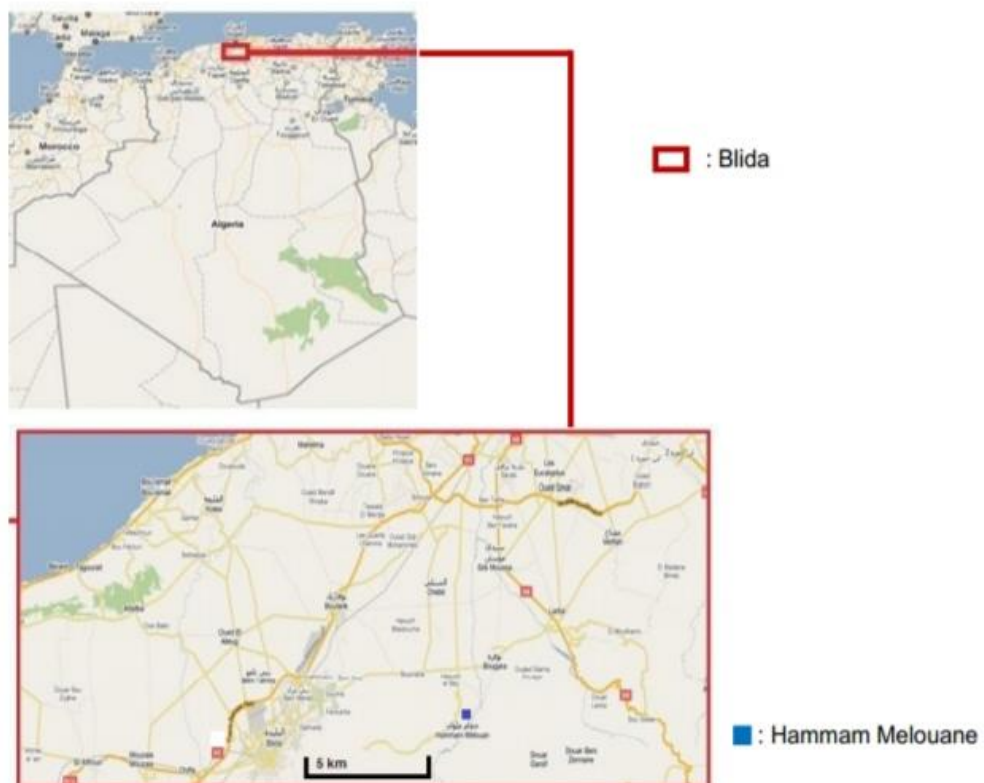


Figure 7: Localisation de la région d'étude. (Hamimiche,M)

C. Période de récolte

La Mélisse : la plante a été récoltée au stade avant la floraison le jour de 12 Mars 2022 à 12 :30 h (1^{ère} récolte), et le jour de 20 Mai 2022 à 14 :00 (2^{ème} récolte).

L'origan : La plante a été récoltée avant la floraison au mois d'Avril 2022.

D. Situations géographiques

La situation géographique est présentée dans le tableau ci-après :

Tableau 4: Coordonnées géographiques du site de récolte de *Mélisse officinalis* et d'*Origanum floribundum* (Hamimeche.M 2007)

Plant	Altitude	Latitude	Longitude
<i>La Mélisse Officinalis</i>	226 m	36°28'46.06'' Nord	3°02'51.05'' Est
<i>L'Origanum Floribundum</i>	950m	36°27' Nord	2°52' Est

II.1.1.2. Matériel microbiologique

A. Souches microbiennes testées

Les souches microbiennes utilisées proviennent de la collection ATCC (American Type Culture Collection) du laboratoire de microbiologie du CRD Saidal, le nombre retenu est de 06 souches dont 04 souches bactériennes (02 Gram+ et 02 Gram-), et 02 souches fongiques. (Tableau 5)

Tableau 5: Caractéristiques des souches microbiennes (CRD)

Nom de la souche	N°ATTC	Gram	Famille	Principale infection causée
Escherichia coli	8739	-	Enterobacteriaceae	Diarrhée dysentérique Gastro-entérites
Pseudomonas aeruginosa	9027	-	pseudomonadaceae	Camp abdominale Troubles digestifs
Bacillus subtilus	6633	+	Bacillaceae	Gastro-entérites
Staphylococcus aureus	6538	+	micrococcaceae	Gastro-entérites Infection urinaires L'ostéomyélite et l'arthrite
Aspergillus niger	10640		moniliacées	Diarrhée dysentérique Troubles digestifs
Candida albicans	10231		Cryptococcaceae	Lésions cutanées Infection œsophagiennes Infection génitale

B. Les milieux de cultures

Les milieux de cultures utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens à fin d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle *d'Origanum floribundum* et la *Mélissa officinalise* sont les suivants:

Pour les souches bactériennes nous utilisons le milieu Muller Hinton (MH).

Pour les souches fongiques le milieu Sabouraud.

II.1.1.3. Matériel de laboratoire

A. Appareillage d'extraction

Pour la réalisation de l'extraction des Huiles Essentielles des plantes étudiées, l'appareil utilisé est un hydro distillateur, présenté dans la (figure 8) ci-après :



Figure 8: L'appareil de la Hydro- distillateur (chez bioextrapamal, 2022)

Autres Equipements

Les autres équipements utilisés sont présentés dans le tableau 17 (en annexe) :

II.1.2. Méthodes

II.1.2.1. Récolte des plantes

Nous avons récolté des tiges feuillées de 30cm de long de *Mélissa officinalis* et l'*Origanum floribundum*. La récolte est réalisée vers 10 heures du matin. La température ambiante était de 23 °C, le ciel était dégagé. Les plantes étaient au stade de pleine végétation, avant floraison (absence de boutons floraux).

Après la récolte des plantes nous l'avons nettoyé des mauvaises herbes et de la boue, et les échantillons sont placés dans des sacs en papier en attente de l'extraction des huiles essentielles.

La quantité des tiges feuillées récoltée pour :

La *Mélisse* :

La 1^{er} récolte 6 kg de matières fraîches la plante a été séchée à l'ombre pendant 2 H et conservée jusqu'à l'extraction (figure 9)



Figure 9: *Mélissa officinalis* (1) (originale 2022)

➤ La 2^{ème} récolte 11.5 kg de matière fraîche (figure 10)



Figure 10: *Mélissa officinalis* (2) (originale 2022)

La quantité récoltée pour *l'Origanum floribundum* est de 12.5 kg (Figure. 11)



Figure 11: *L'Origanum floribundum* (originale2022)

II.1.2.2. Extraction des huiles essentielles

La méthode choisie est l'hydro distillation, c'est une technique qui permet d'extraire les huiles essentielles des tissus végétaux en les transportant par la vapeur d'eau. Nous avons fait cette méthode pour les deux plantes : la *Mélisse* (1^{ère} et 2^{ème} récolte) et *l'Origan*. (Figure 11)

Cette technique d'extraction repose sur la propriété physique des huiles essentielles d'être volatiles, c'est-à-dire facilement vaporisables et entraînées par la vapeur d'eau :

Protocole :

Le matériel végétal à distiller peut être utilisé aussi bien frais que sec.

La plante fraîche est privilégiée, récoltée au bon moment de la journée et dans son temps balsamique, c'est-à-dire lorsque la concentration en principes actifs au sein de la plante est maximale.

Le temps entre la récolte de la plante et sa distillation doit être le plus court possible, pour éviter l'altération et la dispersion de l'huile essentielle pendant le temps de stockage.

La plante, avant d'être placée à l'intérieur de l'alambic, doit être préalablement nettoyée des insectes, du matériel non adapté à la distillation et des mauvaises herbes.

Le passage de la vapeur, générée par l'ébullition de l'eau ajoutée en raison de 02 litres pour 01 kg de la plante, à travers la matière végétale, rend les parois cellulaires plus perméables, jusqu'à ce qu'elle se décompose et que l'essence s'échappe, qui, étant volatile, se vaporise.

Le mélange vapeur d'eau/essence est condensé dans un serpentín refroidi par une recirculation d'eau et ramené à l'état liquide, se séparant en huile essentielle et eau distillée (Hydrolat). L'huile essentielle se dépose en surface car elle a une densité inférieure à celle de l'eau.

L'eau recueillie est une eau aromatique puisqu'elle contient un faible pourcentage d'huile essentielle dissoute dans celle-ci et qui lui donne le parfum de la plante mise à distiller. Elle peut être utilisée en cosmétique, en cuisine, comme eau de repassage pour parfumer le linge.

Les huiles essentielles obtenues par distillation sont largement utilisées en parfumerie, dans la préparation de phyto cosmétiques, dans l'industrie agro-alimentaire comme aromatisant et pour leur action thérapeutique en aromathérapie.

La matière végétale de la *Mélisse* (1^{ère} récolte et séchée) (2 Kg) est immergée dans 6 litres d'eau distillée.

La matière végétale de *Mélisse* (2^{ème} récolte fraîche) (11,5 Kg) est immergée dans 22 litres d'eau distillée.

La matière végétale *d'Origan* (12.5kg matière fraîche) est immergée dans 24 litres d'eau distillée (figure 12).

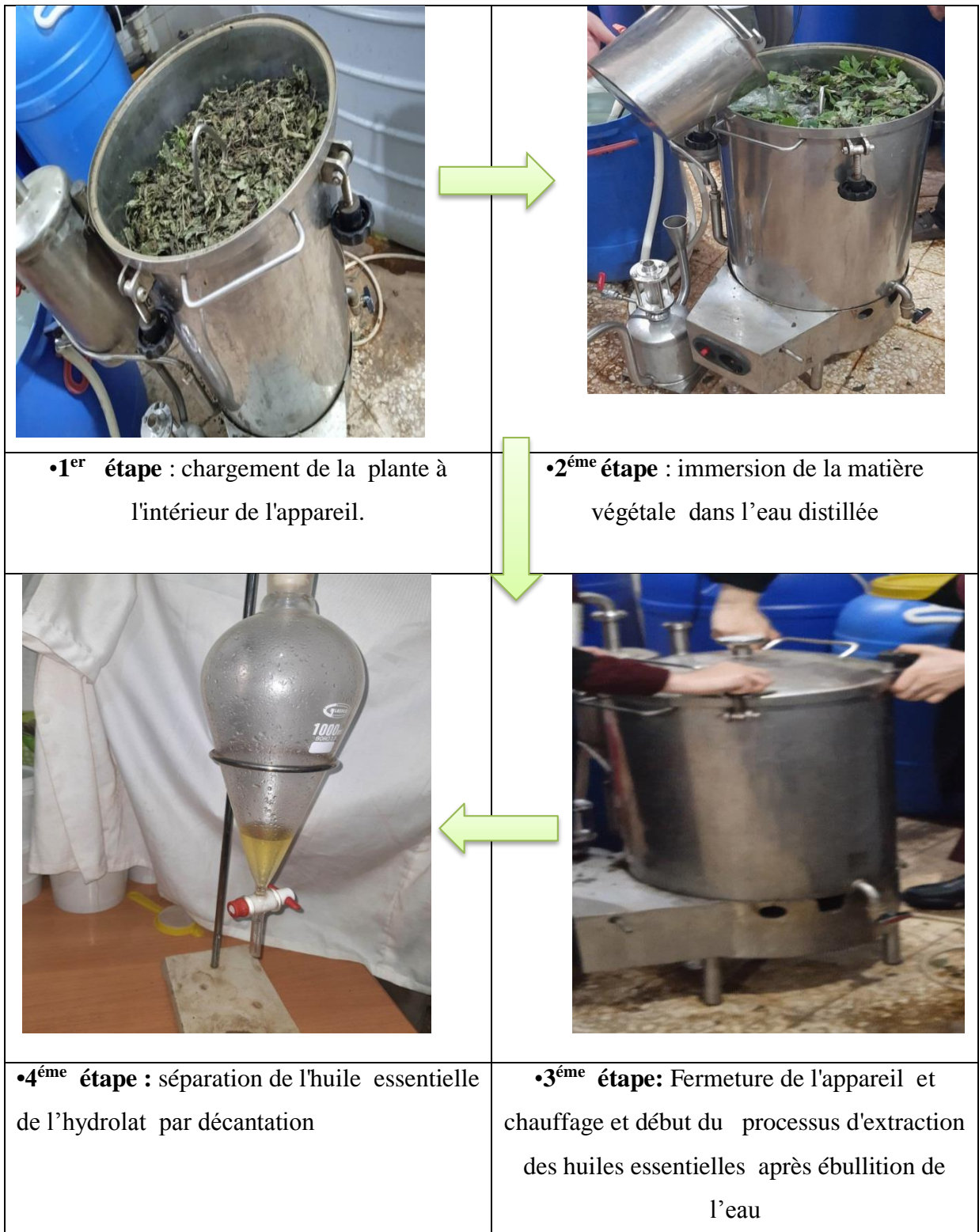


Figure 12: Schéma de technique d'extractions de la huile essentiel (original)

II.1.2.3. Calcul du rendement en huiles essentielles

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre le poids de l'huile récupérée (PHE) à Le poids de la plante aromatique et médicinale (PPAM), exprimées dans la même unité de poids multiplié par 100, comme suit :

$$R\% = (P_{HE} / P_{PAM}) \times 100$$

P_{HE} : Poids d'huile essentiel

P_{PAM} : Poids de la plante aromatique et médicinale

II.1.2.4. Caractérisation de l'HE d'*Origanum floribundum*

A. Caractérisation organoleptique

La caractérisation organoleptique de l'huile essentielle obtenue a porté sur trois volets :

L'aspect.

La couleur.

L'odeur.

B. Caractérisation physique

Tous les caractères physiques sont réalisés selon les normes AFNOR 2000.

➤ Densité relative à 20°C

Elle est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'HE à 20°C, à la masse d'un égal volume d'eau distillée à la même température. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est : d_{20} .

➤ Indice de réfraction à 25°C

Les mesure sont été effectuées à l'aide d'un réfractomètre de type Bellinghame. La détermination est effectuée à une température ($T^{\circ}\text{C}$) différente de 25°C, nous effectuons une correction à 25°C.

II.1.2.5. Caractérisation chromatographique

➤ Chromatographie sur couche mince (CCM)

Chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique d'analyse où les composants sont séparés. La CCM repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile (éluant) est un solvant ou mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixe (couche mince de matériel absorbant) fixée sur une plaque de verre ou sur feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

A. Plaque :

Sur une plaque au gel de silice pour CCM, nous avons tracé une ligne de dépôt à 1cm du bas de la plaque. Nous avons placé sur cette ligne deux marques bien espacées pour l'huile essentielle. A 20 cm de la première ligne, nous avons tracé la ligne de fin d'élution.

B. Phase mobile :

A l'aide d'une pipette, 8ml d'acétate d'éthyle ont été prélevés auquel 192ml d'hexane ont été ajoutés dans un bécher. Cette phase a été versée dans la cuve chromatographique qui a été fermée afin d'éviter l'évaporation des solvants.

C. Dépôt et développement :

Le dépôt de l'huile essentielle réalisé linéairement de façon ponctuelle avec une micropipette à usage unique, la pipette doit être posée perpendiculairement et prudemment sur la plaque pour ne pas la gratter.

La plaque a été placée verticalement dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs de la phase mobile : la ligne de dépôt doit être au-dessus du niveau du solvant. Puis on l'a fermée.

La phase mobile contenue dans la cuve monte le long de la plaque. Après 2h d'élution la plaque a été retirée et laissée sécher à l'air libre.

D. Révélation :

Elle a été faite à l'aide de la vanilline sulfurique. Après avoir pulvérisé la solution révélatrice, la plaque est chauffée à l'étuve pendant 6min.

E. Préparation du réactif de révélation :

Dans un bécher, dissoudre 0,25g de vanilline dans 25ml d'éthanol absolu. Homogénéiser la solution aux ultrasons. Ajouter 0.5 ml d'acide sulfurique.

F. Exploitation de la CCM :

La distance parcourue entre la ligne de dépôt et le centre de la tache est caractéristique de l'espèce chimique.

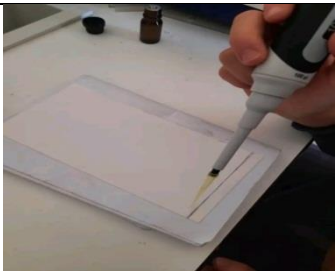
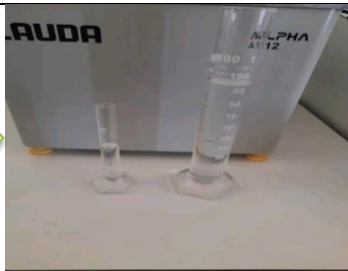
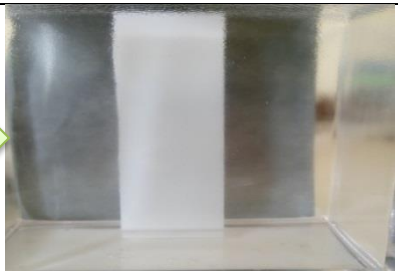



Le rapport frontal ou rate of flow (Rf) pour chaque tache observée a été calculé comme suit :

$$R_f = h/H$$

h : la distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tache.

H: la distance entre la ligne de dépôt et le front du solvant.

Tableau 6: Technique de la Chromatographie sur couche mince (CCM)

		
<p>1^{er} étape :Tracé une ligne sur une plaque a 1cm du bas , placé sur cette ligne 2 marque de l'huile essentielle</p>	<p>2^{ème} étape : La phase mobile: acétate d'éthyle +Hexane</p>	<p>3^{ème} étape : Place la plaque 2h dans une cuve en verre</p>
		
<p>6^{ème} étape : Lecteur de plaque</p>	<p>5^{ème} étape : Placé la plaque dans l'étuve</p>	<p>4^{ème} étape : Réactif de révélation : vanilline sulfurique+ acide sulfurique+ éthanol, pulvérisé</p>

II.1.2.6. l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Dans le but de mettre en évidence le pouvoir antiseptique de l'hydrolat de *Mélisse officinalis* et HE d'*Origanum floribundum*, nous avons utilisé deux méthodes qualitative et quantitative, en procédant à des tests sur une sélection de souches de référence bactérienne et fongique connues et la plupart d'elles qualifiées comme dangereuses pour l'homme et l'animal. Le principe des méthodes est mentionné dans titrage des ATB « Pharmacopée Européenne », les modes opératoires quant à eux, ont été approuvés par la directrice du laboratoire de Microbiologie du CRD-SAIDAL.

A. Etude qualitative de l'effet antimicrobien (technique de l'aromatogramme) :

L'aromatogramme ou méthode de diffusion sur milieu gélosé a été utilisé par (Pharmacopée Européenne, 2017)

➤ Principe :

La méthode des aromatoigrammes consiste à déposer un disque stérile en cellulose (diamètre : 9 mm) imprégné d'HE à tester, à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de pétri etensemencée avec le microorganisme testé. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (mm) de la zone claire autour du disque indemne de colonies (halo translucide) (Hadouhi et al, 2009), appelée : zone d'inhibition (Figure 13).

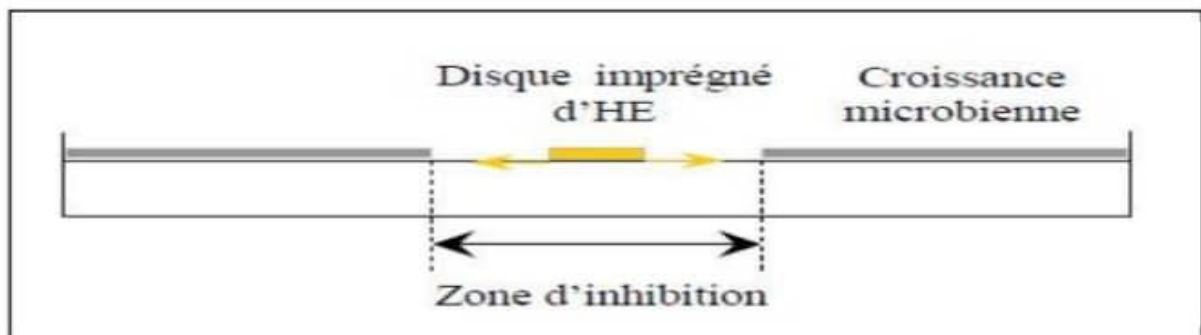


Figure 13: Principe simplifié de la méthode des aromatoigrammes (chikhoune, et al 2007)

➤ Protocole expérimental :

• Stérilisation du matériel :

L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans les préparations des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'étuve de stérilisation 121°C pendant 15 minutes (figure 14).

- **Repiquage des souches :**

A partir des tubes conservés des souches de référence repiquer chaque bactérie sur TSA et levure sur Sabouroud pour travailler avec une culture jeune. Incuber par la suite, les bactéries à 37° pendant 24h et les levures et les moisissures à 25° pendant 48h.

- **Préparation de l' inoculum :**

Pour les bactéries :

A partir d' une culture jeune de 18h, réaliser des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques, et les mettre dans 05 ml d' eau physiologiques stériles.

Agiter au vortex pendant quelques secondes.

Réaliser une lecture de la transmittance avec le spectrophotomètre à une longueur d' onde de 620nm et qui doit être entre (22%-32%), ce qui correspond à une concentration de 10^7 - 10^8 germes/ml.

La densité de *Staphylococcus aureus* (0,3-0,45).

La densité de *Bacillus .Subtilis*, *Pseudomonas Aeruginosa* .*Escherichia coli* (0,2-0,3).

Pour les levures :

A partir d' une culture jeune de 48h, réaliser des suspensions en prélevant colonies bien isolées et identiques, et les mettre dans 5 ml physiologiques stériles.

Agiter au vortex pendant quelques secondes.

Réaliser une lecture de la transmittance avec le spectrophotomètre à une longueur d' onde de 620nm et qui doit être entre (2%-3%) ce qui correspond à une concentration de 10^7 - 10^8 germes/ml.

Densité des levures (2-3)

- **Examen de l' échantillon :**

Préparation de la 1^{er} couche du milieu :

Faire fondre le milieu gélosé Muller-Hinton pour les bactéries et le sabouraud pour les levures dans un bain-marie à 95°C.

-Verser aseptiquement une 1^{er} couche dans les boites de pétri à raison de 15ml par boite avec 02 répétitions par souches.

-Laisser refroidir et solidifier sur la paille.

Préparation de la 2^{ème} couche du milieu :

Faire fondre le milieu gélosé Mueller-Hinton et la sabouraud dans un bain-marie à 95°C.

Baisser la température jusqu'à 45°C.

Remplir des flacons en verres stériles avec 50ml de Muller-Hinton pour les bactéries, et avec 25ml de sabouraud pour les levures pour chacun des souches.

Ensemencer les milieux de culture avec 100 µl de chaque suspension.

Agiter manuellement les flacons.

Transvaser rapidement 4ml de chaque milieu inoculé en 2^{ème} couche sur la surface des boites contenant déjà à 1^{er} couche de gélose.

Étaler rapidement en faisant pivoter la boite sur elle-même pour avoir une surface uniforme.

Laisser solidifier sur la paille.

➤ Dépôts des disques :

Prélever les disques stérile a l' aide d' une pince stérile.

Imbiber seulement le bout de ces disques par l' huile essentielle à étudier qui va être absorbé progressivement jusqu' une imprégnation totale de tous les disques par capillarité.

Déposer les disques sur la surface de la gélose.

Laisser diffuser pendant 30 minutes.

Incuber à 27° pendant 24h pour les bactéries, et à 25° pendant 48 h pour les levures.

• Expression des résultats :

L'évaluation qualitative des huiles essentielles et extrait naturelles de plantes est exprimée par la mesure des diamètres des zones d' inhibition obtenues après incubations pour chaque souches microbienne.

Non sensibles : diamètre < 8mm.

Sensibles : diamètre entre 8mm et 14mm.

Très sensibles : diamètre entre 14mm et 19mm.

Extrêmement sensibles : diamètre > 20mm (Ouis, 2015).

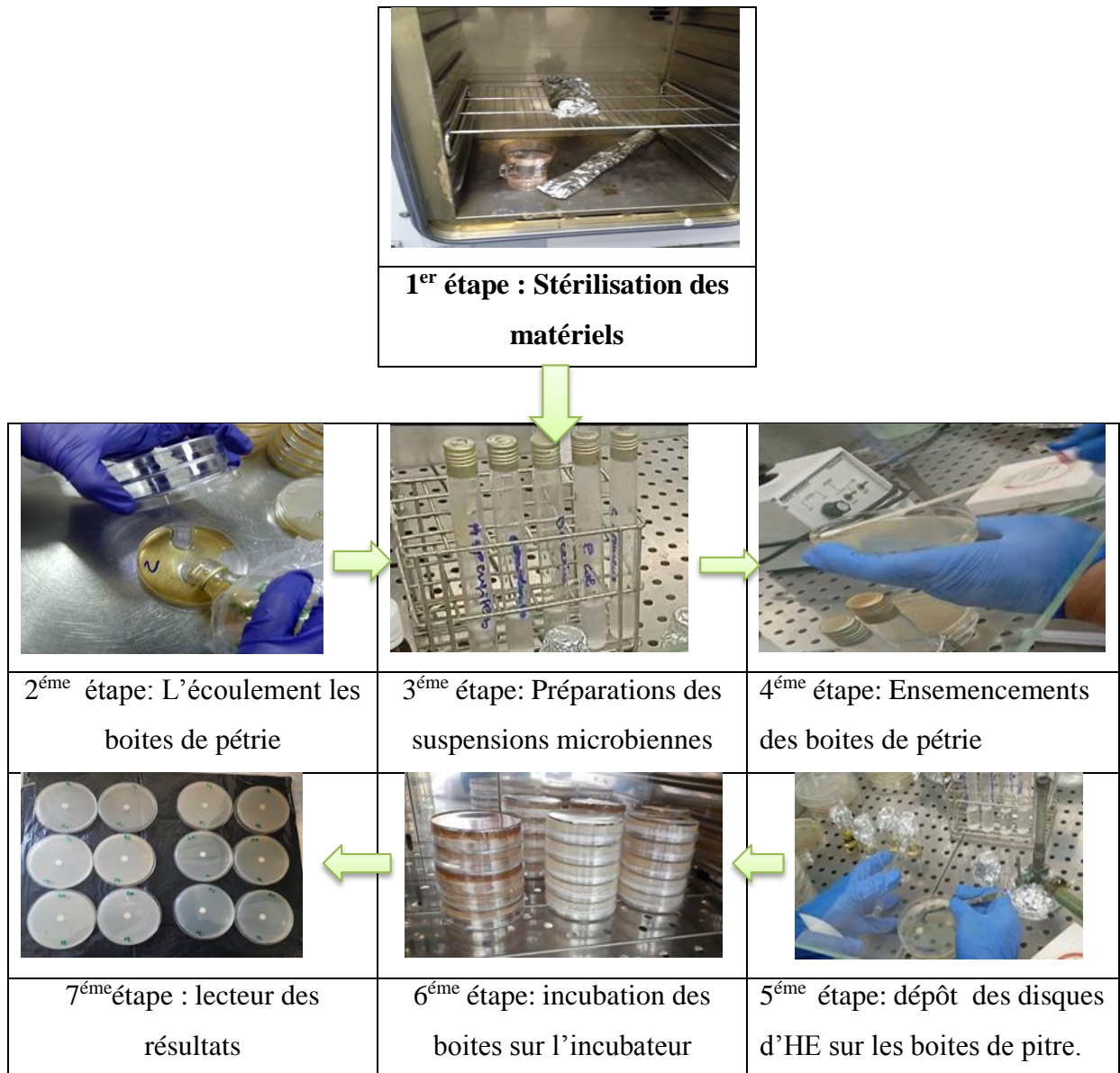


Figure 14: Technique qualitative de l'effet antimicrobien (technique de l'aromatogramme)

B. Etude quantitative de l' effet antimicrobien

L'évaluation quantitative de l'activité antimicrobiennes des HE s, consiste à déterminer la concentration minimale inhibitrice CMI sur les microorganismes testés (bactérie et levure) (Mohemmedi, 200

➤ **Détermination des CMI :**

Le principe consiste à effectuer des dilutions de l'HE dans le milieu gélosé solide MH pour les bactéries et SAB pour les levures, puis inoculer ce milieu avec les souches testées en utilisant des disques absorbants. Grâce à ces dilutions nous pouvons déterminer la plus faible concentration inhibant la croissance microbienne.

➤ **Le protocole expérimental retenu est le suivant :**

• **Préparation des dilutions de l'huile essentielle :**

Les huiles essentielles ont été dissous dans le tween 80 pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives au demi. Sachant que la concentration de la solution mère d'HE d'*Origanum floribundum* de chaque extrait est de 4ml (2ml d'huile essentielle + 2 ml de tween).

Nous avons réalisé une série de dilution allant (75% ,50% ,25 %,12.5 %,6.25%, 3,12%) à partir d' un mélange entre le tween et l' huile essentielle (Figure 15).

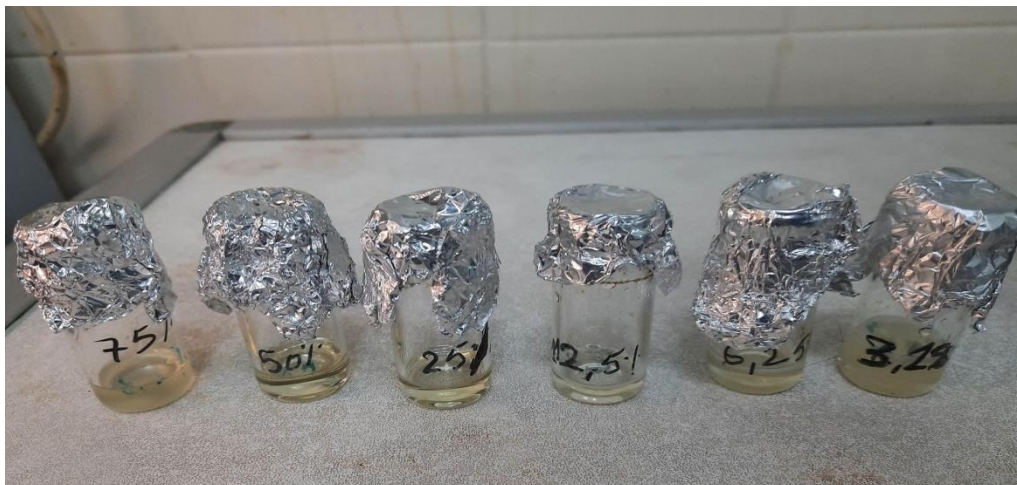


Figure 15: Préparation des dilutions de l'huile essentielle.

• **Préparation de l' inoculum :**

Les souches bactériennes sontensemencées dans la gélose nutritive et incubé à 37°C pendant 24h pour les bactéries et 25° pendant 48h pour levure et moisissure, pour optimiser leurs croissances. On racle à l' aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à testés. Décharger l' anse de platine dans 5ml d' eau physiologiques stériles.

- **Ensemencement et dépôt des disques :**

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube, l'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries sériées, l'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, l'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur tout la surface gélosée (5 boîtes pour chaque dilution : 3 pour les bactéries, 1 pour levure et 1 pour moisissure).

L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec la même souche. Les disques imprégnés dans les dilutions sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile (deux disques pour chaque boîte de pétri). Finalement les boîtes de pétri sont incubées 18h à 24h à 37°C pour les bactéries et 48h à 25°C pour les levures.

- **La lecture :**

La sensibilité des germes aux huiles essentielles est déterminée après incubation par mesure de diamètre des zones claires autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse.

Présence de zone claire autour du disque présence d'activité inhibitrice.

Absence de zone claire autour du disque absence d'activité inhibitrice.

Fortement inhibitrice : diamètre de la zone d'inhibition > 28mm.

Modérément inhibitrice : 16mm < diamètre de la zone d'inhibition < 28mm.

Légèrement inhibitrice : 10mm < diamètre de la zone d'inhibition < 16mm.

Non inhibitrice : diamètre de la zone d'inhibition < 10mm.

II.1.2.7. Préparation d'une crème à base d'une huile essentielle *Origanum floribundum*

A. Aspect macroscopique de formulation de la crème :

Aspect

Couleur

Odeur

B. Protocole de préparation une crème à base d'une huile essentielle *d'Origanum floribundum* :

Dans un premier temps, on pèse les composants eau et huile dans une balance analytique à l'aide de la spatule comme suit (Tableau 7) :



 Phase huileuse : Alcool cétylique. Alcool stéarylique	 Phase aqueuse: Eau Glycerol Laury de sulfate
---	---

Tableau 7: Les ingrédients de la formulation de crème

Les ingrédients	Alcool cétylique	Alcool stéarylique	Glycerol	L'eau	Laury de sulfate	L'huile essentielle
Essai	1.5g	3.5g	2.5g	41.75g	0.75g	0.5ml

On utilise 2 béchers dans chaque bécher qu'on met à phase Puis, à l'aide d'une plaque chauffante, on fait fondre les 2 phases à une température de 75 °C.




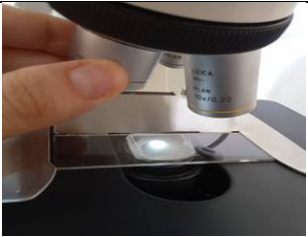


On met la phase huileuse dans la phase aqueuse et on forme une émulsion.

On laisse refroidir un peu, puis nous le mélangeons avec un agitateur à grande vitesse jusqu'à ce que nous ayons une crème blanche

A l'aide d'une pipette pasteur, nous portons 0,5 ml d'huile *d'Origanum floribandum* et le mettons à l'intérieur de notre crème et mélangeons à nouveau avec l'agitateur

Nous le mettons sous le microscope photonique à différents grossissements

Tableau 8: Technique de formulation de la crème(originale).

		
<p>1^{er} étape : pèse les ingrédients</p>	<p>2^{ème} étape : fondre les 2 phases dans une plaque chauffante</p>	<p>3^{ème}étape : à l'aide d'agitateur en mélange les 2 phases</p>
		
<p>6^{ème} étape : Observe un échantillon d'une crème par microscope photonique</p>	<p>5^{ème} étape : Déposé la crème dans les boites</p>	<p>4^{ème} Injecte 0,5 ml de HE et mettons dans la crème</p>

II.2.Résultats et Discussion

II.2.1.Rendement en l'huile essentielle

➤ *Mélissa officinalis* :

Nous avons récupéré une quantité de 0.2 ml à partir de 6kg de plante séchée le rendement de l'huile essentielle 0,02% et 0.5ml à partir de 11.5kg de la plante fraîche avec rendement 0,05% , par le procédé d'hydrodistillation de la plante récoltée dans la région Hammem Malouan Blida. Ce rendement très faible peut être expliqué par la faible pluviométrie et la période de récolte.

Cependant, ce rendement de l'HE très faible 0.01% est inférieur à celui obtenu pour la région kashan. Iran (Sadraei et al 2003) qui a obtenu un rendement de 0,1% ceci peut être expliqué par la différence des conditions climatiques et le type de sol

➤ *L'Origanum floribundum* :

Nous avons pu récupérer une quantité de 30ml d'HE à partir de 12,5 kg de plantes fraîche par le procédé d'hydro distillation à partir de la plante récoltée dans la région Hammem Melouan Blida (Figure 16). Cependant, ce rendement en HE est relativement moyen (0,20%) et demeure acceptable si on le compare à celui rapporté par (Baser et al 2000).



Figure 16: Flacon d'huile essentiel récupéré.

Pour *Origanum floribundum* de la région de Chréa Blida a obtenu un rendement de 0,66%, qui est supérieure au notre (Baser et al 2000). En effet, ce rendement peut être influencé par des paramètres intrinsèques (étapes de croissance) et extrinsèques comme (conditions


pédoclimatiques et méthodes d'extraction (Hamimeche, M.2007). Les facteurs abiotiques influençant ce rendement en HE sont la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents. Le vent exerce une influence directe chez les espèces qui possèdent des structures histologiques superficielles de stockage (cas de l'Origan).

II.2.2.Caractérisation de l'huile essentielle

Nous avons déterminé les caractéristiques organoleptiques, indices physique de l'HE d'*Origanum floribundum* :

II.2.2.1.Caractéristiques organoleptiques

Tableau 9: Caractères organoleptiques de l'HE d'*Origanum floribundum*.

Espèce	Aspect	Couleur	Odeur	Flaveur	photo
<i>Origanum floribundum</i>	Liquide limpide, mobile	Jaune pâle	Fortement aromatique	Phénolique épicée et Amère	
<i>Origanum</i> type Espagne(AFNOR2000)	Liquide mobile, limpide	Jaunâtre à brun foncé	Caractéristique, aromatique	Phénolique épicée	

Les paramètres organoleptiques de l'HE étudiée sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR (2000).

II.2.3.2.Indices physique

Nous avons déterminé les constantes physiques selon des méthodes normalisées (AFNOR, 2000. Les résultats de ces mesures sont regroupés dans le (tableau 10).

Tableau 10: Caractères physique de l'HE d'*Origanum floribundum*

Caractérisation Physique	Densité à 30°C	Indice de Réfraction 25°C
Résultats obtenus	0,9062	1,48
Normes AFNOR (2000)	0,93-0,95	1,50-1,51

Nous remarquons que les paramètres physiques de l'HE sont en accord avec ceux mentionnés par les normes d'AFNOR, (2000).

Les faibles indices de réfraction des HE (1,47-1,49) indiquent leur faible réfraction de la lumière. Cette constatation confirme nos résultats, ce qui pourrait favoriser leur utilisation dans les produits cosmétiques (Kango, C., Sawalihou, B.E-H., Kone, S., Koukoua, G. et N'Guessan, Y T.2004).

La détermination des propriétés physique est une étape nécessaire mais demeure insuffisante pour caractériser l'HE. Il est primordial de déterminer le profil chromatographique de l'HE qui est l'identité de l'HE.

II.2.4.Caractérisation chromatographique

➤ Chromatographie sur couche mince (CCM) :

Résultats de cette étude : Les résultats de la CCM démontrent quatre taches distinctes sur la couche de silice, malheureusement nous n'avons pas pu identifier en raison de l'absence de substances étalons (Figure 17).



Figure 17: Photo de la CCM

Le chromatogramme présente une bande bleu-violet de Rf voisin de 0,10, une bande jaune violacée de Rf voisin de 0,20, une bande grisâtre de Rf voisin de 0,5 et une bande bleu-gris de Rf voisin de 0,90.

En comparant avec les données de bibliographie, la tache dont le Rf est 0.90 peut correspondre au p-cymène, la tache dont Rf voisin de 0.5 peut correspondre au carvacrol. La composition de l'huile essentielle en général aurait pu être déterminée plus précisément si nous disposions des témoins adéquats. Toutefois, cette analyse par CCM nous permet d'avoir une idée sur la composition probable de l'huile essentielle et nous a permis de définir le meilleur système d'élution et même d'aboutir à une meilleure séparation.

II.2.5. Activité antibactérienne

II.2.5.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne d'hydrolat de *Mélissa officinalis*

Les résultats de l'étude qualitative de l'activité antimicrobienne sont présentés comme suit (tableau 11) :

L'activité antimicrobienne de l'hydrolat de la *Mélisse* montre que celui-ci n'a aucune inhibition de la croissance d'*Escherichia coli* (00 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (00mm), *Bacillus subtilis* (00mm), *Staphylococcus aureus* (00mm).

Ceci s'applique également aux levures où n'y pas d'inhibition dans les deux souches *Candida albicans* (00m) et *Aspergillus niger* (00mm).

Ainsi, l'hydrolat de la *mélisse* n'a pas la capacité d'inhiber la croissance des bactéries et levures donc l'hydrolat n'exerce aucune activité inhibitrice « Non sensible » sur les germes étudiés. Ce qui montre que le principe actif est aussi absent au niveau de ces solutions (Fig 18).

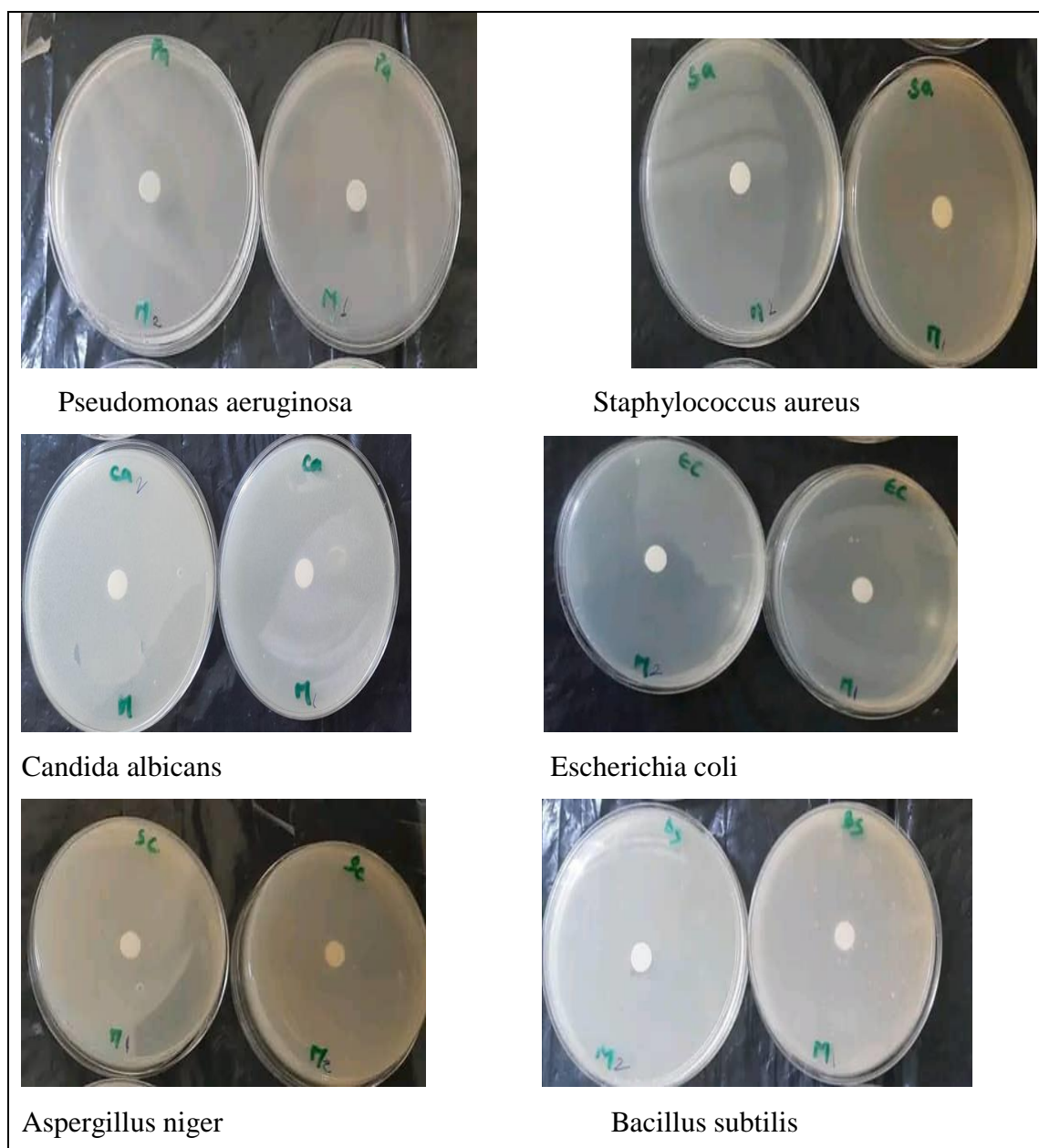


Figure 18: Zones absence d'inhibitions de l'HE de la Mélisse testée sur des micro-organismes

II.2.5.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne d'HE d'*Origanum floribundum*

Nous avons réalisé une étude qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne comme suit :

II.2.5.2.1. Etude qualitative de l'activité antimicrobienne

- Les résultats obtenus relatifs aux diamètres des zones d'inhibition par l'HE en utilisant le test de l'aromatogramme sont groupés dans l'Appendice (tableau 12)

II.2.5.2. Résultats de l'activité anti- microbienne de *l'origan*

- les bactéries :
 - Bacillus subtilis : extrêmement sensible
 - Escherichia coli : Staphylococcus aureus elles très sensibles
 - Pseudomonas aeruginosa : non sensible
- les levures :
 - Candida albicans, aspergillus niger : extrêmement sensibles

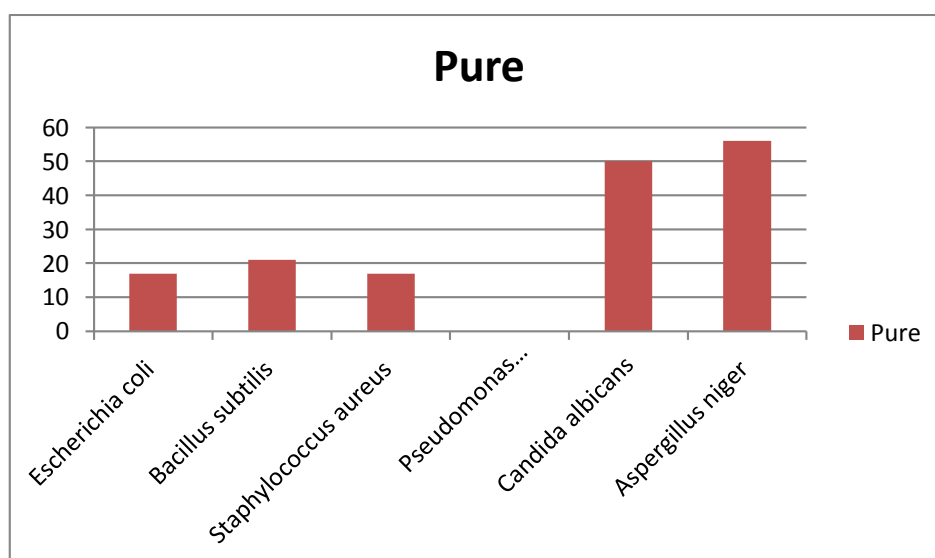


Figure 19: Histogramme de l'activité antibactérienne d'*Origan*

Les résultats obtenus montrent que l'HE d'*Origanum floribundum* a une activité antimicrobienne importante vis-à-vis des souches testées sauf pour *Pseudomonas aeruginosa* (figure 19) :

- Dans le cas des bactéries Gram –, nous remarquons que l'HE a inhibé la croissance d'*Escherichia coli* (17 mm).
- Parmi les bactéries Gram +, c'est *Staphylococcus aureus* qui a montré une inhibition de croissance moyenne (17mm). Cette bactérie est pathogène pour l'homme. Elle est à l'origine d'intoxications alimentaires. La croissance de *Bacillus subtilis* a présenté une inhibition moyenne de 21mm.
- En ce qui concerne les levures, c'est *Aspergillus niger* qui a montré la plus forte sensibilité vis-à-vis de l'HE avec un halo d'inhibition de 56mm supérieure à *Candida albicans* (50mm) et à toutes les bactéries étudiées, ce qui est intéressant du fait que cette levure cause de nombreuses infections chez l'homme.

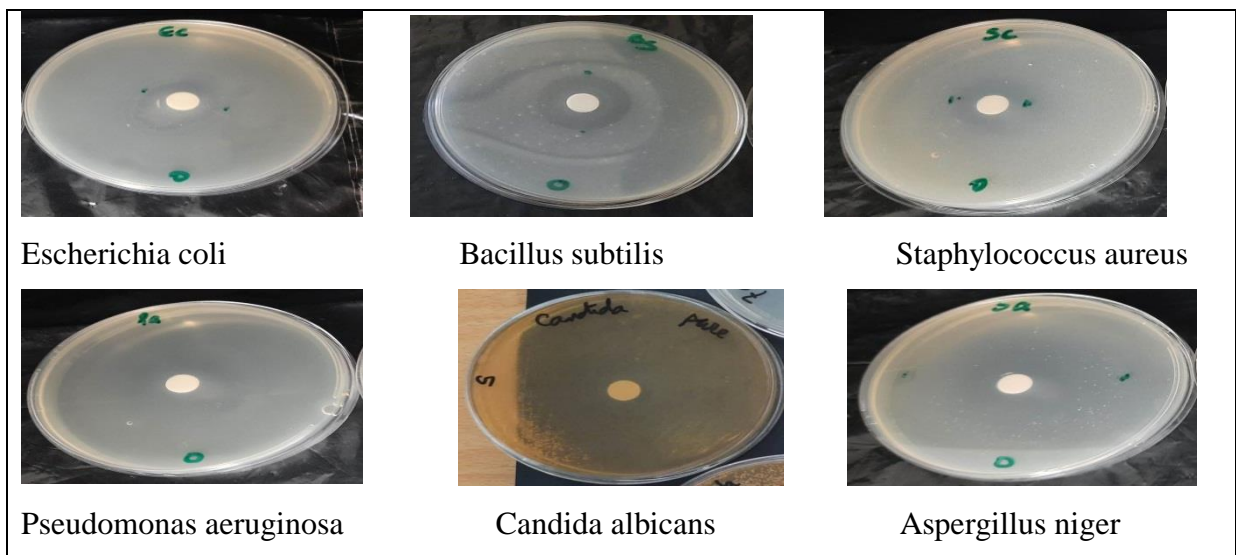


Figure 20: Zones d'inhibitions de l'HE d'*Origanum floribundum* testée sur des bactéries Gram – Gram + et les levures.

D'après les valeurs représentés dans le tableau selon l'échelle citée par Hazzit, M (Chrèa) et Kaci, M et Alloun, K (Kadiria), nous constatons que :

- L'huile essentielle de l'*Origanum floribundum* de Kadiria et de Chrèa à une activité fortement inhibitrice sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* et *Pseudomonas aeruginosa* par rapport à nos résultats qui présentent des zones d'inhibition différents.
- Nous constatons que tous les souches microbiennes ont montré un certain degré de sensibilité de huile essentielle étudié, d'où l'importance d'utiliser l'huile essentielle d'Origan comme l'antibiotique de choix pour le futur surtout qu'il est naturel, à large spectre et ne provoque pas des résistances.

La différence des résultats avec ceux rapportés dans la littérature est due aux problèmes rencontrés tels que :

- Nature du matériel végétale (l'espèce, l'extrait ou l'huile essentielle, origine géographique, altitude, saison de cueillette).
- Procédé d'extraction.
- Niveau de pureté du produit final et sa Conservation.
- Nature des souches testées.
- Méthode utilisées pour estimer l'activité antimicrobienne.
- Milieux de culture employés (milieu synthétique ou naturel) (Guignard, 2000).
- Climat de l'incubation des souches.
- Stérilisation des matériels.

Certaines auteurs ont signalé que les bactéries Gram- se sont révélées plus résistantes aux HE que les bactéries Gram+ (Billerbeck et Sivropoulo). D'autres auteurs ont montré que les bactéries Gram- sont généralement les plus sensibles à l'action des huiles essentielles que les bactéries Gram+ (Haddouchi, F).

II.2.5.2.2. Etude quantitative de l'activité antimicrobienne d'*Origanum floribundum* CMI

Les valeurs des CMI de l'HE d'*Origanum floribundum* vis-à-vis des souches microbiennes testées ont été faites en deux répétitions et représentées dans le tableau (Tableau 14).

Les résultats obtenus relatifs aux diamètres des zones d'inhibitions des HE d'origan extraient à différentes durées en utilisant le test de l'aromatogramme sont représentés dans le (figure 21).

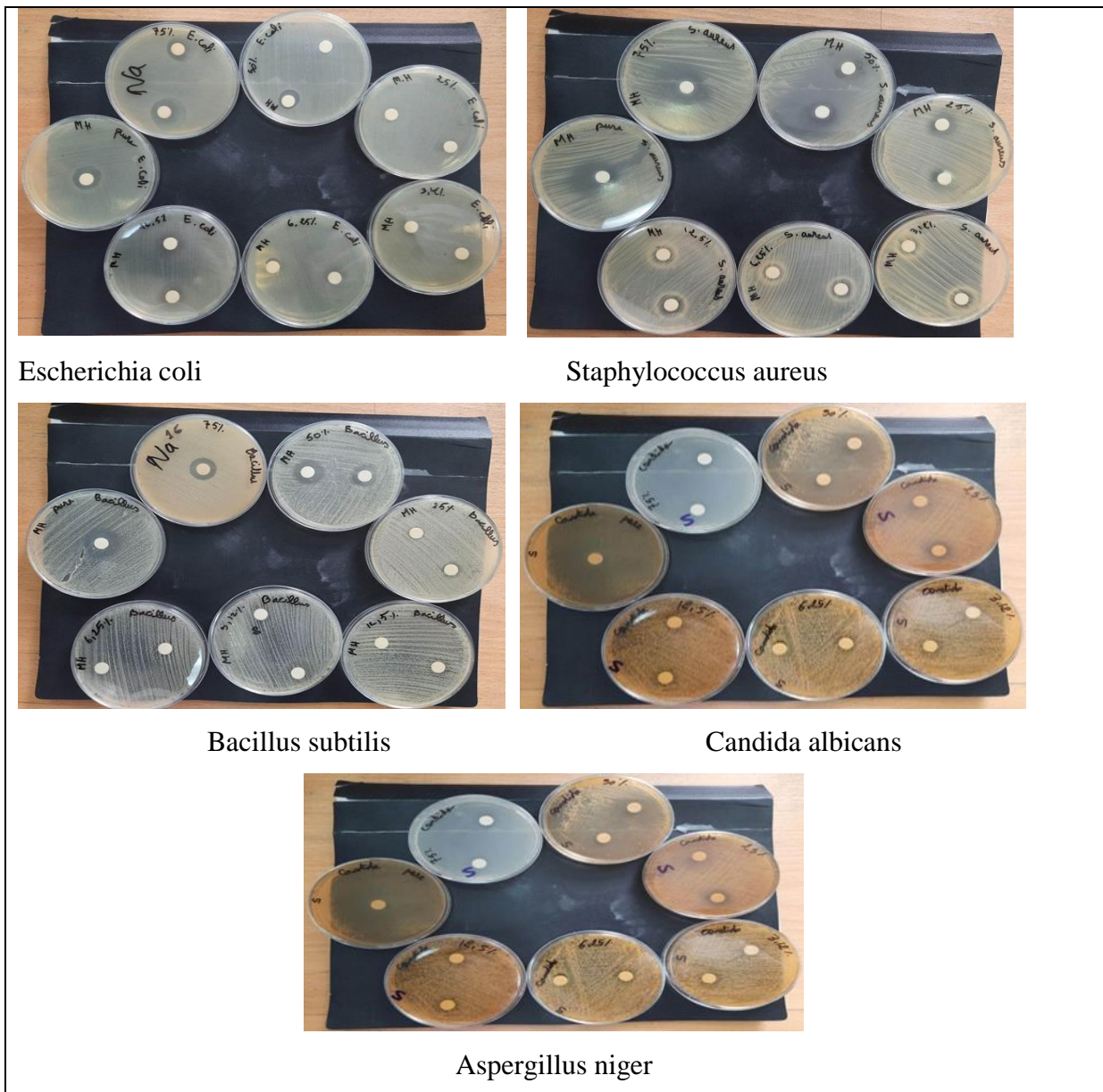


Figure 21: Les résultats de l' activité antimicrobienne obtenue.

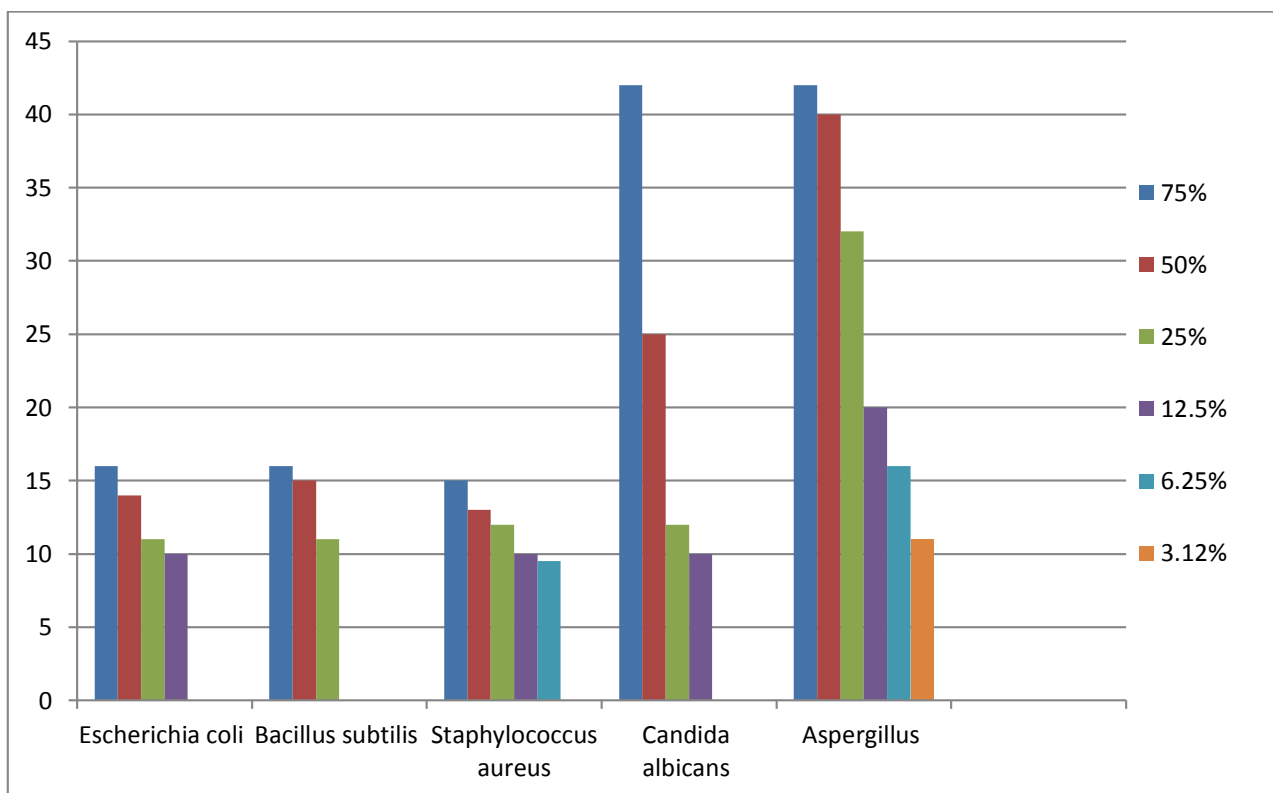


Figure 22: Evaluation de l'activité antimicrobienne d'EH d'*Origanum floribundum* (CMI)

Le résultat de l'étude quantitative de l'activité antimicrobienne nous avons permis de constater que toutes, les souches testées sauf aspergillus sont inhibées par l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* et à différent dilution. La détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice) a révélé un pourcentage d'inhibition d'Escherichia coli 6,25%, Bacillus subtilis 12,5%, Staphylococcus aureus 3,12%, La Candida albicans 6,25%, Aspergillus 3.12%

II.2.6. Formulation de la crème *d'Origanum floribundum*

II.2.6.1. Aspect macroscopique de formulation de crème :

Le tableau suivant qui présente caractéristique macroscopique de la crème (Tableau 15)

Tableau 15: Aspect macroscopique de la crème

Aspect	Couleur	Odeur
Léger et fluid - Homogene	Blanche	Odeur de l'origan



Figure 23: Crème à base de l'huile essentielle *d'Origanum floribundum*.

L'HE est introduite dans la crème en usage topique dans le but de mettre en évidence de nouvelles formes thérapeutiques et de valoriser la flore Algérienne riche en principes actifs en dermopharmacie.

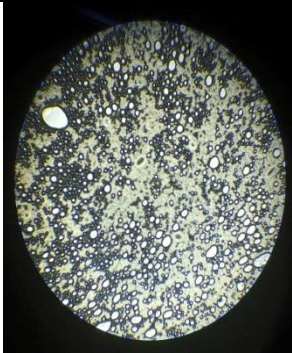
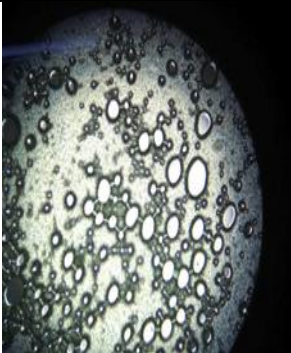
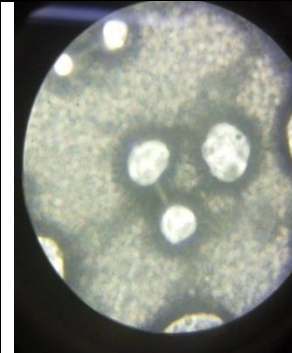
II.2.6.2. Détermination des caractères organoleptiques

La formulation galénique obtenue est sous forme de crème de couleur blanche, lisse et d'aspect brillant. Elle a une odeur très agréable (odeur *d'Origan* léger). Elle est douce à l'application, ne colle pas et se résorbe par la peau.

II.2.6.3. Aspect microscopique de formulation de crème :

Le tableau suivant qui présente caractéristique microscopique de la crème (Tableau 16)

Tableau 16: Les photos microscopique de la crème

Grossesemet	X 4	X 10	X 40
La photo			

Caractérisation de la crème

L'observation de la crème étalée entre lame et lamelle au microscope photonique au grossissement X 4, X 10, X 40, Par l'observation microscopique montre un aspect homogène.

Les données de notre étude montrent que l'HE d'*Origanum floribundum* possède une activité antimicrobienne à large spectre et la réponse d'irritation cutanée.

Nous pouvons déduire comme il été signalé dans la littérature (**cornillot .et al 1985**) l'HE d'Origan est doté de propriétés médicinales pour le traitement d'appoint des affections dermatologiques (**bruniton, J. 1999**). **D'autre part** L'HE d'*Origan* présente la propriété de soulager les douleurs musculaires, rhumatismales, les enflures, les blessures externes, toutes sortes de démangeaisons, désinfection des plaies et traitement des mycoses cutanées.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Actuellement, il existe une grande inquiétude sur le danger que peuvent présenter les conservateurs chimiques dont beaucoup sont suspects en raison de leurs action cancérigènes et allergènes ou de leur toxicité résiduelle. C'est pour cela que le consommateur soucieux de sa santé, commence à prendre conscience de l'importance du retour au naturel.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. A cet effet et dans le cadre de la valorisation de la flore spontanée poussant en Algérie, nous avons mené un travail qui consiste à étudier l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de l'*Origanum floribundum* et *Mélissa officinalis*.

Dans un premier temps, nous sommes intéressés à l'extraction et à la caractérisation des huiles essentielles de plantes étudiées ainsi que l'évaluation de leurs pouvoirs antibactériens.

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisé par hydro-distillation, les rendements obtenus à partir des feuilles 0.01% pour la mélisse et 0.2% pour l'origan.

Ce rendement est en conformité avec les normes international (0,5-2%), cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi on cite la nature du sol, la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction et la situation géographique.

L'étude du pouvoir antimicrobien par la méthode de diffusion des disques, de l'hydrolat de la *Mélisse* n'a montré aucune activité antimicrobienne, alors que l'huile essentielle de *l'origan* a manifesté une activité forte contre *Candida albicans* 12,5%, et une activité modérée contre *Escherichia coli* 6,25% ,et *Staphylococcus aureus* 3,12%, et aucune activité contre *Pseudomonas aeruginosa*.

La concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle *d'Origan* a été déterminée par les méthodes de dilution et de diffusion des disques dont les résultats montrent que l'huile essentielle *d'Origan* a une activité inhibitrice sur les souches testées.

Une pommade à usage topique a été préparée en respectant les règles bonnes pratiques de fabrication des médicaments (BPF). Les caractères organoleptiques montrent qu'elle est de couleur blanche, légère, fluide, ayant une odeur très agréable. Elle est douce à l'application, parfaitement homogène.

Au cours de cette étude nous avons conclu que l'espèce *Origanum floribundum* est riche en huiles essentielles, sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par la présence de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploités par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

En perspectives il est intéressant d'identifier les molécules bioactives par des techniques séparatrices comme la CPG ou la CGMS, et poursuivre d'autres activités biologiques et études approfondies et complémentaires.

Références bibliographique

Références bibliographique

- 1) A. Loit et A. Goris, « pharmacie galénique », masson, 1942.
- 2) Abderrahmen, El haib, Valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocanes par transformations catalytiques, Thèse doctorat de l'université de toulouse, 2011.
- 3) Aburjai T, Natsheh FM, 2003. Plants used in cosmetics. , Pytother. Res, 17, 987-1000p.
- 4) Adam, Géraldine., Wittner, Laurence. Et Mandigon, Catherine., « Les épices de la santé », Edition Ambre, Dijon-Quetigny, (Août 2003), 318P.
- 5) AFNOR NF 175 NFT 100, 111, 113, 101, 006. 1990.
- 6) Alfaïz C., 2006. Plante du mois : origan. Maroc-PAM, 7, p.4.
- 7) Amar, M. H., El Wahab, M. A. (2013). Comparative genetic study among *Origanum L.* plants grown in Egypt. *J Bio Env Sci*, 3, 208-222.
- 8) Anonyme, (AFNOR, Association Française de Normalisation), « Huiles essentielles, Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles », Paris, (2000) ,323P.
- 9) Anonyme., « Pharmacopée Européenne », 6eme édition, (2008) 169. Haddouchi, F., Lazouni, H.A., Meziane, A. et Benmansour, A., « Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanessi* Bois & Reut », *Afrique Science*, (2009), 05(2), pp 246-259.
- 10) Aquaportail. Famille Lamiaceae (Lamiacées, Labiacées). consulté mai 2022. disponible sur : <https://www.aquaportail.com/taxonomie-famille-97-lamiaceae.html>
- 11) Arvy M.P. & Gallouin F., 2003. Epices, aromates et condiments. Ed. Belin, Paris. p412.
- 12) Atittallah N, extraction et bioactivités des huiles essentielles de deux plantes aromatiques algériennes (Master académique), Algérie, université de Msila, Faculté des sciences, 2013.
- 13) Attou A. Détermination de la composition chimique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques de l'Ouest Algérien (région d'Ain Témouchent). Etude de leurs activités Antioxydante et antimicrobienne (thèse de doctorat en biologie), Algérie, université Abdou Bekr Belkaid Tlemcen, faculté des sciences de la nature et de la vie des sciences de la terre et de l'Univers, 2017.
- 14) B. Berigaud, « aromathérapie », Ed, pardes, 2002.
- 15) BABA AISSA F, 1999 : Encyclopédie des plantes utiles : flore d'Algérie et du Maghreb. Edition Librairie moderne Rouïba. Alger. p368.

- 16) Baba Aissa F., 1991. Les plantes médicinales d'Algérie : identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnel des plantes communes en Algérie. Ed. Bouchène et Ad. Diwan, Alger. p : 121.
- 17) BAHORUN T., 1997 - Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius, 83-94.
- 18) BARDEAU F, 1976 : La médecine par les fleurs. Editions Robert Laffont, S.A.440p
- 19) BARTELS A.1998 : Guide des plantes du bassin méditerranéen. Edition Eugen Ulmer.400p.
- 20) Baser K.H.C. and Buchbauer G, 2010. Handbook of essential oils: science technology, and application. Ed, taylor and Francis group, LLC. United States of America, 994p.
- 21) Baser, K.H.C., Kürkçüoglu, M., Houmani, Z. and Abed, L., « Composition of the essential oil of origanum floribundum Munby from Algeria », Journal of Essential Oil Research, (2000), 12, pp 753-756.
- 22) BELOUED A.2001 : Plantes médicinales d'Algérie.OPU Algérie.192p
- 23) Benbelaid F, 2015. Effets des huiles essentielles de quelque plantes aromatiques, Enterococcus faecalis responsable d' infection d' origine dentaire. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- 24) Benbouali. M, 2006. Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de Mentha rotundifolia et Thymus vulgaris. Magistère, génie chimique, université Hassiba Ben Bouali, -Chlef, 6-10, 17, 20-24, 29-37, 68-73p.
- 25) Besombes C, 2008. Contribution à l' étude des phénomènes d' extraction Hydro thermomécanique d' herbes aromatiques. Application généralisées. Thèse de doctorat université de la rochelle, 289p.
- 26) Bezanger-Beauquesne, L., Pinkas, M., Tork, M. et Trotin, F., « Plantes médicinales des régions tempérées », Edition Maloine S.A, Paris, (1980),439P.
- 27) Billerbeck, V.G, Roques, C, Vanière, p et Marquier, p, « Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d' huiles essentielles ». Revue Hygiènes, (2000), volume X, n°3, pp248-251.
- 28) Blumenthal M., Goldberg A., Brickman J (Ed). Expanded Commission E Monographs, American Botanical Council and Integrative Medicine Communications 2000
- 29) Boulaghmen .F.2012.Extraction des huiles essentielles de l'origan. mémoire de magister en biologie.

- 30) Bruneton, J., « Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales », Edition Tec & Doc, Paris, (1999) ,585P .
- 31) Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review, international journal of Food microbiology 94, pp 223-253.
- 32) Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo P.W, Castillejos L, Ferret A. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation, journal of Dairy Science. 90: 2580-2595
- 33) Canal blog, Méthodes de production et de fabrication des huiles essentielles. disponible sur : <http://tpejbs2012.canalblog.com/archives/2012/02/13/23515420.html>, 2012.
- 34) Carlier, Vivianne., « Herbière médicinale. 35 plantes de santé à herboriser », Edition Aubanel, Genève, (2005), 203P.
- 35) CARNAT A.P, CARNAT A, FRAISSE D & LAMAISON J. L, 1998 : The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea. Pharmaceutica Acta Helvetiae. Volume 72, Issue 5. pp 301-305.
- 36) Chikhoun, Amirouche., « Huiles essentielles de Thym et d'Origan », thèse de magistère en Agronomie option sciences alimentaires, Institut National Agronomique El Harrach, Alger, (2007), 178P.
- 37) Clarke S. (2008). Essential chemistry for aromatherapy. Elsevier Health Sciences. Collectif ; « Encyclopédie des plantes médicinales (2001) : identification, préparation, soins » ; Edition Larousse ; Paris.
- 38) Cornillot, Pierre., « Guide pratique des remèdes naturels », Edition Selection du Reader's Digest, Paris, (1985), 334P.
- 39) Creapharma. Historique des plantes médicinales [en ligne]. [Consulté jan 2022] disponible sur : (<https://www.creapharma.ch/phytotherapie.htm>).
- 40) Degryse A, Delpla L, Voinier M. 2008. Risque et bénéfices possibles des huiles essentielles, ingénieure du Génie sanitaire, atelier santé environnement.
- 41) Desramaux, M. 2018. Huiles essentielles en dermocosmétologie. Science pharmaceutique, édition Dumas.
- 42) Djeddi S, 2012. Les huiles essentielles penses Académique Francophones.
- 43) Dubois J., Mitterand H., & Dauzat A., 2005. Grand dictionnaire étymologique et historique du français, Larousse, Paris.
- 44) Durrity B. Intoxication rapportée à la phytothérapie chinoise dans les pays occidentaux : analyse des causes .1994

- 45) E ,M .MPONDO D .S. DIBONG ,C.F LORA ,L.YEMEDA , R .J .PRISO ,A .NGOYE2012 ,les plantes a phenols utilisées par les populations de la ville de Douala , journal of Animal et plant sciences , p15.
- 46) E. Gueorguis, « technologie des produits aromatiques », Ed, plovdiv, 1980.
- 47) Eberhard T., Robert A, Annelise, L. (2005). Plante aromatiques, épices, aromates,condiments et huilles essentielles.Edition Tec & Doc. Lavoisier.1120p.
- 48) Ela, M.A., El-Shaer, N.S. et Ghanem, N.B., « Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils », (1996), 51, pp 993- 995. 98/Cornillot, Pierre., « Guide pratique des remèdes naturels », EditionSelection du Reader's Digest, Paris, (1985), 334P.
- 49) EMA, 2010 PDR for Herbal Medicines 4th edition, Thomson Healthcare, US 2007 European Scientific Cooperative On Phytotherapy Monographs .978-2-35530-pp3-5.
- 50) Erdogan O.I, Belhattab R., 2010. Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of Artemisia absinthium, A. herba-alba, A. fragrans, Marrubium vulgare, M. astranicum, Origanum vulgare subsp. glandulosum and essential oil analysis of two Artemisia species. Ind. Crop. Prod. 32: 566–71.
- 51) Errol, V. État des lieux et perspectives de rechysur la flore méditerranéenne d'Algérie et de Tunisie. In: Proceeding of the Université Montpellier-2, UMR AMAP<< botanique et bio-informatique de l'architecture des plantes>>. Palermo Italy 2013 (pp.4-39).
- 52) Faucom M, 2012.Traité d' aromathérapie scientifique et médicale.Sang de la terre, p 880.
- 53) Figueredo, G. (2007). Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de doctorat. Chimie organique. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II.
- 54) Filipendula Hexapetala Gibb. Mémoire de Magistère, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.
- 55) Fine D.H, 2010. Listerine: past, present et futur – A test of thyme. Journal of dentistry 38, S2-S5.
- 56) France A, 2013. Etablissement national des produits de l' agriculture et de la mer. Conseil spécialisé des plantes à parfum aromatique et médicinal (PPAM), focus plante : cas du safran. Rapport de science de (31/01/2013) p5.
- 57) Franchomme P. et Pénéol D., L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois Éditeur 1990 Pizzorno JE Jr, Murray
- 58) futura santé.Definition pante medicinale. (Consulté mai 2022) disponible sur : <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions>.

- 59) Garneau F,X. 2005. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation- Manuel pratique, corporation.
- 60) Garnero J, 1976. Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention du contrôle et de l'étude de la composition des huiles essentielles. RIV, ITAL, EPPOS. P1-12.
- 61) Gherman C, Culea M, Cozar O. (2000). Comparative analysis of some active principles of herb plants by GC/MS. Talanta. 53, 253-62.
- 62) GILLY G, 2005 : Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à Grasse (botanique culture – chimie- production et marché). Edition Le harmattan, Paris. 404p
- 63) Goetz, Paul., Paris, Michel. et al., « Phytothérapie la santé par les plantes », Edition Vidal, Bobigny, (2007), 447P.
- 64) Guerrouf. A, 2017. Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique cas d'un cabinet dentaire. Mémoire de master, université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie.
- 65) Guide des plantes qui soignent, Vidal, 2010 Herbal medicines for human use,
- 66) Guignard, Jean. Louis, « biochimie végétale », Edition Masson, Paris, (2000), 254P.
- 67) Haddouchi, F. et Benmansour, A., « Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques », Les Technologies de Laboratoire, Janvier-Février 2008, N°8, pp 20-27.
- 68) Hamimeche, M., « Relation végétation- avifaune dans le secteur Est (Hammam Melouane) du Parc National de Chréa (Wilaya de Blida) », thèse de magister en sciences agronomiques option biodiversité et biotechnologies végétales, Institut National Agronomiques, El Harrach-Alger, Juillet 2007,
- 69) Hazzit, M., « Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de Thym et d'Origan poussant en Algérie », thèse de Doctorat en Chimie, Université des sciences et de la technologie Houari Boumedienne, Alger, (2008) ,204P.
- 70) [https://popups.uliege.be/0454184/index.php?id=1865&format=print#:~:text=Avec%20une%20superficie%20de%20,ensemble%20des%20terroirs%20du%](https://popups.uliege.be/0454184/index.php?id=1865&format=print#:~:text=Avec%20une%20superficie%20de%20,ensemble%20des%20terroirs%20du%20)
- 71) Hurtel. J.M. 2006. Noix de muscade, Myristica fragrans, fiche médicale sur cette épice Aphrodisiaque et son huile essentielle Antiseptique, phytomania : phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles. Phytomania. Com.
- 72) Ietswaart, J. H., « A taxonomic revision of the genus Origanum (Labiatae) », Editor Leiden botanical series, V 4, Boston (1980), 153P.
- 73) Their main components upon Cryptococcus neoformans, mycopathologia. 128: p.151-153.
- 74) Itoua-Apoyolo, C.M., Abderamane, M., Ouamba, J.M., Matokot, L. et Mvila, C.A., « Caractérisation chimique des huiles essentielles extraites de Chenopodium Ambrosioides

- L., de *Eucalyptus Citriodora* Hook et effets biologiques sur *Caryedon Serratus* OL. (Coleoptera-Bruchidae) », *Annales université Marien Ngouabi, Congo*, (2003), 4(1), 12P.
- 75) Jean-Christophe Létard, Jean-Marc Canard, Vianna Costil, Pierre Dalbiès, Bernard Grunberg, Jean Lapuelle, *Commissions nutrition et thérapies complémentaires du CREGG Dans Hegel 2015/1 (N° 1)*, pages 29 à 35.
- 76) Jerry,Louis, Jeune, *Les Différentes Techniques D'extraction Des Huiles Essentielles*, Disponible sur : <https://nidoessentialoil.com/extraction-des-huiles-essentielles/#2020>.
- 77) K.Banarous. Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes alpha amylase, trypsine et lipase (mémoire online) (consulté mai 2022).disponible sur : https://www.memoireonline.com/12/07/755/m_effets-extraits-plantes-medicinales-locales-enzymes-alpha-amylase-trypsine-lipase0.html.
- 78) Kaci, M. et Alloun, K., « Huiles essentielles et extraits d'*Origanum floribundum* et de *Ruta montana* : composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne », thèse d'ingénieur en sciences agronomique, Institut National Agronomique, El Harrach Alger, (2010), 143P.
- 79) Kango, C., Sawalihou, B.E-H., Kone, S., Koukoua, G. et N'Guessan, Y T.,« Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*» , *Comptes Rendus Chimie*, (2004), 7, pp1039-1042.
- 80) Kekuil et Lehb, « chimie organique », Ed, Paris 1966.
- 81) Kepouche.Hammoun.L.2015-2016. Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles et d'extraits non volatils de sarriette (*Satureja calamintha* Scheele), d'origan (*Origanum floribundum* Munby), de germandrée (*Teucrium polium* Briq.) et de khella (*Ammi visnaga* Lamk). THESE En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Agronomiques.
- 82) Khenaka k : Efet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Diplôme de magister en microbiologie appliquée. Université Mentouri constantinr. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Département de biochimie et de microbiologie p81, 2011.
- 83) Kintzios S.E., 2002. Profile of the multifaceted prince of the herbs. In: Kintzios S.E. *Oregano– The Genera Origanum and Lippia*. Ed. Taylor & Francis, London. pp: 3–8.
- 84) Kothe HW., (2007). 1000 Plantes aromatiques et médicinales. Terres Editions. ISBN.
- 85) Krishnakumar, V. & S. N. Potty. (2012). *Central Plantation Crops Research Institute (ICAR), India*. in Peter, K. V. (Ed.). *Handbook of herbs and spices*. Elsevier. Woodhead

Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Number 227. 2nd éd. vol 1. Page 336.

- 86) Lakhdar. L, 2015. Évaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregati bacter actinomycetem comitans* : Etude in vitro. Thèse de doctorat, université de médecine dentaire de Rabat, Maroc.
- 87) Lamamra. M, 2007. Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de Tinguarra Sicula (L) parl. Et de
- 88) Lardry J.M et Haberkorn v, 2007. Les huiles essentielles : principes d'utilisation.
- 89) Laurent. J, 2017. Conseil et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Mémoire de doctorat, université Paul Sabatier Toulouse, France.
- 90) Le Page, Rosenn. et Meudec, Gérard. « L'abc du potager geste par geste », Edition Rustica, Paris (février 2002), 240P.
- 91) Louis, Tessier, Extraction par solvant en une seule étape utilisé à l'échelle du laboratoire. disponible sur : <https://monde.ccdmd.qc.ca/ressource/?id=116363&demande=desc.2018>
- 92) Lucchesi M.F, Smadja J, Bradshaw S, Louw W, Chemat F. 2007. Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L : A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. J .Food Enginner. 79, Pp 1079-1086.
- 93) M. Joël LABBÉ (2017/2018) .Les plantes médicinales et l'herboristerie : à la croisée de savoirs ancestraux et d'enjeux d'avenir. (Consulté jan 2022). disponible sur : <https://www.senat.fr/notice-rapport/2017/r17-727-notice.html>.
- 94) M. T. Tena and M Valcarcel, supercritical Fluid Extraction of Natural antioxidants from rosemary, comparaison with Liquid Solvent sonication, Anal. Chem, 69, 1997. P 571-526.
- 95) M.A. Ferhat, Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes des huiles essentielles des Citrus d'Algérie : Compréhension, Application et Valorisation. Thèse de l'Université des Sciences et Technologie Houari Boumediene, Faculté de Chimie, Algérie. 2007.
- 96) Mahmoudi Y., 1990. La thérapeutique par les plantes communes en Algérie. Ed. Palais du livre, Blida. 150 p.
- 97) Mane Claude, Martini monique Seiller coordonnateurs, Actif et Additif en cosmétologie, Ed :Tec & Doc, Lavoisier, Paris 1992, p 1-10.
- 98) Meena, M.R. et Sethi, V., « Antimicrobial activity of the essential oils from spices », Journal of Food Science and Technology Mysore, (1994), 31, pp 68- 70.

- 99) *Melissa officinalis* L, its components and using fields. J. of Fac of Agric., OMU, 21(1):pp116-121.
- 100) Mengel P, Beh D, Bellido G.M, Monpon B, 1993. VFIMD. Extraction d'huile essentielle par micro-onde. Parfums cosmétiques et arômes 114. Pp 66-67.
- 101) Michael T (Ed). Textbook of Natural Medicine, Churchill Livingstone 2006; Organisation mondiale de la santé. WHO monographs on selected medicinal plants, vol. 2, Suisse, 2002.
- 102) Mlle. DEHIMECHE Nafissa. Effets de l'extrait au méthanol aqueux de *Thymus vulgaris* L. (Thym) récolté à Naama (Algérie) sur les germes spécifiques du yaourt – Caractérisation des composés bioactifs de la plante-Essai de fabrication d'un lait fermenté. Mémoire de fin d'études(2017) page 163.
- 103) Mouhamed, Dalel, Isolement et élucidation structurale d'une flavanone, d'un acide phénolique et d'un hétéroside stéroïdique des fleurs de la plante *Anacyclus cyrtolepidioides* (Pomel),Thèse pour master sicebces,2010.
- 104) Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi M.S et Ghorbani A. (2005)- Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology- Iranian Journal of Pharmaceutical Research;Vol. 2; pp 63-79.
- 105) Navesy R, 1964. Qu'est-ce qu'une huile essentielle ?. Ed. Massan. Paris.
- 106) Ochoa, Leon.Raul.Hernandez., « Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné solvant /actif d'origine végétale », thèse de Doctorat en sciences des procédés, Institut National Polytechnique de Toulouse, Toulouse, (2005), 225.
- 107) Ouis. N, 2015. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de doctorat, université d'Oran 1, Algérie.
- 108) Paris. M, hurabielle. M, 1981. Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). Ed, Masson, p339.
- 109) *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. Volume 72, Issue 5.pp 301-305.
- 110) Pharmacopée Européenne, 10ème Edition, 2017.
- 111) Pharmacopée Française, codex Français, Ed : Maison Neuve 1965.
- 112) Plante botanique. Famille des Lamiaceae.consulté mai 2022.disponible sur ; https://www.plante_botanique.org/famille_lamiaceae
- 113) QUEZEL P et SANTA S, 1962 : Nouvelles flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I. Paris : centre nationale de la recherche scientifique.1170p

- 114) Quezel, P. et Santa, S., « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques », Tome II, Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, (1963), 600P.
- 115) Rahmouni. M, 2014. Contribution à l'étude de l'activité biologique et de composition chimique des huiles essentielles de deux Apiacées (*ferula vesceritensis* Coss et DR et *Balanseagla berrima* Desf) Lange. Mémoire de master, université Ferhat Abbas, Sétif 1, Algérie.
- 116) RAHTIYARCA BAGDAT R & COSGE B. 2006: The essential oil of lemon balm
- 117) Raymond. M, 2005. L'aromathérapie chez la nourrisson et le petit enfant. Thèse de doctorat, pharmacie, université de Nantes, 25, 27, 34, 42, 62, 67p.
- 118) Richard H, 1992. Epices et aromates. Edition Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 339p.
- 119) Rodet, H.J.A., « Botanique agricole et médicale ou étude des plantes», Editeur C, Baillet, Paris, (1872), 1078P.
- 120) Roger moatti REVUE DES DEUX MONDES DECEMBRE 1990 (article).
- 121) Roux R, 2008. Conseil en aromathérapie, 2ème Edition, pro-officia, p187.
- 122) ROZZI N.L, PHIPPEN W, SIMON J.E & SINGH R.K.2002: Supercritical Fluid Extraction of Essential Oil Components from Lemon-Scented Botanicals, *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 35(2002), pp319 –324
- 123) Ruberto G., Baratta M.T., Sari M. et Kaabeche M., 2002. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal*, 17, 251-254.
- 124) S.GAHBICHE, 2009, la phytothérapie, école supérieure des sciences et techniques de la sante de sousse.
- 125) SADRAEI H, GHANNADI A & MALEKSHAHI K. 2003: Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions, *Fitoterapia*, 74 (5), pp 445-452
- 126) Sakkas, H., & Papadopoulou, C. (2017). Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. *Journal of microbiology and biotechnology*, 27(3), 429-438.
- 127) SALLE J-L, 1991 : Les huiles essentielles : synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Editions Frison- Rochelle, Paris.p19-45, p167.
- 128) SALLE J-L, 1991: Le totum en phytothérapie, approche de phyto-biothérapie. Editions Frison- Roche, Paris.239p.
- 129) Sari, M. (2018). Étude biologique et phytochimique de l'origan *Origanum vulgare* L. ssp *glandulosum* Desf. Letswaart) espèce endémique d'Algérie-Tunisie. Thèse de doctorat en sciences, université Ferhat Abbas, Setif.

- 130) Simpson, Michel.G, « Plant systematic», Edition Elsevier academic press, California, (2006), 590P.
- 131) Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T. et al « Antimicrobial activity of mint essential oils », Journal of Agricultural and Food Chemistry, (1995), 43, pp 2384-2388.
- 132) Skoula M., Gotsiou P., Naxakis G. & Johnson C.B., 1999. A chemosystematic investigation on the mono- and sesquiterpenoids in the genus *Origanum* (Labiatae). *Phytochemistry*. 52: 649–657.
- 133) SPECK B, URSULA & FOTSCH C. 2009: *Connaissance des herbes*. EGK-caisse de Santé.pp4.
- 134) T. Bernard et Cool, « extraction des huiles essentielles : chimie et technologie » *information chimie* N° 298, 1988.
- 135) Teuscher E., Anton R. & Lobstein A., 2004. *Plantes aromatiques: Epices, aromates condiments et huiles essentielles*. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- 136) The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products 2nd edition, ESCOP, UK 2003 PDR for Nutritional Supplements, Thomson PDR, US 2001 The Complete German Commission E Monographs.
- 137) *Therapeutic Guide to Herbal Medicines*, American Botanical Council, US 1998
- 138) *Topsante.historique des plantes médicinales*[en ligne]. [Consulté fév. 2022].disponible sur : <https://www.topsante.com/medecines-douces/phytotherapie/la-phytotherapie-histoire-et-usage-246937>).
- 139) TRUELLE A. 2009: *Le jardin familial de plantes médicinales (mélisse officinale)*.Gloubik sciences.pp4.
- 140) *Uraca*, Extraction durable par dioxyde de carbone, Disponible sur : <https://www.uraca.com/fr/centre-dinformation/savoir-faire/extraction-par-co2/2018>.
- 141) V. HAMMICHE, K.MAIZA, 2006, traditional médecine in central Sahara : pharmacopoeia of TassiliN' Ajjer, *journal of ethnopharmacology*, p : 105.
- 142) Valnet. J, *aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes*. Maloine S.A. éditeur. Paris. 1984. P544.
- 143) Vasudeva, N. & Goel, P (2015). *Origanum majorana L.-Phyto-pharmacological review*. *Origanum majorana L. -Phyto-pharmacological review*. Department of Pharmaceutical Sciences, Guru Jambheshwar University of Science and Technology, Hisar, Haryana, India.*Indian Journal of Natural Products and Resources* Vol. 6(4), December 2015 pp. 261-267.
- 144) Velues (P. Babulka *Phytothérapie* pages114–117 (2005).

- 145)** Venturini N, 2012. Contribution chimique à la définition de la qualité : exemples des spiritueux des myrtes (*myrtuscommunis* L) et de cédrat (*Citrus médical*) de Corse. Thèse doctorat en chimie. Ecole doctorale environnement et société UMR CNRS 6134 (SPE). P242.
- 146)** Veyrune, p. 2019. Place des huiles essentielles en dermo- cosmétique. Thèse de doctorat, Marseille université, France.
- 147)** Yaacoub. R et Tlidjane. I, 2018. Caractérisation physicochimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des graines de *Cuminum cyminum* L et de *foeniculum vulgare* Mill. Extraire par hydrodistillation et CO₂ supercritique : Etude comparative. Mémoire de master, université Larbi Ben M' hidi, Oum- El- Bouaghi, Algérie.
- 148)** Z.MOHAMMEDI, 2013, étude phytochimique et activité biologiques de quelques plant médicinales de la région nord et sud-ouest de l'Algérie, thèse, université de Tlemcen. p22
- 149)** Zaika, L.L « spices andherbs-their Antimicrobial Activity and determination », journal of Food Safety, (1988), 9(2), pp: 97-118.
- 150)** Zaika, L.L., « Spices and herbs-Their Antimicrobial Activity and its Determination », Journal of Food Safety, (1988), 9(2), pp: 97-118.

Annexe

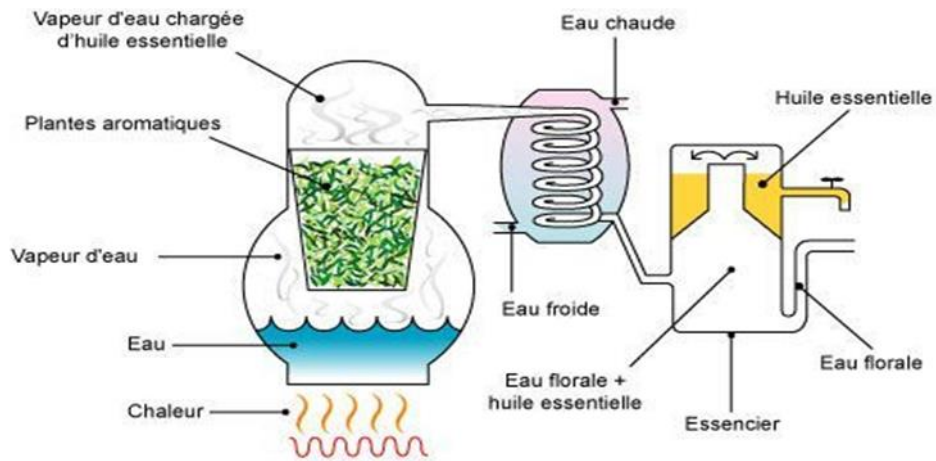


Figure 24: L'appareil de l'Hydro diffusion (canalblog.2012)

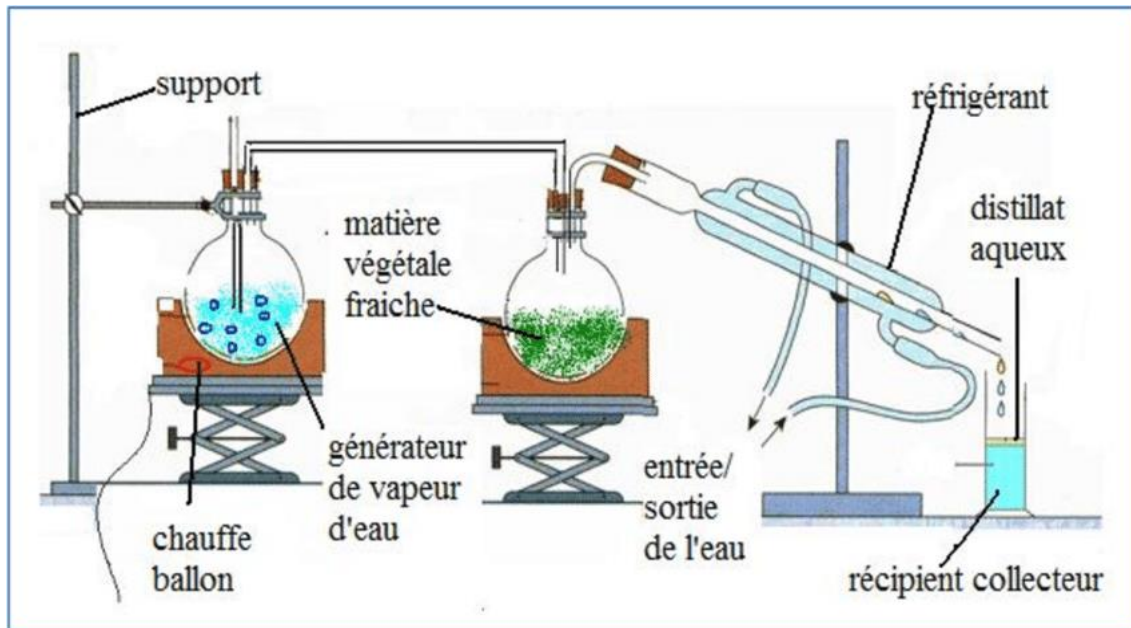


Figure 25: L'appareil de la Entrainement à la vapeur d' eau (Mohamed.D.2010)

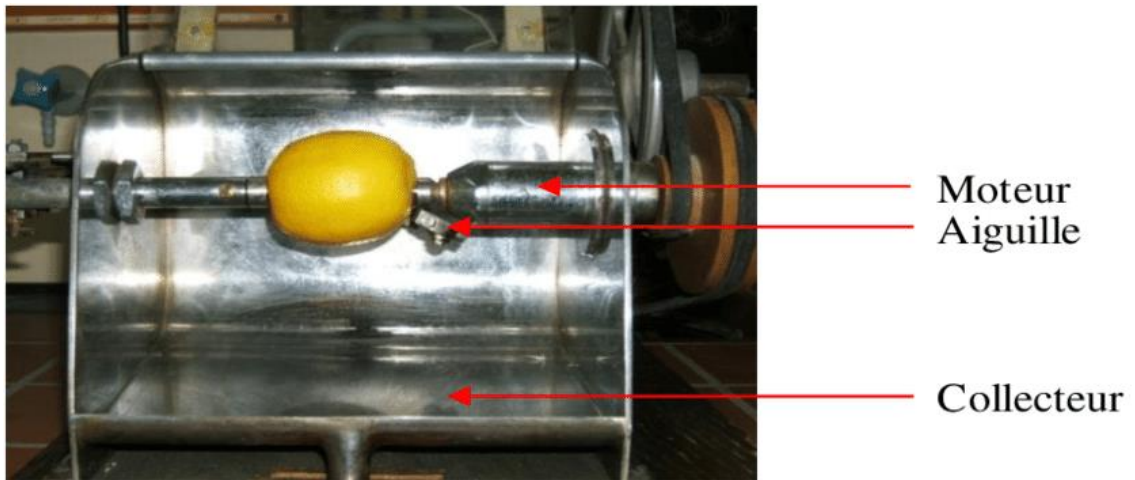


Figure 26: Schéma du montage de l'expression à froid (farhat, 2007).

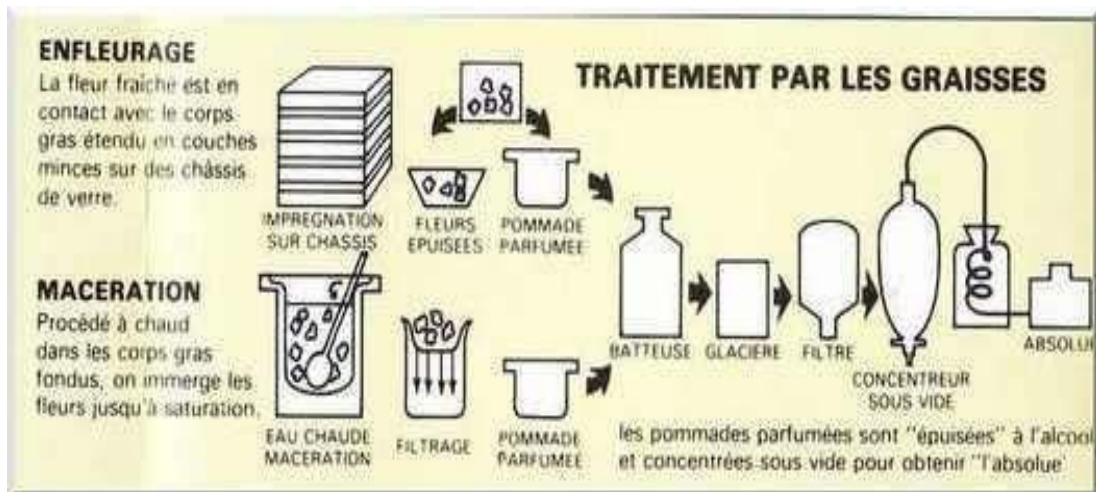


Figure 27: Schéma résumant l'extraction par les corps gras (Jerry, 2020)

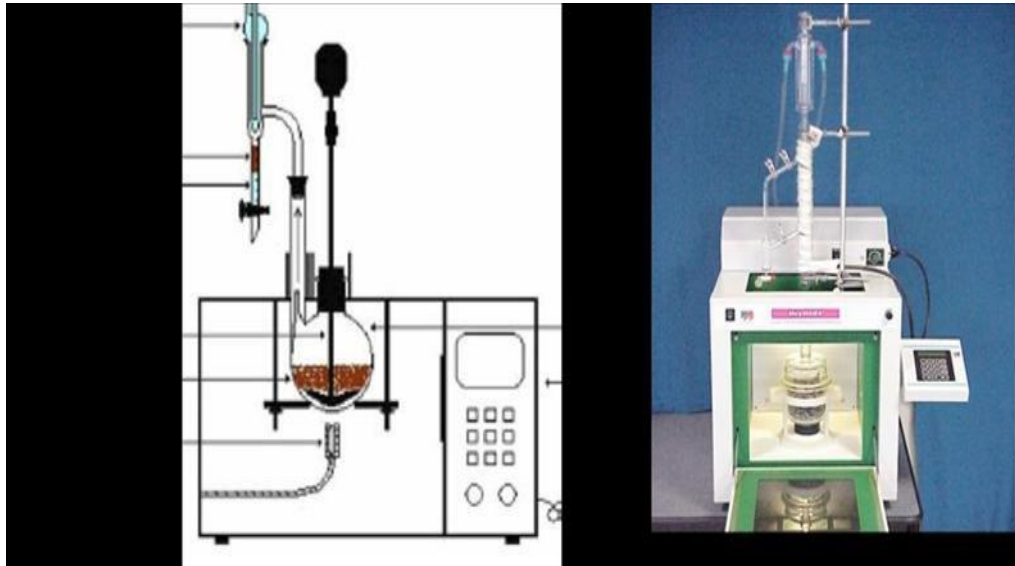


Figure 28: Schéma et photo de l'appareil d'extraction par micro-onde (El haib.a.2011)

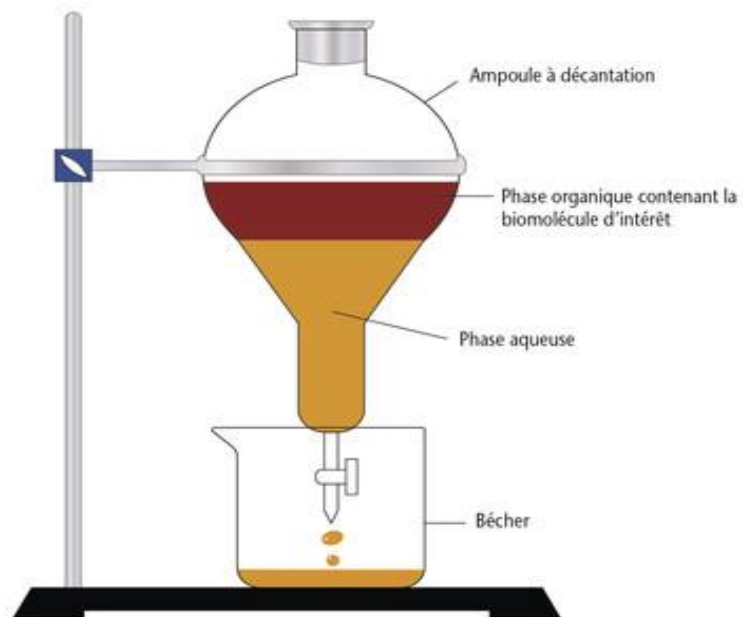


Figure 29: Schéma de l'appareille de l'extraction par solvants (Tessir.2018)

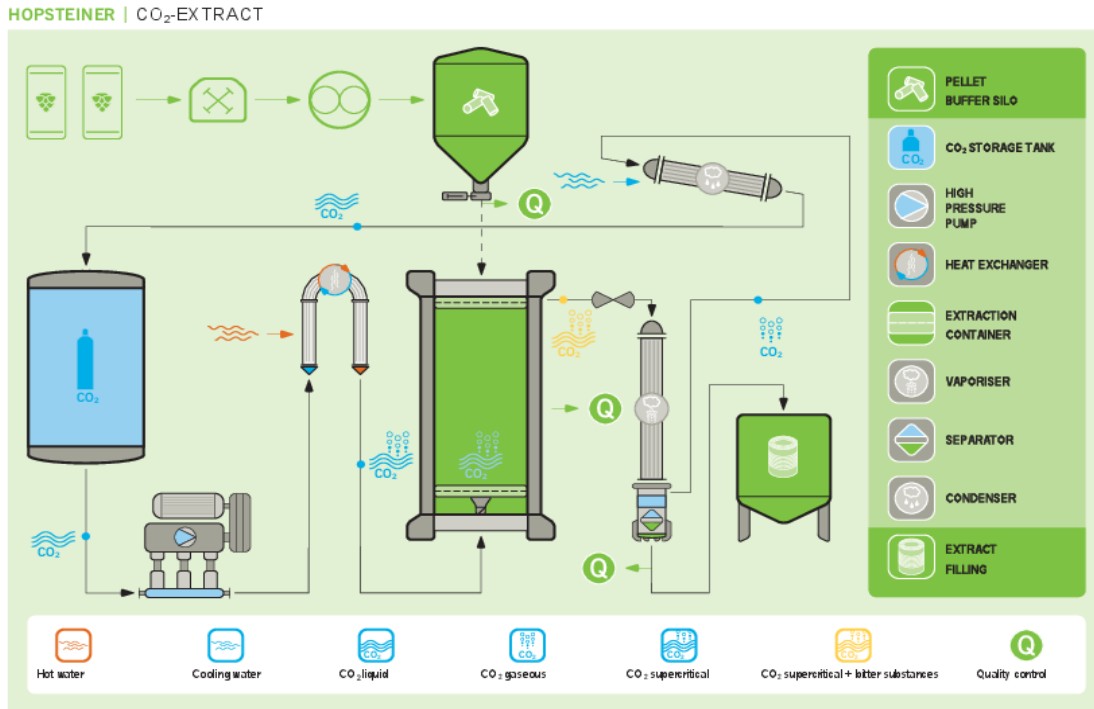









Figure 30: Schéma de l'appareil de l'extraction par dioxyde de carbone CO₂ (Uraca.2018)

Tableau 17: les équipements utilise

Nom de l'équipement	Marque	Photo
Microscope	Leica	
Vortex	Fisherbrand	
Bain marie	Memmert	

Balance analytique	Radwag	
Plaque chauffante	IKA	
Etuve	Memmert	
Etuve de stérilisation	Binder	
Réfractomètre	KERN	
Agitateur	Yellow line	
Hôte stérile	Telstar	

Petit matériels :

- | | | |
|------------------|-----------------------------------|---------------------|
| -Les gants | -Pipette pasteur | -Bec benzène |
| -Les tubes | -Pince. | -Portoir |
| -Boite de pétri. | -Aluminium | -La cuve |
| -Embout | -Disque stérile de papier wattman | -Ecouvillon stérile |
| -Vaporisateur | -Bécher | -Pied à coulisse |
| -Micropipette | -Bavette | -Eprouvette |
| -Marqueur | -Crillon | -Règle |
| -Sacs en papier | -ciseaux | -Papier carton |
| -Lame | -Lamelle | -Cuillère |

Réactifs

- | | |
|------------|-------------------|
| -Vanilline | -Acide sulfurique |
| -Hexane | -Tween 80 |
| -Glycérol | -Lauryl sulfate |

Solvants

- | | |
|-------------------|----------------------|
| -Ethanol | -L'eau distillé |
| -Acétate d'éthyle | -L'eau physiologique |
| -Alcool cétylique | Alcool stéarylique |