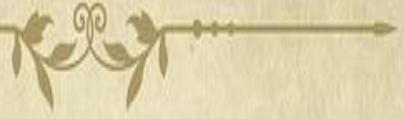


Dédicace



Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts

A celle que j'aime le plus au monde ma très chère maman,

Ses sacrifices et son encouragement depuis mon existence, je

Ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir

Veillé sur mon éducation, jamais je ne pourrais la remercier

Assez de m'avoir donné le meilleur.

A mon papa la haut qui est parti tôt.

A mes chers frères Lamine et Sid ali .

A ma sœur Sabrina et ma tante Khadidja.

A mon fiancé Hamza, et ma belle sœur Sarah qui m'ont épaulé.

Je n'oublierais jamais la générosité de mes amies, Sirine et Asma .

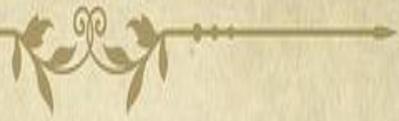
A ma binôme Ikram avec qui j'ai partagé les bons et

Les durs moments.

A toute ma famille et a tous ceux qui me connaissent.



Dédicace



Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts

A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents

Leurs sacrifices et leurs encouragements depuis mon existence, je

Ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir

Veillé sur mon éducation, jamais je ne pourrais les remercier

Assez de m'avoir donné le meilleur.

A mes sœurs Malika et Ferial.

A mon mari Nour el islem et mes belles sœurs F.Zahra, et Amina qui m'ont épaulé.

A mon cher frère ABD EL NOUR.

Je n'oublierais jamais la générosité de mes amies, Fella, sarah .

A mes cousines et ma famille Boutahraoui.

A ma binôme Meriem avec qui j'ai partagé les bons et

Les durs moments.

A toute ma famille et a tous ceux qui me connaissent.



1. Généralités sur les huiles essentielles

1.1. Historique :

Les végétaux peuplaient la planète bien avant l'homme et ont d'abord servi à le nourrir via la cueillette puis la culture [1]. Leur emploi a rapidement évolué en constatant leurs propriétés thérapeutiques pour traiter les blessures et les maladies. L'utilisation des arômes était également connue des civilisations de l'antiquité pour des usages religieux, cosmétiques, mais aussi thérapeutiques [2]. Ce sont les égyptiens, 3150-1085 avant Jésus-Christ, de l'époque pharaonique, qui furent les premiers à avoir recours aux plantes aromatiques pour embaumer les morts, avec notamment un mélange d'huiles essentielles comme l'huile de cèdre, de basilic [3,4], et en utilisant des plantes aux propriétés antiseptiques connues comme le nard de l'Himalaya, la cannelle, le ciste, des produits de sécrétion aromatique comme l'encens, ou la myrrhe [5]. En Grèce antique, Hippocrate indiquait les bains aromatiques dans le traitement des maladies de la femme [2]. Et dans les grandes épidémies, on faisait brûler de la lavande, sarriette, romarin et de l'hysope [3]. Au 1er siècle apr. J-C., apparut le traité intitulé « De materia medica » écrit par Dioscoride, médecin et grand voyageur, dressant l'inventaire de 519 espèces de plantes et qui servira de référence dans la société Romaine et Arabe. Les arabes ont ainsi poursuivi les recherches sur les plantes médicinales, en devenant les premiers à mettre au point la distillation des plantes, permettant d'en extraire l'huile essentielle, il y a de cela plus de mille ans [6].

1.2. Définition :

- L'huile essentielle (HE) :

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques. Il concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs. Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles.

On ne peut définir une essence sans définir sa méthode d'extraction. Selon la pharmacopée européenne : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Selon l'AFNOR (l'Association Française de Normalisation), ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau, de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certaines citrus. Cette définition excluant les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction [7].

1.3. Répartition des huiles essentielles dans la plante :

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal, Cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles [8] telles que : les Conifères, les rutacées, les Ombellifères, les Myrtacées, les Lamiacées, les Posacées. Elles sont présentes dans différents organes végétaux producteurs, variant en fonction de la zone productrice du végétal [9,10] : les sommités fleuries (ex: lavande, menthe...), dans les racines ou rhizomes (ex: vétiver, gingembre), dans les écorces (ex: cannelles), le bois (ex: camphrier), les fruits (ex: citron), les graines (ex: Muscade) et sont contenues dans des structures spécialisées à savoir : les poils, les canaux sécréteurs et les poches[5].

1.4. Les procédés d'extraction des huiles essentielles :

La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible, voire infime. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle. L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal.

Il existe différents procédés d'extraction, mais le choix de la méthode utilisée définit obligatoirement la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation.

L'entraînement par la vapeur ou l'hydrodistillation de la plante fraîche ou sèche, reste la technique la plus utilisée. On distingue les procédés suivants:

1.4.1. Extraction par distillation et entraînement à la vapeur d'eau :

Il s'agit de l'un des procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques les plus anciens, apporté par les Arabes au IXe siècle. Cette opération s'accomplit dans un distillateur ou « alambic ». Le matériel végétal est supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi

d'essence, retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée, que l'on appelle eau florale ou hydrolat [11,12]. Les parties insolubles sont séparées de l'eau, par décantation pour donner l'huile essentielle [12,13].

1.4.2. Hydrodistillation ou distillation à l'eau :

Le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) 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 par différence de densité [14]. Cette méthode est généralement indiquée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est la non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de la couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation [15].

1.5. Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles peuvent être classées en plusieurs familles biochimiques. L'activité thérapeutique d'une huile essentielle est liée à sa structure biochimique, aux groupes fonctionnels de ses composés principaux (alcools, phénols, composés terpéniques...), et à leurs actions synergiques. Les principales familles biochimiques sont présentées ci-dessous pour expliciter les diverses propriétés des huiles essentielles.

1.5.1 Les composés aromatiques :

1.5.1.1. Les phénols :

-Principales molécules et huiles essentielles contenant des phénols:

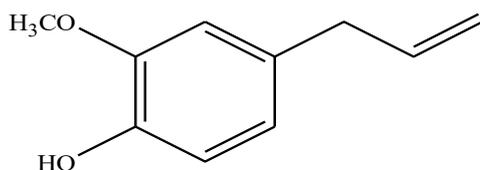


Figure 1.1 : l'eugénol

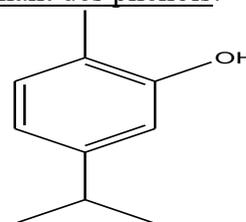


Figure 1.2 : le carvacrol

- Propriétés majoritaires:

Les phénols possèdent une action anti-infectieuse puissante à large spectre d'action avec en particulier une activité antibactérienne, antifongique, antivirale, et antiparasitaire.

1.5.1.2. Les aldéhydes aromatiques :

- Principale molécule et huiles essentielles contenant des aldéhydes aromatiques:

L'aldéhyde cinnamique contenu dans l'huile essentielle de Cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*) ou dans l'huile essentielle de Cannelle de Ceylan (*Cinnamomum verum*) est un aldéhyde aromatique.

- Propriétés majoritaires:

Les aldéhydes aromatiques sont des molécules puissantes reconnues pour leur action anti-infectieuse puissante à large spectre d'action.

1.5.1.3. Les cétones :

- Principales molécules et huiles essentielles contenant des cétones:

- Le carvone.
- Le verbénone.

Parmi les cétones, on peut citer le carvone contenu dans l'huile essentielle de Carvi (*Carum carvi*), ou la verbénone dans l'huile essentielle de Romarin CT verbénone (*Romarinus officinalis* CT verbénone).

- Propriétés majoritaires:

Les cétones ont des actions relaxantes, mucolytiques, antiparasitaires et antivirales principalement.

1.5.1.4. Les esters :

- Principale molécule et huiles essentielles contenant des esters:

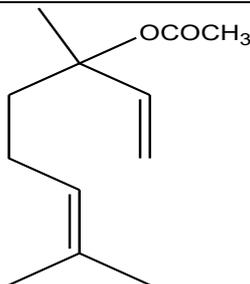


Figure 1.3 : l'acétate de linalyle

L'acétate de linalyle se retrouve dans l'Ylang ylang (*Canangaodorata*) ou dans l'huile essentielle de Lavande vraie (*Lavandulavera*).

On peut citer l'acétate de menthyle contenu dans l'huile essentielle de Menthe poivrée (*Mentha piperita*).

- Propriétés majoritaires:

Les esters sont surtout antispasmodiques, anti-inflammatoires et neurotoniques.

1.5.2. Les terpènes et ses dérivés :

1.5.2.1. Les terpènes :

- Principale molécule et huiles essentielles contenant des terpènes:

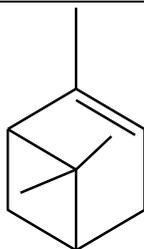


Figure 1.4 : α -pinène

L'alpha-pinène est une molécule couramment rencontrée dans les huiles essentielles de Pin sylvestre (*Pinussylvestris*) ou de Genévrier commun (*Juniperuscommunis*).

Cette molécule est reconnue comme allergène.

- Propriétés majoritaires :

Les terpènes sont surtout reconnus pour leurs actions drainantes lymphatiques, stimulantes, et anti-infectieuses.

1.5.2.2. Les alcools terpéniques :

- Principales molécules et huiles essentielles contenant des alcools :

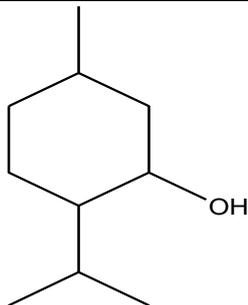


Figure 1.5 : le menthol

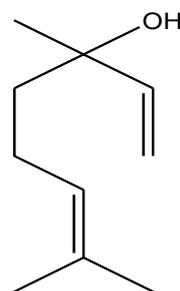


Figure 1.6 : le linalol

Le menthol contenu dans l'huile essentielle de Menthe poivrée (*Mentha piperita*) apporte un effet vasoconstricteur et anesthésiant.

Le linalol présent dans l'huile essentielle de Thym CT linalol (*Thymus vulgaris* CT linalol) possède une action stimulante immunitaire.

- Propriétés majoritaires:

Les alcools terpéniques ont des actions anti-infectieuses à large spectre d'action. Ils sont également des stimulants immunitaires.

1.5.2.3. Les aldéhydes terpéniques :

- Principales molécules et huiles essentielles contenant des aldéhydes :

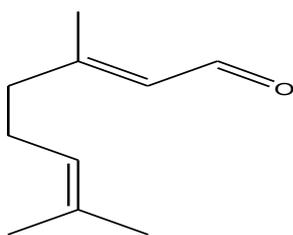


Figure 1.7 : le géranial

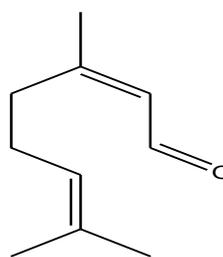


Figure 1.8 : le néral

Les Citrals (néral et géranial), qui sont des aldéhydes terpéniques, se retrouvent dans l'huile essentielle de Citronnelle (*Cymbopogon citratus*).

- Propriétés majoritaires:

Les aldéhydes terpéniques comme les citrals confèrent des propriétés anti-inflammatoires et relaxantes.

1.6. Conservation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années, sous certaines conditions, jusqu'à cinq ans pour les H.E.C.T par exemple. Seules les essences de *Citrus* se gardent un peu moins longtemps (trois ans).

Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière, à une température ambiante jusqu'à vingt degrés.

Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (norme AFNOR NF T 75-001, 1996) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE (norme NF 75-002, 1996) [16].

1.7. Activité antibactérienne des huiles essentielles :

Depuis l'antiquité, les extraits aromatiques de plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme les médicaments et la parfumerie [17]. Les huiles essentielles ont été considérées comme agents antimicrobiens les plus efficaces dans ces plantes. Lorsque nous parlons d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets: une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. Le plus souvent, l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides. Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, la première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix [18]. Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes

1.8. Généralités sur la verveine :

1.8.1. Généralités :

La verveine est un arbrisseau cultivé dans les jardins, communément appelé "Louizaou *Tizana*". c'est dire combien la popularité de la verveine odorante est grande en Algérie. Cette plante ramifiée est caractérisée par un parfum très agréable rappelant l'odeur du citron, que ses feuilles et ses fleurs exhalent. La verveine peut atteindre 2m de haut, ses rameaux sont blanchâtres et ses feuilles lancéolées, et rugueuses, sont disposées en rosette par trois le long des tiges, au sommet desquelles apparaissent des gerbes de minuscules fleurs

blanches, disposées également par groupe de trois. Les feuilles récoltées avant la floraison et froissées dégagent une odeur citronnée agréable. Elles contiennent une huile essentielle composée de citral, de terpènes, de géraniol. Originaires d'Amérique du sud, la verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés, comme plante aromatique et ornementale ainsi que pour ses feuilles, utilisées en phytothérapie, récoltées à la fin de l'été elle possède des propriétés similaires à celles de la mélisse. Le genre *Lippia* montre une grande diversité génétique, ce qui lui permet de synthétiser une variété de constituants de l'huile essentielle, dans des plantes cultivées dans les différentes parties du monde [19].

1.8.2. Historique :

La verveine citronnelle doit son attrait irrésistible à ses feuilles qui exhalent une forte odeur de citron. On s'étonne qu'il n'y ait guère d'histoires ou de légendes qui se rattachent à cette plante originaire d'Amérique du Sud. La verveine est cultivée en Europe depuis son importation par des navigateurs espagnols au 17^e siècle. D'abord réservée aux jardins de châteaux et parcs, la verveine citronnelle a entamé sa marche triomphale au milieu des années 1950, et bien des jardiniers amateurs ne sauraient plus se passer d'elle aujourd'hui [20].

1.8.3. Description de *Lippia citriodora* :

La verveine odorante *Lippia citriodora* ou *Aloysia triphylla*, est un sous-arbrisseau de la famille des Verbenaceae, originaire d'Amérique du Sud, introduit et cultivé sur le pourtour Méditerranéen (Midi de la France et Afrique du Nord). Il s'agit d'un arbrisseau ramifié dont les tiges anguleuses et cannelées portent des feuilles rudes, courtement pétiolées, verticillées par trois. Les fleurs disposées en épis possèdent 4 pétales - soudés à la base en un tube et étalés en 4 lobes bicolores : blancs sur la face externe et bleu violacé sur la face interne [21]. La verveine odorante est utilisée en herboristerie et en industrie de la parfumerie à cause de l'odeur de citron que dégagent les feuilles broyées. Les rameaux sont récoltés peu avant la floraison, rassemblés en bouquets puis séchés. Les feuilles séchées sont consommées en infusion [22].

1.8.4. Habitat et culture de *L. citriodora* :

La verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés comme plante aromatique et ornementale, ainsi que pour ses feuilles, utilisées en phytothérapie. Celles-ci sont récoltées à la fin de l'été. Elle s'accommode sur tous les types de sols, et exige une quantité d'eau

importante[23]. La verveine odorante s'acclimate d'un sol perméable, bien drainé, et des endroits ensoleillés ou semi-ombragés, abrités des vents froids. Elle exige un sol frais en été, sans excès d'humidité qui entraîne la pourriture de ses racines. Elle doit être paillée en hiver pour la protéger du gel, car elle ne supporte pas les températures inférieures à 4 °C[24].

1.8.5. Récolte et séchage de *L. citriodora* :

La récolte est effectuée à la faucille et consiste à couper à 10-15 cm à partir du début des poussées de l'année. Il y a deux périodes de coupe :

-Mai-Juin : lorsque 50% des plantes ont fleuri.

-Fin Juillet-Aout.

-Une troisième récolte peut avoir lieu 1 à 2 mois après la 2^{ème} récolte. Le rendement varie de 1,5 à 3 t/ha en verveine sèche pour les deux coupes. Une fois la récolte est effectuée, on procède au séchage des feuilles et à leur séparation des tiges [25].

1.8.6. Origine et répartition géographique :

La verveine odorante est originaire de l'Amérique du sud ; du Pérou ; Chili et de l'Argentine. Selon Rollet (1998), elle aurait été importée par des explorateurs espagnols en Europe méridionale, voir en Angleterre en 1984.

Cette plante a connu un grand succès durant l'époque de l'Angleterre Victorienne, pour la création des pots-pourris du fait de son parfum de citron tenace.

Elle est aujourd'hui répandue dans diverses régions tropicales et subtropicales (Chine, Kenya...etc.), dans des zones tempérées chaudes de l'Europe et de l'Afrique du nord (Maroc, Espagne...etc.), en Australie et en Nouvelle Zélande.

1.8.7. Systématique botanique de la plante :

La systématique botanique est pour un chercheur la carte d'identification de la plante, et sans cette dernière, il est très difficile d'entamer un travail de recherche [26]. La connaissance de l'origine botanique de la plante destinée à l'obtention de son huile essentielle est nécessaire aussi pour les applications futures, en parfumerie, en cosmétique, en pharmacie et même en agroalimentaire. L'identité de la matière initiale (plante ou partie de plante) est indispensable pour la traçabilité et pour éviter les éventuelles fraudes. L'identification est effectuée par le

fournisseur qui doit présenter un certificat d'analyse, l'acheteur, quant à lui, devrait aussi faire les tests de confirmation [27].

1.8.8. Noms communs :

Lippia vient du nom de Lippi, un botaniste du XVIIIème siècle; le terme citriodora signifie « à odeur de citron ». Cette plante possède aussi les noms suivants: Verveine citronnelle, verveine à trois feuilles, thé arabe, herbe Louise [28]. La verveine odorante possède plusieurs nominations suivant les langues courantes de chaque pays [28,29] :

-Grande Bretagne : Lemonverbena, Herb Louisa, LemonBeebrush, LemonVerbena, LemonscentedVerbena.

-France : Herbe-Louise, Verveine citronnelle, Verveine citronnée, Verveine du Pérou.

-Allemagne: Citronenkraut, Zitronenkraut, Zitronenverbene .

-Italie: Cedrina, Cedronella, Erba-Luigia, Verbenaodorosa.

-Nederland: Citroenkruid, Citroenverbena, Lemonverbena.

-Espagne: Cidrén, Hierba Luisa, Hierbacidreira .

1.8.9. Classification de la verveine La classification botanique de l'espèce :

Lippiacitriodora est donné par le tableau suivant :

Tableau 1.1 : Classification botanique de l'espèce *Lippiacitriodora* [30].

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Sous règne	Trachéobionta
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Verbénacées
Genre	Lippia
Espèce	Lippiacitriodora

1.8.10. Composition chimique :

L'huile essentielle est constituée de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle.

Ces molécules sont différentes selon la nature de la plante, le sol, le temps de récolte, la partie de la plante, la préparation de l'échantillon, ainsi que la méthode d'extraction. Les composés sont formés à partir de divers atomes puisés par la plante via le sol et via sa synthèse organique. L'ensemble constitue des réactions chimiques donnant naissance aux molécules

aromatiques, constituant l'huile essentielle. La composition chimique des extraits dépend largement de l'influence des conditions du mode d'extraction sur l'essence contenue dans la plante. Les extraits ainsi que de nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont constitués principalement de composés terpéniques. Les terpènes sont très répandus dans la nature et surtout dans les plantes comme constituants des huiles essentielles. Ils sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique (tableau 1.2)[31].

Tableau 1.2 : Les principaux constituants de l'huile essentielle de la verveine odorante.

Composés	Teneur (%)
Géranial (citral a)	15 à 25
Néral (citral b)	= 15
Méthylhepténone	= 2
Citronellal et photocitral A épi –A et B (d'odeur commune, formé par photo cyclisation du citral) ; ils sont accompagnés de :	
(-)- Limonène	10 à 20
1 ,8-Cinéol	3 à 6
Géranol	≈ 6
Spathuléol	≈ 5
Camphre	≈ 4
Germacrène D	≈ 4
Bicyclogermacrène	≈ 4
β-caryophyllène	≈ 2 %
Géranol, acétate de géranyle, nérol, acétate de néryle	

Pour une autre drogue originaire d'Allemagne (Thüringen), les constituants principaux sont de nouveau différents : géranol (24 %), nérol (19%) et limonène (16 %).

1.8.10.1. Composition chimique de l'huile essentielle de la verveine algérienne :

De nombreux travaux ont été effectués sur *Lippiacitriodor* pour connaître sa composition chimique, L'huile essentielle de la verveine algérienne selon Slimani.N (2014), les résultats

obtenus dans l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *Lippiacitriodora* sont présentés dans le tableau 1.3. [19].

Tableau 1.3 : Principaux composés de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) analysée par CG/MS [19].

Composés	Aire (%)	tr (min)
Citral	11.3	6.25
Limonène	10.6	7.46
4-Phényl-undécane-4-ol	7.7	9.24
α -Curcumène	6.5	10.15
α - Cédrol	4.5	12.68
Carvéol	3.7	14.00
Linalol	3.5	14.97
β -caryophyllène	2.8	16.22
Acétate de géranyle	1.8	19.98

Les analyses d'huile essentielle de *Lippiacitriodora* ont montré que le citral (11.3%), le limonène (10.6%), 4-phényl undécane-4-ol (7.7%), α -curcumène (6.5%) et α -cédrol (4.5%) étaient les composants principaux de l'huile. En outre, d'autres composants à teneur légèrement faibles sont rapportés tels que le carvéol (3.7%), linalol (3.5%), β -caryophyllène (2.8%) et l'acétate de géranyle (1.8%) [19].

1.8.10.2. Composition chimique des huiles essentielles de la verveine dans le monde :

Depuis quelques années, un effort intense se développe dans le monde entier pour établir dans plusieurs pays la composition chimique de l'HE de la plante médicinale *Lippiacitriodora*. Les résultats obtenus dans l'analyse de la composition chimique des différents pays sont présentés dans le tableau 1.4 :

Tableau 1.4 : Composition chimique de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) dans le monde.

Auteurs	[32]	[33]	[34]	[35]	[36]		
Pays	Maroc	Brésil	Paraguay	Iran	Colombie	Portugal	Turquie
1,6-Heptadien-4-ol	0.13	-	--	--	--	--	--
4-Phenylundecan- 4-ol	--	--	--	0.72	--	--	--
α -Pinène	1.37	--	0.15	3.15	--	--	--
α -Campholenal	3.38	--	--	--	--	--	--
Limonène	--	15.93	8.67	10.6	11.9	15.5	18.6
Néral	--	27.01	--	7.86	19	23.3	17.6
Cétral	19.07	--		11.32	--	--	--
α - Curcumène	--	--	3.43	6.54	--	--	--
1-Octèn-3-ol	--	0.70	0.17	--	--	--	--
Géraniol	--	3.96	1.39	--	--	--	--
Géranial	--	--	22.80		38	29.5	11.9
α - Terpeneol	--	--	0.05	4.06	--	--	--
Spathulenol	7.55	--	2.17	--	--	--	--
α -Cédrène	0.95	--	0.49	1.02	--	--	--
Linalool	--	--	0.73	3.54	--	--	--
Caryophyllène	3.6	0.84	0.35	2.84	--	--	--
α - Cedrol	--	--	--	4.54	--	--	--
trans-Caryophyllène	--	--	--	1.99	--	--	--

L'analyse de l'HE de *Lippiacitriodoradu* Maroc a révélé comme composé majoritaire :
Le Citral (19.07%).

Les analyses de l'HE des de *Lippiacitriodoradu* Brésil ont révélé plusieurs composés.
Les composés majoritaires ont été le Néral (27.01%), et Limonène (15.93%).

Les analyses de l'HE de *Lippiacitriodoradu* Paraguay ont révélé plusieurs composés comme le géraniale (22.80%), et gimonène (8.67%).

Les analyses de l'HE des de *Lippiacitriodorad*'Iran ont révélé plusieurs composés. Les composés majoritaires ont été le citral (11.32%), et limonène (10.6%).

Les analyses de l'HE de *Lippiacitriodorade* Colombie, Portugal et Turquie ont révélé les composés suivants :

-Colombie : Géraniol (38%), Nérol (19%) et Limonène (11.9%).

-Portugal : Géraniol (29.5%), Nérol (23.3%) et Limonène (15.5%).

-Turquie : Limonène (18.6%), Nérol (17.6%) et Géraniol (11.9%).

D'après Noorkhoda.Y et al. (2013), les analyses ont permis de mettre en évidence les composés d'HE de la plante présentée selon la région, et la partie de la récolte dans le tableau 1.5.

Tableau 1.5 : Les principaux composants de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) récoltés de divers pays [37].

Région	Partie de la Récolte	Principaux composés
Iran	Feuille et fleur	1,8-cinéole, limonène, géraniol, nérol, β -guaïène, spathulenol, oxyde caryophyllène
	Partie aérienne	E-citral, géraniol, nérol, limonène, oxyde caryophyllène, spathulenol, curcumène, bornéol, acétate de néryle β -caryophyllène, camphre, carvacrol, p-cymène
Portugal	Feuille et fleur	Géraniol, nérol, limonène
Afrique du Sud	Partie aérienne	Citral (E, Z), bornéol, camphre, l'acétate de néryl, caryophyllène, oxyde
Burkina Faso	Feuille et fleur	Feuilles : thymol, p-cymène, propionate-2-phényléthyle Fleurs : β -elemène, cinnamate d'éthyle, α -amorphène, pipéritol

D'après les résultats rapportés dans le tableau ci-dessus, nous constatons que : La majorité des constituants des huiles essentielles d'Iran et Afrique du sud extraites à partir des parties aériennes sont : E-citral, bornéol, camphre, l'acétate de néryl, β -caryophyllène, oxyde caryophyllène, p-cymène, les composés de l'HE du Portugal extraites à partir des feuilles et

des fleurs sont : Géraniol, néral, limonène. Cette différence des composés est peut être due aux plusieurs facteurs, la région, ainsi que la partie de la récolte.

1.9. Utilisations :

De nombreux auteurs, à l'instar de Carnat et al. (1999), ont rapporté que la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) présente un intérêt contre l'anxiété et l'insomnie. Zhen (2001), a rapporté que *Lippiacitriodora* a révélé une activité anti oxydante grâce à la présence dans sa composition de certains phénols. Hmamouchi(1999), a certifié que *Lippiacitriodora*. est un puissant expectorant, un bon diurétique et un antalgique contre les migraines [38].

1.10. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lippiacitriodora*

L'huile essentielle de *Lippiacitriodora* présente, in vitro, une activité antibactérienne et antifongique intéressante. Les composants majeurs comme le géraniol, néral et limonène peuvent être responsable de la différenciation de l'activité antimicrobienne. D'ailleurs, tous ces composés sont bien connus pour leurs propriétés antimicrobiennes [39].

Plusieurs études ont montré l'efficacité des extraits et de l'HE de *Lippiacitriodora* sur des souches microbiennes tels : L'activité antifongique des extraits méthanolique de *Lippiacitriodora* a été démontrée par les travaux de Ramzi et al, 2010 [40]. Il existe aussi d'autres travaux sur l'activité antimicrobienne des extraits aqueux et acétoniques de l'espèce *Lippiacitriodora* [41]. Hanaa et al, [42] ont montré l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'espèce *Lippiacitriodora* sur différentes souches bactériennes.

1.11. Modification chimique :

1.11.1. Addition nucléophile en catalyse acide :

Les acides forts (tels que H_2SO_4) ou faibles (CH_3COOH) peuvent catalyser ces réactions d'addition nucléophile. En fait, il suffit que L'établissement d'une liaison hydrogène entre L'acide (ou H^+) et L'oxygène du carbonyle augmente la charge partielle positive du carbone du carbonyle, ce qui le rendra bien plus sensible aux attaques nucléophiles [36]:

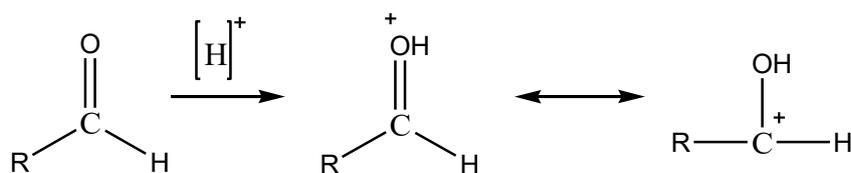


Figure 1.9 : La réaction d'addition nucléophile en catalyse acide

1.11.2. Addition nucléophile de dérivés azotés R - NH₂ :

Cette réaction nécessite un pH compris entre 3 et 5, pour qu'il y ait suffisamment de protons pour protoner l'oxygène du carbonyle, et pas trop pour éviter de protoner l'azote de R - NH₂, ce qui supprimerait ses propriétés nucléophiles. Le mécanisme est le suivant [43] :

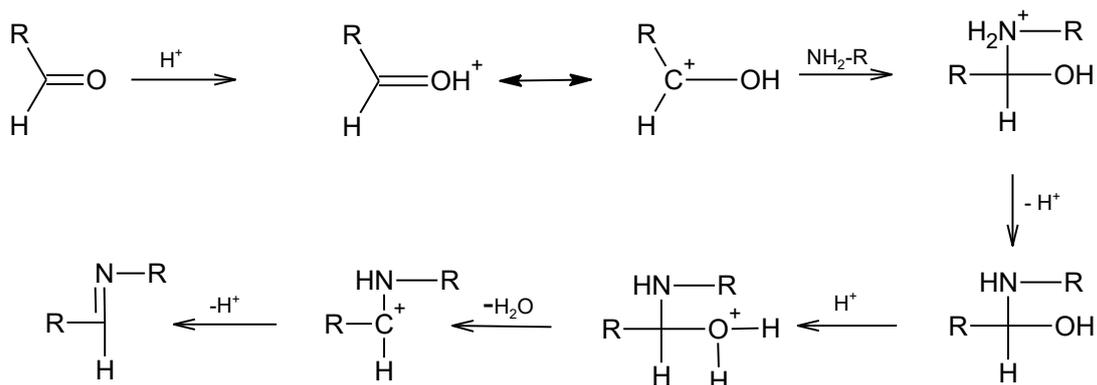


Figure 1.10 : La réaction d'addition nucléophile de dérivés azotés R - NH₂

1.11.2.1. Synthèse d'oximes :

-R ≡ OH (condensation de l'hydroxylamine NH₂OH) :

On obtient une oxime, qui est un dérivé cristallisé des dérivés carbonyles, dont le point de fusion est très reproductible, et donc permettra de caractériser facilement tout dérivé carbonyle. Il existe les aldoximes et les cétoximes[43] :

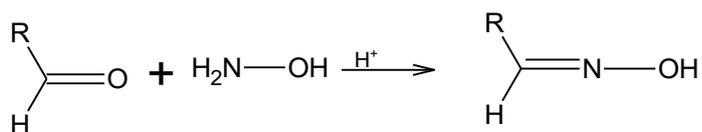
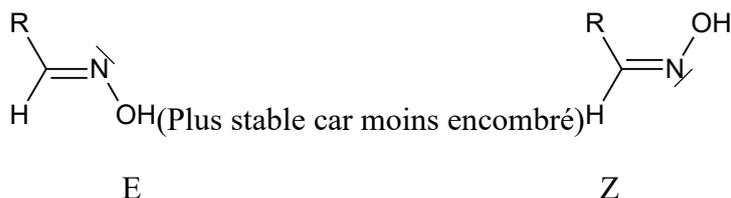


Figure 1.11 : La réaction de condensation de L'hydroxylamine NH₂OH.

Stéréochimie des oximes :

Les oximes peuvent donner deux stéréo-isomères, un E et un Z [43] :



1.11.2.2. Synthèse des Hydra zones :

-R≡ NH2 : hydrazine :

La méthode la plus simple et la plus utilisée pour former une hydrazone, consiste à condenser une hydrazine sur un aldéhyde ou une cétone. Si l'hydrazine subit parfois une double condensation du composé carbonylé, l'utilisation d'hydrazines mono- ou N,N-dissubstituées permet de synthétiser très facilement les hydrazones correspondantes[43].

La réaction des dérivés carbonylés avec L'hydrazine donne des dérivés cristallisés caractéristiques appelés hydrazones :

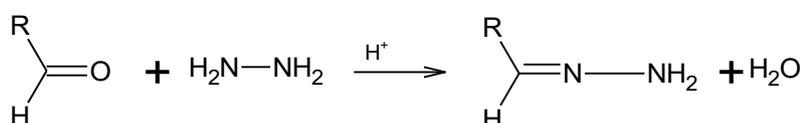


Figure 1.12 : La réaction des dérivés carbonylés avec L'hydrazine.

Cas particulier du traitement d'un dérivé carbonylé en milieu fortement basique en présence d'un donneur de protons à très haute température.

1.11.3. Réaction de WOLFF KISCHNER [43]_-:

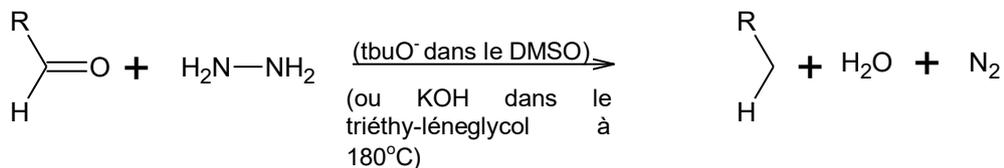


Figure 1.13 : la réaction de WOLFF KISCHNER.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Matériels :

Dans ce chapitre, nous présentons les différents produits et matériaux utilisés, et nous donnons un rappel bibliographique sur les principes fondamentaux des différentes méthodes de caractérisation utilisées dans ce travail.

2.1.1. Matériels biologiques :

2.1.1.1. Matériel végétal :

La plante étudiée *Lippiacitriodora* appartient à la famille des Verbénacée. Elle a été récoltée au niveau de la région des hauts-plateaux wilaya de Sétif.

Tableau 2.1 : Les caractéristiques géographiques de la région de récolte de la plante.

Région	Hauts-plateaux
Latitude	36° 11' 29 N
Altitude	1080 mètres
Longitude	5° 24' 34 E

La période de récolte s'étale du mois de Février à Mars.

L'extraction de l'huile essentielle est réalisée à partir des feuilles sèches, à l'air libre, à l'ombre à température ambiante.



Figure 2.1 : La verveine enfeuilles sèches.

2.1.1.2. Souches bactériennes :

Les souches utilisées dans notre étude, font partie de deux groupes des microorganismes, qui sont des microorganismes pathogènes et microorganismes contaminant. Les tests sont réalisés sur quatre souches bactériennes.

Tableau 2.2 : Les souches bactériennes utilisées.

Souches	Familles	Sources
<i>E. coli</i>	Enterobacteriaceae	Infection urinaire
<i>Protéusmérabilis</i>	Enterobacteriaceae	Pus
<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylococcaceae	Infection urinaire
<i>Stréptococcus</i>	Streptococcaceae	Infection urinaire

2.1.1.3. Milieu de culture :

Dans notre travail nous avons utilisé comme milieux de culture les suivants:

Tableau 2.3 : Les milieux de cultures utilisés.

Milieu de cultures	Utilisations
<ul style="list-style-type: none"> Gélose nutritive (GN) 	<ul style="list-style-type: none"> l'<u>isolement</u> qui est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche <u>bactérienne</u>.
<ul style="list-style-type: none"> Muller Hinton(MH) 	<ul style="list-style-type: none"> l'activité biologique des souches bactériennes.
<ul style="list-style-type: none"> Gélose au sang frais 	<ul style="list-style-type: none"> l'isolement des bactéries exigeantes, en particulier pour les streptocoques.

2.1.2. Produits chimiques :

Tableau 2.4 : Les produits chimiques

Produit	Fabrication	Pureté	Nom chimique
H ₄ N ₂ .H ₂ O	FLUKA	98 %	Hydrazine
NH ₂ OH.HCl	FLUKA	98.80 %	Hydroxylamine
(C H ₃) ₂ CO	PANREAC	100 %	Acétone
CH ₃ CH ₂ OH	PANREAC	99,9 %	Ethanol
CH ₃ COOH	PANREAC	85 %	Acide acétique
C ₂ H ₆ OS	BIOCHIMIE	98 %	Diméthyl sulfoxyde

2.1.3. Matériels de mesures :

2.1.3.1. chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC MS) :

L'appareil utilisé est GC Trace UltraDSQII de Thermo-fisher avec les conditions suivantes :

-type de colonne : capillaire RTX-5 (95%polydimethylsiloxane-5%phenylsiloxane).

-Dimension de la colonne : 30mx 0.25mm x 0.25µm.

-Température initiale : 40°C (1min).

-Vitesse de chauffe : 8°C/min.

-Température finale : 250°C (2min).

-Température de l'injecteur PTV : 250°C.

-Mode d'injection split (avec division) (1/30).

-Débit constant : 1ml/min.

-Gamme de masse : 29 à 450 amu.

-Ligne de transfert : 250°C.

2.1.3.2. Infra-rouge :

Les spectres infra-rouges (IR) sont enregistrés sur un spectromètre à transformée de fourier, de marque PARAGON 1000 pc.

2.1.3.3. UV/Visible :

L'appareil utilisé est de type spectrophotomètre UV-vis SHIMADZU UV-1800 à double faisceaux, piloté par un micro-ordinateur avec une cellule de 10 mm.

2.2. Méthodes :

2.2.1. Extraction de l'huile essentielle de *Lippiacitriodora* par Hydrodistillation:

L'extraction d'huile essentielle a été effectuée par hydro-distillation (Figure 2) il s'agit de la méthode la plus simple, et de ce fait la plus anciennement utilisée.

La matière végétale (dans notre cas *Lippiacitriodora*) qui est estimée à 15 g (après plusieurs pesées testées 15 g de verveine odorante convenait à notre méthode) est immergée directement dans un ballon de 1L rempli de 700ml d'eau distillée, placé sur une source de

chaleur (Chauffe-ballon), le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant suite au choc thermique que subissent les vapeurs. celles-ci se transforment de vapeurs en liquides, puis elles sont récupérées dans un béccher, et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité.

Cette opération a été réalisée pendant 15 jours, 4 ballons par jour et la durée de chaque ballon était de 2 heures.

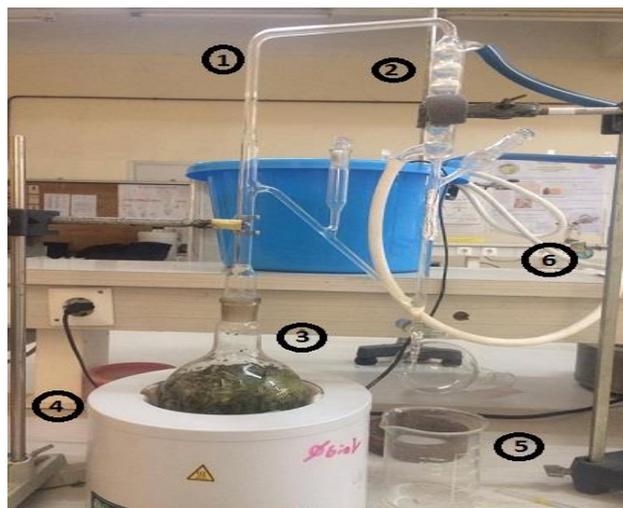


Figure 2.2 : Montage d'hydro-distillation.

- (1) Clevenger.
- (2) Réfrigérant.
- (3) Ballon de 1000 ml.
- (4) Chauffe-ballon.
- (5) Béccher.
- (6) Support.

2.2.2. Conservation de l'huile essentielle obtenue :

L'huile essentielle extraite est conservée dans un flacon en verre teinté, à basse température, et nous l'avons couvert de papier aluminium pour la préserver de l'air et la lumière.

2.2.3. Rendement :

Le rendement en H.E. est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids du matériel végétal utilisé (*Lippiacitriodora*). Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante:

$$R(\%) = \frac{m_{HE}}{m_V} \times 100$$

- R: rendement de l'huile en %
- m_{HE} : masse de l'huile en g
- m_V : masse du matériel végétal en g.

2.2.4. Indice de réfraction :

L'indice de réfraction d'une huile essentielle, est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante. La longueur d'onde spécifiée est $(589,3 \pm 0,3)$ nm, correspondant aux radiations D1 et D2 du sodium + $0,0004(t-t')$: valeur lue à la température t' , à laquelle a été effectuée la détermination .

t'' : température de référence.

$$\eta_D^{20} = \eta_D^t + 0,0004(t' - 20)$$

η_D^{20} : Valeur de la lecture obtenue à la température « t' » à laquelle a été effectuée la détermination

2.3. Modification chimique de l'huile essentielle de *Lippiacitriodora* :

2.3.1. Mode opératoire :

2.3.1.1. La première réaction de modification de l'huile essentielle de la verveine odorante par l'hydroxylamine :

Dans un ballon de 50 ml, on introduit 10 mmoles d'huile essentielle qu'on dilue dans 15 ml d'éthanol, auxquels on ajoute 1 ml d'acide acétique et 11 mmoles d'hydroxylamine hydrochloride.

Le mélange réactionnel a été soumis à un montage à reflux sous agitation à une température de 50 C° pendant deux heures.

Après refroidissement on chasse le solvant avec un évaporateur rotatif.

2.3.1.2. La deuxième réaction de modification de l'huile essentielle de la verveine odorante par l'hydrazine monohydrate :

Dans un ballon de 50 ml, on introduit 10 mmole d'huile essentielle qu'on dilue dans 15 ml d'éthanol puis 1 ml d'acide acétique auxquels on ajoute progressivement 11 mmole d'hydrazine monohydrate.

Le mélange réactionnel a été soumis à un montage à reflux sous agitation à une température de 50 C° pendant deux heures.

Après refroidissement on soumet notre produit à une recristallisation.

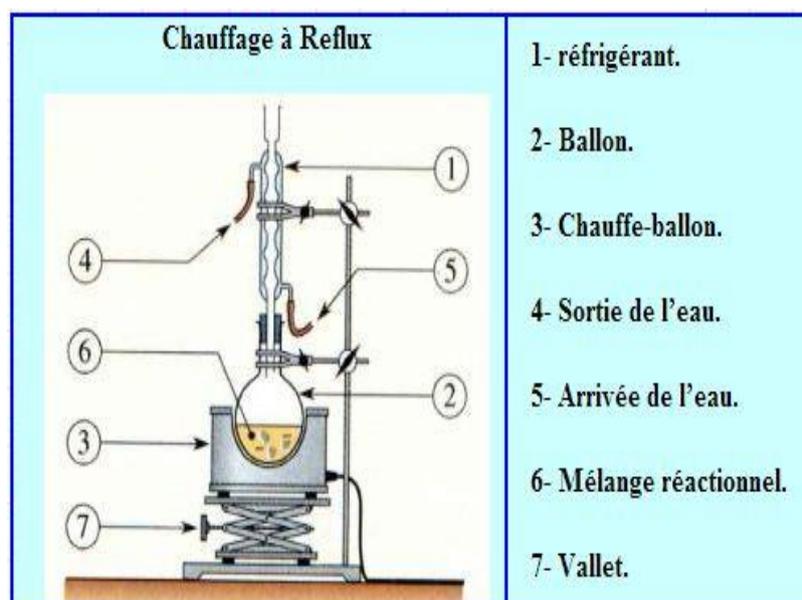


Figure 2.3 : Montage à reflux.

2.4. Activités antibactériennes :

2.4.1. Les disques :

Les disques vierges pour l'étude de l'activité antibactérienne ont été fournis par Sidal de Médéa dans la figure 2.4 :



Figure 2.4 : Disques vierges

2.4.2. Préparation des pré- cultures :

Les souches microbiennes à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie, contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 24 h à 37 C°, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

2.4.3. Préparation des suspensions bactériennes :

A l'aide d'une pipette pasteur, nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, qui ont été mises dans de l'eau physiologique stérile de sel (Na Cl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée.

2.4.4. Tests de l'activité antibactérienne :

L'évaluation de l'activité antibactérienne est effectuée par aromatoigrammes

2.4.5. Principe :

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antibactérien en milieu solide dans une boîte de pétri en contact avec la souche bactérienne. L'effet du produit antibactérien sur la cible, est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction d'un diamètre d'inhibition.

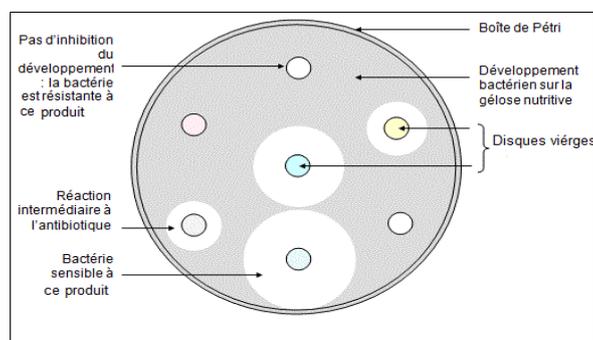


Figure 2.5 : Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de Pétri

L'évaluation de l'activité antibactérienne de notre huile essentielle de *Lippiacitriodora* et de ses modifications à été faite sur 4 souches bactériennes.

Le résultat peut être symbolisé par des signes, d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle et ses modifications.

Non sensible ou résistante (-) : diamètre < 8 mm.

Sensible (+): diamètre entre 9 à 14mm.

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.

Extrêmement sensible (+++): diamètre >20mm.

2.4.6. Mode opératoire :

A l'aide d'un écouvillon, une quantité de suspension bactérienne à tester est étalée sur la surface de la gélose nutritive, dans des conditions aseptiques, et à l'aide d'une pince stérile, les disques imbibés d'huile essentielle de *Lippiacitriodora* native et modifiée, a différentes concentrations, sont déposés dans la boîte a pétri (1 disque/boîte). Les boîtes sont ensuite fermées et incubées à température de 37 C° pendant 24 heures.

2.4.7. Choix des concentrations :

Différentes concentrations d'huile native et modifiée de *Lippiacitriodora* sont testées (2,2 % et 1,1%).

2.4.8. Lecture :

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette partie d'étude, l'extraction des huiles essentielles de *Lippiacitriodora*, leurs Caractérisations organoleptiques, physico-chimiques ainsi que l'examen de ses propriétés antimicrobiennes ont fait l'objet de discussion.

3.2. Extraction :

3.2.1. Le rendement en huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) :

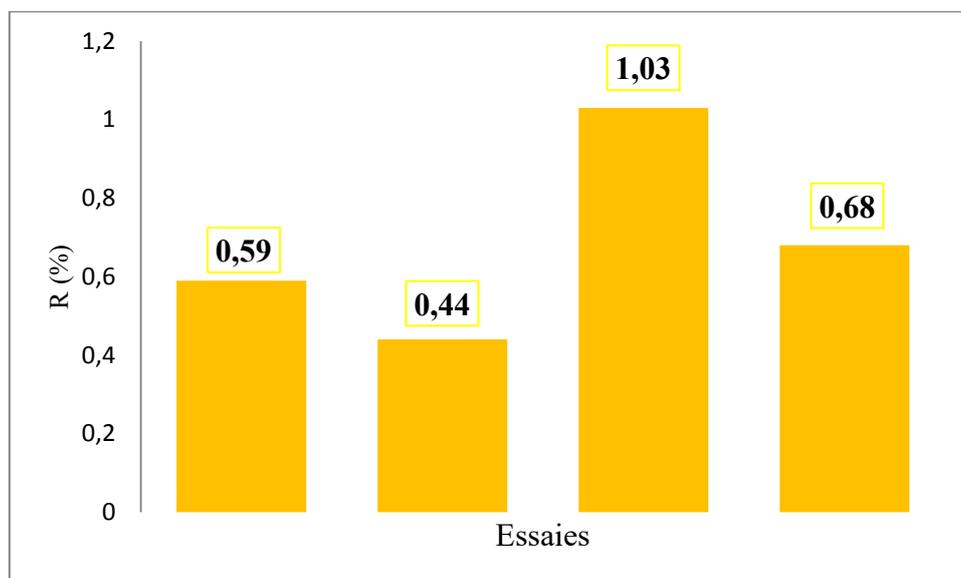


Figure 3.1 : Représentation des différents rendements en huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*).

L'extraction de l'HE de *Lippiacitriodora* effectuée par l'hydrodistillation de type Clevenger a fourni un rendement moyen de 0.68%.

Le calcul du rendement de *Lippiacitriodora* a été effectué au niveau de la Faculté des Sciences et de la Technologie Département des sciences de la matière à Khemis Miliana dans un projet de fin d'étude et qui est de $R = 0.70\%$ est très proche de notre résultat $R = 0.68\%$ contrairement à celui de la faculté d'Agronomie de Blida qui est de $R = 0.20\%$ et qui est bien loin des deux résultats précédents.

3.2.2. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques de l'huile essentielle

LippiaCitriodora:

Tableau 3.1 : Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques de l'huile essentielle de la verveine odorante (*LippiaCitriodora*).

η_D^{20}	Aspect	Couleur	Odeur
1.486	Liquide mobile	Jaune	Agréable citronnée

L'huile essentielle de *Lippiacitriodora* qui a fait l'objet de notre étude, a été aussi bien étudiée en 2014/2015 au niveau de la Faculté des Sciences et de la Technologie Département des sciences de la matière à Khemis Miliana, et aussi au niveau de la Faculté de biologie de Blida dans un projet de fin d'étude.

Les résultats de leur étude concernant l'indice de réfraction sont respectivement estimés à $\eta_D^{20} = 1.492$ et $\eta_D^{20} = 1.487$ et qui sont très proches de notre propre résultat $\eta_D^{20} = 1.486$.

3.3. Modification :

Après observation des produits qui résultent de nos deux modifications et la mesure de l'indice de réfraction nous avons pu établir ce tableau :

Tableau 3.2 : Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques des deux modifications.

/	η_D^{20}	Aspect	Couleur	Odeur
HE de la verveine odorante modifiée par hydroxylamine	1.4012	Liquide mobile	Marron	Forte citronnée
HE de la verveine odorante modifiée par hydrazine monohydrate	--	Solide	Blanc	Douce citronnée

Après observation des résultats obtenus, nous déduisons que la première modification a un indice de réfraction $\eta_D^{20} = 1.4012$ qui est inférieur à celui de H.E native, avec une couleur plus

foncée et une odeur plus forte .Quand a la deuxième modification qui a changé d'aspect de liquide à solide, et qui a une odeur proche de celle de H.E native.

3.4. Caractérisation :

3.4.1. Analyse UV/Visible :

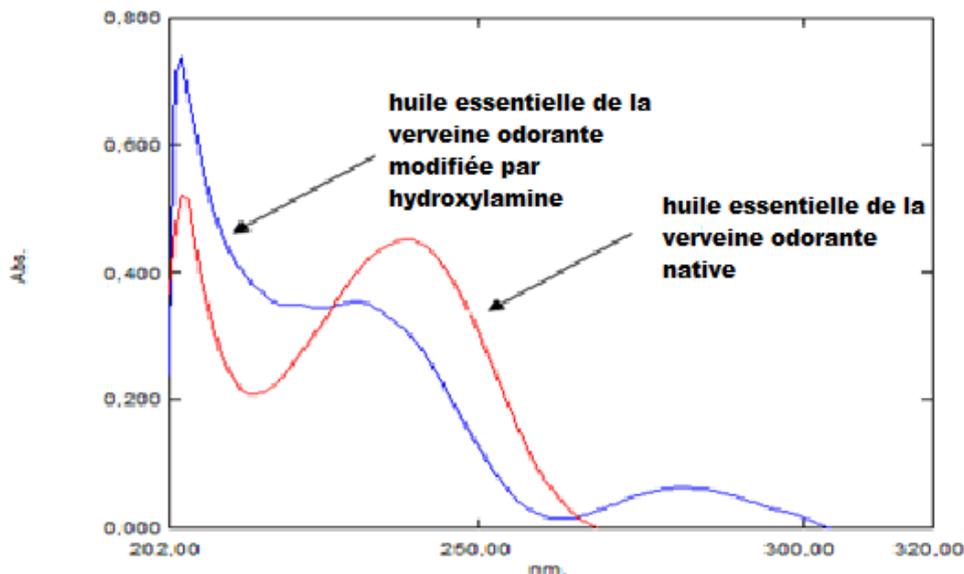


Figure 3.2 : Spectre UV-Vis de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) avant et après réaction avec hydroxylamine.

Le profil UV-Vis de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) est caractérisé par la présence de deux bandes. La première bande large est localisée à 240 nm et elle attribuée à la transition électronique $n \rightarrow \pi^*$ de la fonction carbonyle (HC=O) d'un aldéhyde. Tandis que la deuxième bande courte est moins large située à 210 nm relative à l'excitation électronique $\pi \rightarrow \pi^*$ d'une double liaison de la structure d'un terpène. Cependant, la réaction de l'hydroxylamine avec l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) a fournit une courbe UV-Vis totalement différente caractérisée par la disparition de la bande spécifique à la transition électronique $n \rightarrow \pi^*$ de la fonction carbonyle (HC=O), l'apparition d'une faible bande à 280 nm et l'augmentation de l'intensité de la bande de l'excitation électronique $\pi \rightarrow \pi^*$ d'une double liaison de la structure d'un terpène localisée exactement à la même longueur d'onde de 210 nm.

3.4.2. Analyse Infra-rouge :

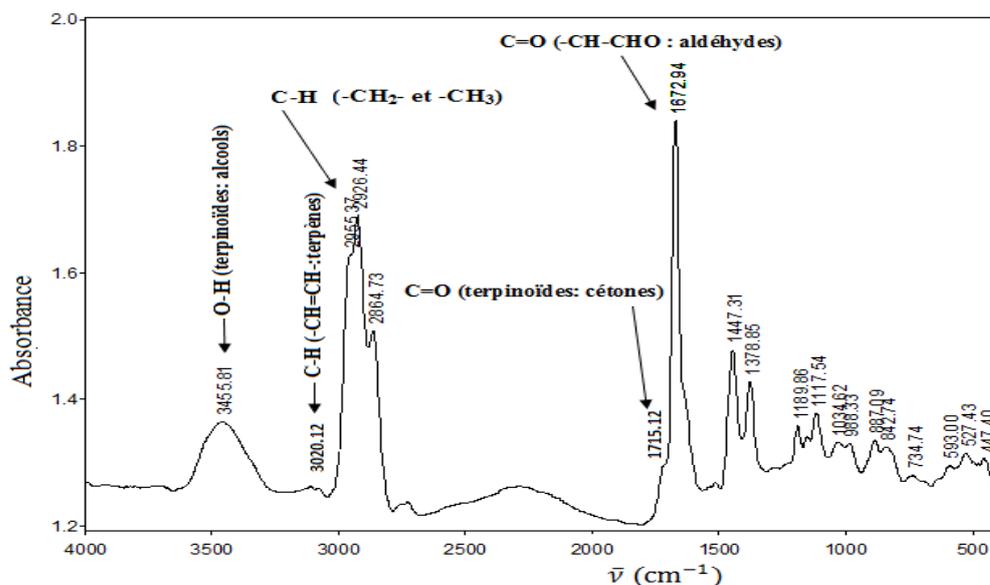


Figure 3.3 : Le spectre de l'infrarouge de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*).

Le spectre IRTF de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) reflète exactement la composition chimique de celle-ci. Il permet de distinguer principalement la présence du pic caractéristique à $1672,94 \text{ cm}^{-1}$ de la fonction carbonyle C=O d'un aldéhyde renfermant une double liaison conjuguée. La double -C=C- existant au sein de la structure des composés de l'huile essentielle des terpènes et des citrales est identifiée par la vibration C-H située à $3020,12 \text{ cm}^{-1}$ par contre l'autre pic de la vibration C=C est confondue avec celui de la fonction carbonyle de l'aldéhyde normalement visible à $1660\text{-}1650 \text{ cm}^{-1}$. L'huile essentielle renferme aussi des alcools identifiés par la présence de la bande de vibration de la liaison OH située à $3455,81 \text{ cm}^{-1}$. Le petit pic situé à $1715,12 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique de la fonction carbonyle d'une cétone révèle la présence d'une faible quantité de cette dernière dans la composition chimique de l'huile essentielle.

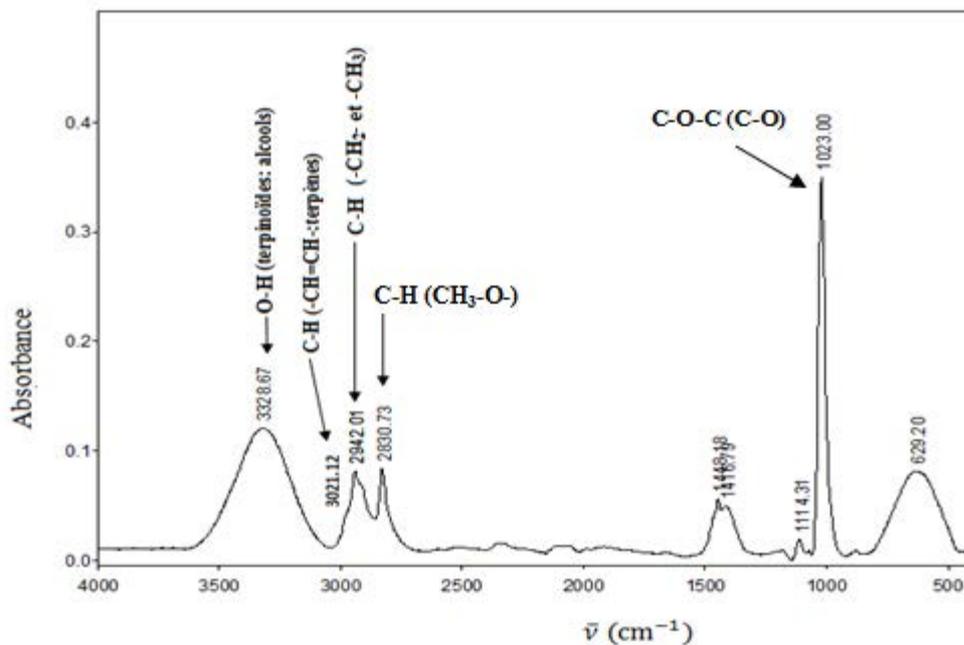


Figure 3.4 : Le spectre de l'infrarouge de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) modifiée par hydroxylamine.

L'analyse du spectre IRTF du produit de la réaction de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) avec l'hydroxylamine dans l'éthanol en présence d'acide acétique comme catalyseur n'a pas fournis l'oxime attendu et dont la fonction carbonyle de l'aldéhyde $-C=O$ sera remplacé par une fonction imine $-C=N$ mais un autre produit est obtenu. Le spectre IRTF obtenu montre la disparition de la fonction carbonyle de l'aldéhyde $-C=O$ et une diminution appréciable des pics caractéristiques de la vibration de la liaisons C-H des groupements méthylène (CH_2) et méthyle (CH_3) (voir la figure de l'huile essentielle avant modification). Cependant deux nouveaux pics sont apparus, le premier pic situé à $2830,70\text{ cm}^{-1}$ spécifique de la vibration C-H d'un éther (CH_3-O-) et le deuxième pic très important localisé à $1023,00\text{ cm}^{-1}$ caractéristique de la vibration C-O-C d'un éther. Il faut ajouter l'augmentation de l'intensité de la bande OH relative aux alcools.

3.4.2. Analyse Infra-rouge :

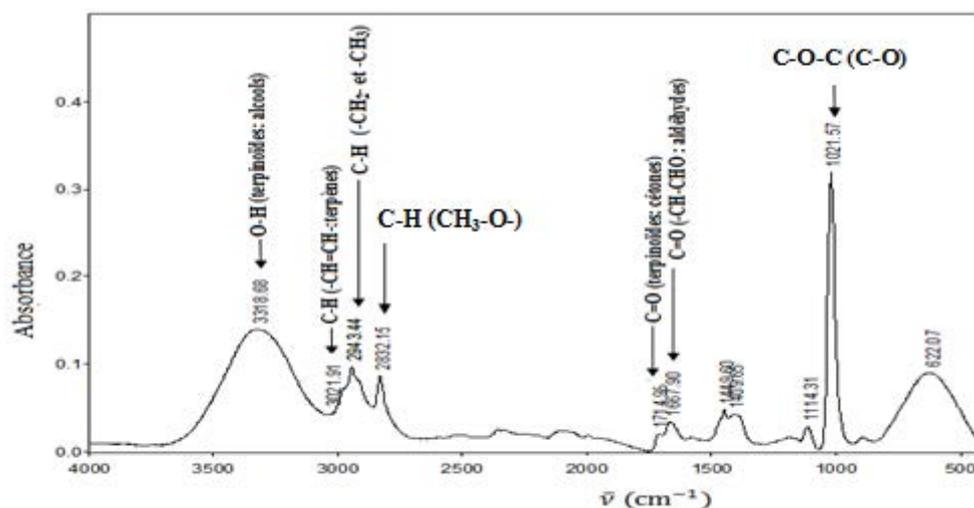


Figure 3.5 : Le spectre de l'infrarouge de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippia citriodora*) modifiée par hydrazine.

L'analyse du spectre IRTF du produit de la réaction de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippia citriodora*) avec l'hydrazine dans l'éthanol en présence d'acide acétique comme catalyseur n'a pas fournis l'hydrazone attendu et dont la fonction carbonyle de l'aldéhyde -C=O sera remplacé par une fonction imine -C=N mais un autre produit est obtenu. Le spectre IRTF obtenu montre la disparition de la fonction carbonyle de l'aldéhyde -C=O et une diminution appréciable des pics caractéristiques de la vibration de la liaisons C-H des groupements méthylène (CH_2) et méthyle (CH_3) (voir la figure de l'huile essentielle avant modification). Cependant deux nouveaux pics sont apparus, le premier pic situé à $2832,15 \text{ cm}^{-1}$ spécifique de la vibration C-H d'un éther ($\text{CH}_3\text{-O-}$) et le deuxième pic très important localisé à $1021,57 \text{ cm}^{-1}$ caractéristique de la vibration C-O-C d'un éther. Il faut ajouter l'augmentation de l'intensité de la bande OH relative aux alcools.

3.4.3. Analyse GC/MS :

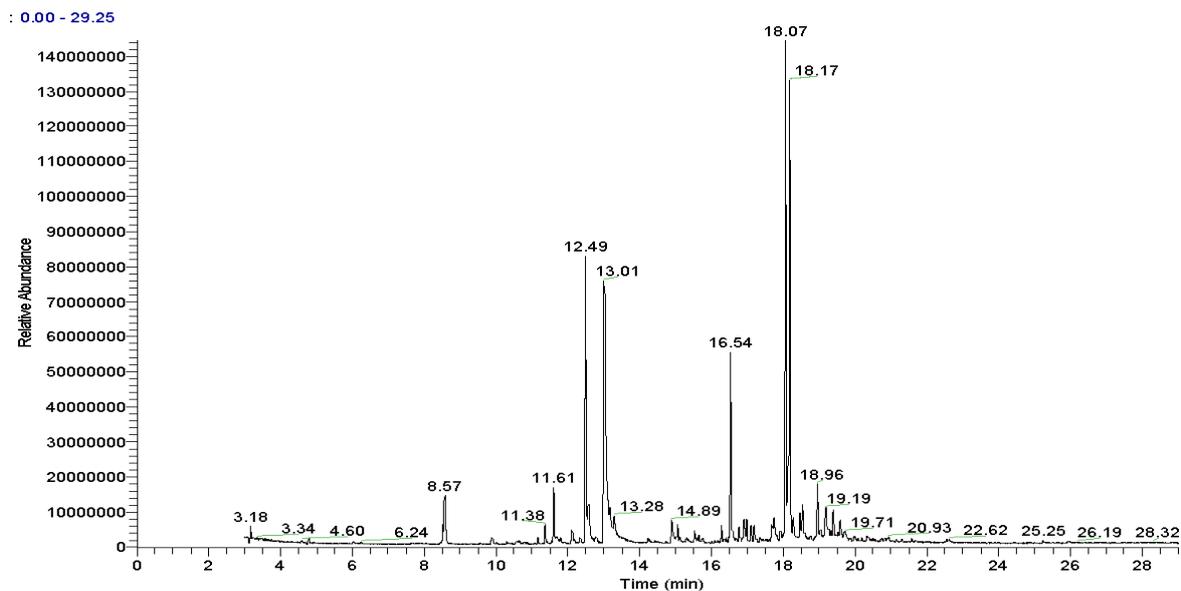


Figure 3.6 : Chromatogramme GC/MS de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippia citriodora*) native.

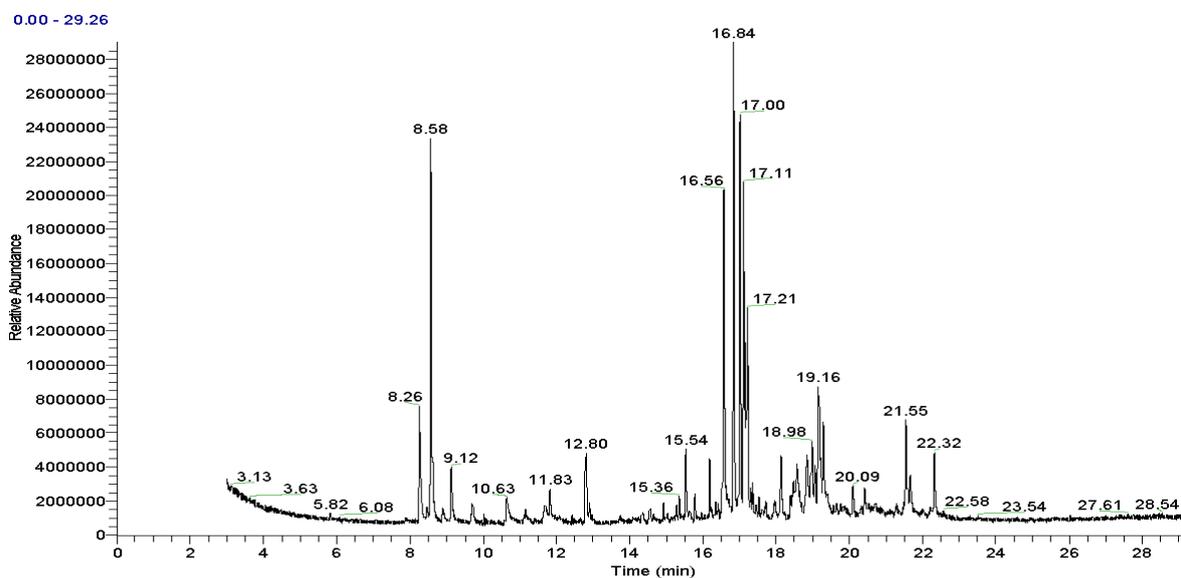
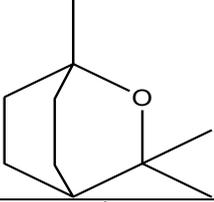
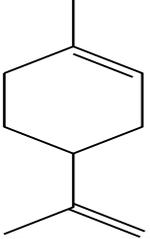
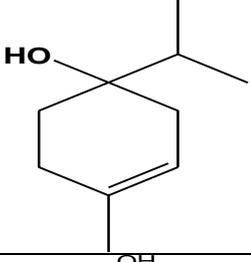
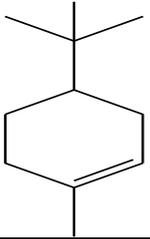
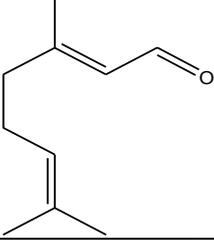
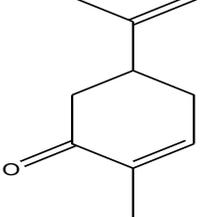
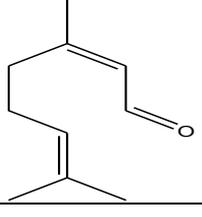
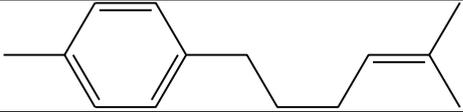
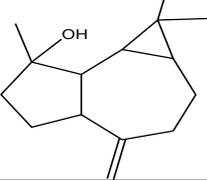
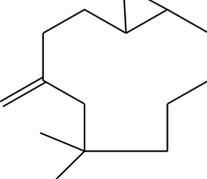


Figure 3.7 : Chromatogramme GC/MS de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippia citriodora*) modifiée par l'hydroxylamine.

**Tableau 3.3 : L'analyse GC/MS d'huile essentielle de la verveine odorante
(*Lippiacitriodora*) native.**

Composés	Structure	Tr	Teneur (%)
1,8-Cinéole		8.57	0.59
D-Limonène		8.59	0.49
Terpinen-4-ol		11.38	0.29
α -Terpineol		11.61	0.69
Géranial		12.49	11.41
Carvone		12.54	0.49
Néral		13.01	19.67

Curcumene		16.54	10.23
Spathulenol		18.07	29.60
oxyde de Caryophyllène		18.17	25.17

Le chromatogramme GC-MS de l'huile essentielle de la verveine odorante montre la présence de deux catégories de terpènes et de terpinoïdes, à savoir les monoterpènes et les sesquiterpènes .

Les molécules de l'huile essentielle ont été identifiées par comparaison de leurs spectres de masses avec celui de la base de données.

Les mono terpènes et mono terpinoïdes sont elues entre 9.6 min et 13.01 min avec les composés suivants :

1,8-Cinéole (0.59%), D-Limonène (0.49%), α -Terpineol (0.69%), Géraniol (11.41%), Néral (19.67%). par contre les sesquiterpènes sont visible sur le chromatogramme entre 16 min et 18 min.

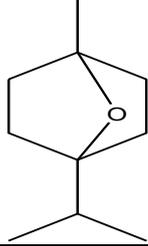
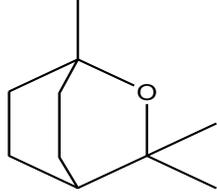
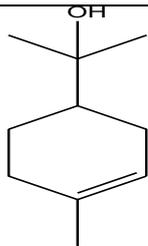
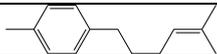
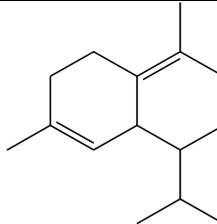
Les sesquiterpènes obtenues au cours de cette analyse sont constitués de :

Curcumen (10.23%), Spathulenol (29.60%), Oxyde de caryophyllène (25.17%).

Les résultats de l'analyse GC-MS de l'huile essentielle de la verveine odorante montre la présence d'une fonction importante d'aldéhydes et d'alcools sous formes de sesquiterpinoles.

Ces informations sont comparables avec tous les travaux antérieurs et la nature de la plante.

Tableau 3.4 : l'analyse GC/MS d'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) modifiée par hydroxylamine.

Composés	Structure	Tr	Teneur (%)
1,4-Cinéole		8.25	4.6
1,8-Cinéole		8.58	13.5
Non identifiée		11.38	1.1
α -Terpineol		12.80	2.4
Non identifiée		15.54	2.5
Curcumene		16.56	11.6
Non identifiée		16.64	16.7
Non identifiée		17	14.2
Non identifiée		17.11	11.7
1(10),4- Cadinadiène		17.21	7.4
Non identifiée		18.98	2.4
Non identifiée		19.16	4.6
Non identifiée		20.09	1.4
Non identifiée		21.55	3.5
Non identifiée		22.32	2.5

Le chromatogramme de l'huile essentielle de la verveine odorante modifiée par l'hydroxylamine, permet de distinguer la disparition des pics importants comme ceux du Géraniol et Néral, et l'apparition de nouveaux composés comme le 1,4-Cinéole.

Les autres composés n'ont pas pu être identifiés par comparaison de leurs spectre de masse avec ceux de la base des données.

Cependant leur identification nécessite une étude approfondie de leurs spectres de masse en complément avec l'analyse IR.

3.5. Activité antibactérienne :

Les résultats du test de sensibilité microbienne à l'huile essentielle de *Lippiacitriodora* et ses deux modifications sont regroupés dans le tableau suivant:

Tableau 3.5 : Résultats d'Activité antibactérienne de la verveine odorante (*L.citriodora*) et ses modifications.

	E. Coli	Protéus méragilis	Stréptococcus	Staphylococcus aureus
HE native	(++)	/	(++)	/
HE native dilution 1	(-)	/	(-)	(-)
HE de la verveine odorante modifiée par hydroxylamine	(-)	(+++)	(+++)	(+++)
HE de la verveine odorante modifiée par hydroxylamine 2.2%	/	(+)	(+)	/
HE de la verveine	(-)	(-)	(-)	(-)

odorante modifiée par hydroxylamine 1.1%				
HE de la verveine odorante native 2,2 %	(-)	(-)	(-)	(-)
Ciprofloxacine	(+++)	(+++)	(-)	(-)
Cotrimoxazole	(+++)	(-)	(-)	(+++)
Tétracycline	(-)	(-)	(+++)	(+++)

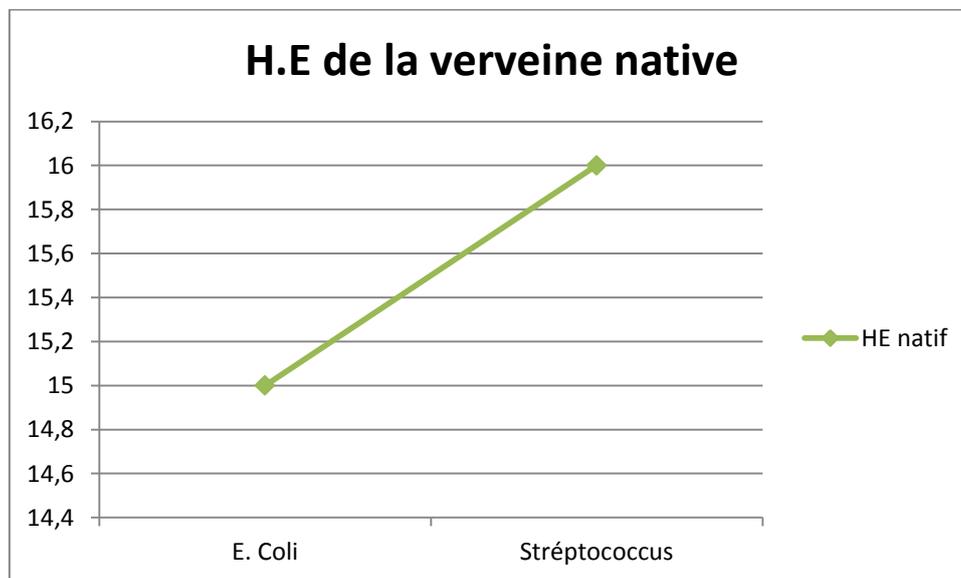


Figure 3.8: Représentation graphique de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle la verveine odorante native.

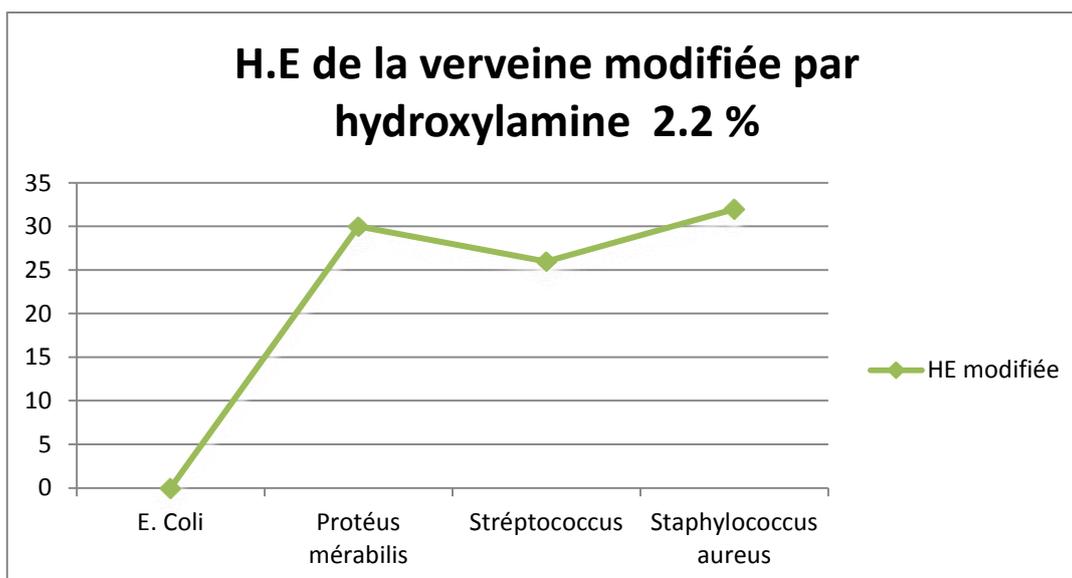


Figure 3.9 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la verveine odorante modifiée par hydroxylamine 2.2%

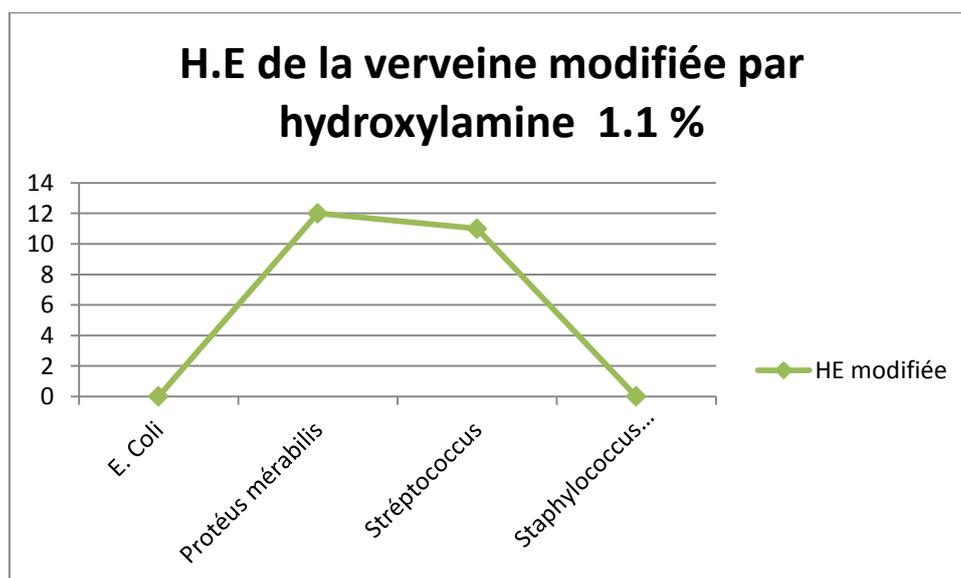


Figure 3.10 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne de de l'huile essentielle de la verveine odorante modifiée par hydroxylamine 1.1%

Les résultats obtenus sont aussi présentés sur la figure suivante :

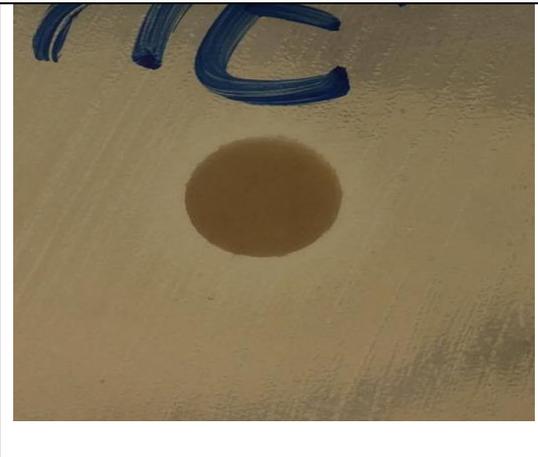
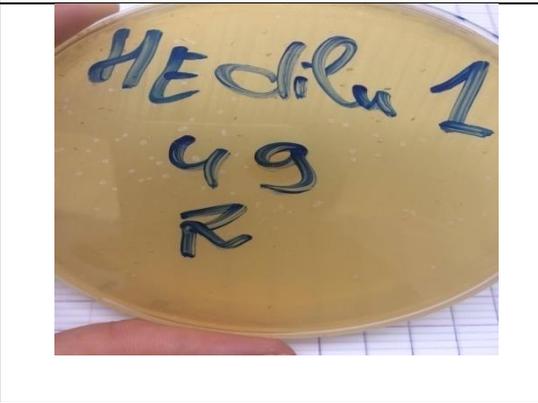
	
<p>Effet de l'HE de <i>Lippiacitriodoranative</i> sur <i>Escherichia Coli</i>.</p>	<p>Effet de l'HE de <i>Lippiacitriodoranative</i> sur <i>Stréptococcus</i>.</p>
	
<p>Effet de la première modification de l'HE de <i>Lippiacitriodorasur</i> <i>Protéusmérabilic</i>.</p>	<p>Effet de la première modification de l'HE de <i>Lippiacitriodorasur</i> <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>
	
<p>Effet de l'HE de <i>Lippiacitriodoradiluée</i> sur <i>Escherichia Coli</i>.</p>	<p>Effet de la première modification de l'HE de <i>Lippiacitriodorasur</i> <i>Stréptococcus</i>.</p>

Figure 3.11 : Effet antibactérien de l'huile essentielle de la verveine odorante native (*LippiaCitriodora*) et sa modification par hydroxylamine sur différentes souches bactériennes.

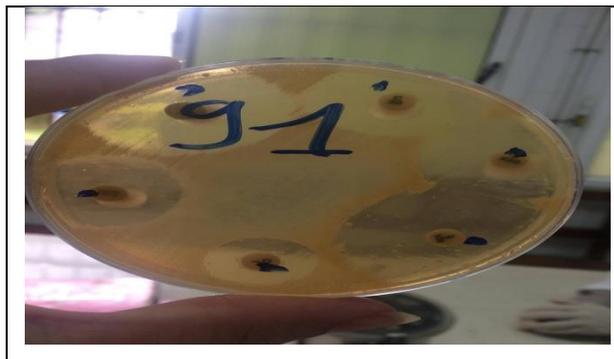


Figure 3.12 : Antibiogramme de différents antibiotiques sur *Staphylococcus aureus* .

les résultats montrent que l'HE de *Lippiacitriodoranative* native possède une activité antimicrobienne sur les deux souches bactériennes testées : légèrement inhibitrice sur *Escherichia Coli* (15 mm) et *Stréptococcus*(16 mm).de ce fait, nous concluons que l'HE de *Lippiacitriodorapossède* un spectreD'activités antibactériennes important.

Le tableau représenté ci-dessus, montre clairement qu'une diminution de la concentration de l'huile essentielle appliquée engendre une diminution de l'activité antibactérienne, ou même une disparition totale de cette dernière.

Venons maintenant a l'huile essentielle de la verveine odorante modifiée par hydroxylamine qui elle, a une activité antibactérienne assez importante sur les souches bactérienne testées : très fortement inhibitrice sur *protéusmérabilis*(30mm) , *Staphylococcus aureus* (32mm) et *Stréptococcus*(26mm) ; et absence d'inhibition sur *E. Coli* .cela montre clairement que notre huile essentielle modifiée possède un spectre d'activité antibactérienne élevé sur les bactéries gram+ que sur les gram-. Les bactéries à gram positif sont plus sensibles que les bactéries à gram négatif.

Concernant les résultats de l'huile essentielle de la verveine odorante modifiée par hydroxylamine 2.2 % : considérablement inhibitrice sur *Protéusmérabilis*(12mm) et *Stréptococcus*(11mm) ; et absence d'inhibition sur *E. Coli* et *Staphylococcus aureus*. Quand a l'huile essentielle de la verveine odorante modifiée par hydroxylamine 1.1 % plus aucune activité antibactérienne a été observée sur les souchesbactériennes,Cela montre que l'activité antibactérienne a diminué avec la diminution de la concentration.

Enfin, nous clôturons nos résultats avec l'huile essentielle de la verveine odorante modifiée par hydrazine 1.1 % qui n'a eu aucune sensibilité aux souches bactériennes testées. Donc qui n'a pas d'activité antibactérienne.

Pour pouvoir nous assurer de notre étude, nous nous sommes référés aux antibiogrammes réalisés au niveau du laboratoire microbiologique de l'hôpital FARES YAHIA de koléa, avec les mêmes souches antibactériennes que nous avons testées, nous voyons bien qu'il ya des souches résistantes et d'autres sensibles.

Conclusion :

Les huiles essentielles jouissent de propriétés biologiques très importantes. Cependant l'introduction de nouveaux groupements chimiques aux seins de la structure des molécules de ces derniers permettent de provoquer des effets synergiques des propriétés biologiques.

Le travail entrepris dans ce contexte a permis grâce l'extraction par hydrodistillation de récupérer à partir de la verveine odorante (*Lippiacitriodora*) l'huile essentielle avec un rendement appréciable R = 0.68%.

L'huile essentielle obtenue a été modifiée après caractérisation organoleptique, physico-chimique et spectrales.

Les analyses entrepris permet d'identifier la composition chimique de l'huile grâce a l'analyse UV/Vis, IR et GC/MS.

Les huiles essentielles obtenues après réaction avec l'hydroxylamine et l'hydrazine ont été caractérisés par UV/Vis, IR et GC/MS.

La composition réelle de l'huile essentielle obtenue par remplacement de la fonction carbonyle du Géranial et du Néral n'a pas été totalement identifiée a cause de l'absence d'information dans la base de données de l'analyse GC/MS.

L'activité antibactérienne de l'HE de *Lippiacitriodora* a été déterminée selon la méthode d'aromatogramme, cette technique montre que notre huile possède une activité antibactérienne sur des souches bactériennes gram(+) et gram (-)Cependant, une amélioration de l'activité antibactérienne est apparue concernant l'HE modifiée par hydroxylamine .cela montre clairement que notre huile essentielle modifiée possède un spectre d'activité antibactérienne élevé sur les bactéries grams(+) que sur les grams(-), contrairement a l'HE modifiée par hydrazine qui ne présente pas d'activité antibactérienne.

Ce travail doit être élargit a l'étude des spectres de masses de nouveaux produits obtenues, afin de déterminer leurs structure et éventuellement réalisé des analyses par RMN , ^{13}C , ^1H et bidimensionnelle .

INTRODUCTION

Les plantes produisent naturellement des substances actives permettant de se protéger des insectes, de maladies, ou d'attaques extérieures. De celles-ci ont été tirées les huiles essentielles.

L'utilisation des huiles essentielles en parfumerie, dans les rituels religieux, en cuisine, avec les herbes dites aromatiques, en cosmétologie, et en pharmacie, ainsi que la conservation des aliments est avérée depuis l'antiquité. Nous pouvons citer le célèbre exemple de la technique d'embaumement des Egyptiens au temps faste des pharaons.

Leurs propriétés médicinales et biologiques sont prometteuses, certaines ont été mises en évidence à travers plusieurs publications internationales, et d'autres font encore l'objet d'études de recherche à travers le monde. Aujourd'hui, la recherche de l'activité antimicrobienne de ces huiles, continue en les testant sur davantage de microorganismes à l'origine de plusieurs maladies. De ce fait nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antibactérienne d'une de ces huiles essentielles.

Dans une première partie, les généralités sur les huiles essentielles seront développées, afin de mettre en évidence les différentes caractéristiques des huiles essentielles et leurs usages ainsi que la relation entre la structure chimique des huiles essentielles et leurs propriétés.

Dans une seconde partie, nous allons procéder à l'extraction de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippia citriodora*) et à l'étude de ces propriétés physico-chimiques et spectrales. Nous réaliserons des modifications chimiques de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippia citriodora*) avec deux réactifs bifonctionnels à savoir l'hydrazine et l'hydroxylamine. Après les caractérisations physico-chimiques et spectrales de ces huiles modifiées, le travail est achevé par l'étude de l'activité antibactérienne avec des souches de références G(+) et G(-) de l'huile essentielle de la verveine odorante (*Lippia citriodora*) et ses modifications chimiques par rapport à des antibiotiques connus.

Enfin, la discussion des résultats obtenus permettra de mettre en relief l'étendu et le succès du travail entrepris avec une conclusion.

Liste d'abréviations :

AFNOR : Association Française de normalisation.

C : concentration.

°C : degré Celsius.

°C/min : degré Celsius/minute.

GC/MS : chromatographie en phase gazeuse couplé par la spectrométrie de masse.

E : configuration E qui signifie « ensemble »

E.coli : Escherichia coli.

g : gramme.

HE : huile essentielle.

I : indice de réfraction à 20 degré Celsius.

IR : infrarouge.

m_{HE} : masse en huile essentielle.

mm : Millimètre.

mmole : Milli mole.

ml : Millilitre.

R(%) : Rendement (%).

T : température.

Tr : temps de rétention.

UV : Ultraviolet.

V : Volume.

µl : Microlitre

uma : unité de masse atomique.

Z : configuration Z qui signifie « opposé »

% : pourcentage.

Liste des figures

Figure 1.1 : l'eugénol	6
Figure 1.2 : le carvacrol.....	6
Figure 1.3 : l'acétate de linalyle	7
Figure 1.4 : l'alpha pinène.....	8
Figure 1.5 : le menthol	8
Figure 1.6 : le linalol	8
Figure 1.7 : le géranial.....	9
Figure 1.8 : le néral.....	9
Figure 1.9 : La réaction d'addition nucléophile en catalyse acide.....	16
Figure 1.10 : La réaction d'addition nucléophile de dérivés azotés R- NH ₂	17
Figure 1.11 : La réaction de condensation de L'hydroxylamine NH ₂ OH.....	17
Figure 1.12: La réaction des dérivés carbonylés avec L'hydrazine.....	18
Figure 1.13 : la réaction de WOLFF KISCHNER.....	18
Figure 2.1 : La verveine en feuilles sèches.....	20
Figure 2.2 : Montage d'hydro-distillation.....	22
Figure 2.3 : Montage à reflux.....	22
Figure 2.4 : Disques vierges	25
Figure 2.5 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri.....	26
Figure 3.1 : Représentation des différents rendements en huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i>	26

Figure 3.2 : Le spectre d'UV/Visible d'huile essentielle native et modifiée de <i>Lippia citriodora</i>	28
Figure 3.3 : Le spectre de l'infrarouge d'huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i>	29
Figure 3.4 : Le spectre de l'infrarouge d'HE de la verveine odorante <i>Lippia citriodora</i> modifiée par Hydroxylamine	30
Figure 3.5 : Le spectre de l'infrarouge d'HE de la verveine odorante <i>Lippia citriodora</i> modifiée par Hydrazine.....	31
Figure 3.6 : Le spectre GC/MS de l'huileessentielle de la verveine odorante de <i>Lippia Citriodora</i>	32
Figure 3.7 : Le spectre GC/MS de l'huileessentielle de la verveine odorante de <i>Lippia Citriodora</i> modifiée par Hydroxylamine.....	32
Figure 3.8 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne de l'H.E Native.....	37
Figure 3.9 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne de l'H.E modifiée 2.2%.....	38
Figure 3.10 : Représentation graphique de l'activité antibactérienne de l'H.E modifiée 1.1%.....	38
Figure 3.11 : Effet antibactérien d'HE native de <i>Lippia citriodora</i> et sa première modification sur différentes souches bactériennes.....	39
Figure 3.12 : Antibiogramme de différents antibiotiques sur <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Figure 1 : Comparaison des spectres infra-rouge des deux modifications.....	annexe 1
Figure 2 : Comparaison des spectres infra-rouge de H.E L.citriodora et de ses deux modifications.....	annexe 1
Figure 3 : Refractomètre.....	annexe 1

Figure 4 : Appareil UV/Visible UV-vis SHIMADZU UV-1800.....annexe 1

Figure 5 : GC Trace Ultra DSQ11 de Thermo-fisher.....annexe 1

Grappe 3.6. Représentation graphique de l'activité antibactérienne de l'H.E modifiée 1.1%.....	36
---	----

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Classification botanique de l'espèce <i>Lippia citriodora</i>	10
Tableau 1.2 : Les principaux constituants de l'huile essentielle de la verveine odorante.....	11
Tableau 1.3 : Principaux composés de l'huile essentielle de <i>Lippia Rcitriodora</i> analysée par CG/MS	12
Tableau 1.4 : Composition chimique de <i>Lippia citriodora</i> dans le monde.....	12
Tableau 1.5 : Les principaux composants de l'huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i> récoltés de divers pays	14
Tableau 2.1 : Les caractéristiques géographiques de la région de récolte de la plante	18
Tableau 2.2 : Les souches bactériennes utilisées	19
Tableau 2.3 : Les milieux de cultures utilisés	19
Tableau 2.4 : Les produits chimiques.....	19
Tableau 3.1 : Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques de l'huile essentielle <i>Lippia citriodora</i>	27
Tableau 3.2 : Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques des deux modifications	27
Tableau 3.3 : L'analyse GCMS de l'huile essentielle de la verveine odorante <i>Lippia citriodora native</i>	33
Tableau 3.4 : l'analyse GCMS de l'huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i> modifiée par Hydroxylamine.....	35
Tableau 3.5 : Résultats d'Activité antibactérienne de <i>Lippia citriodora</i> et modifications.....	36

TABLE DE MATIERE

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction Générale

Chapitre 1 : Généralité sur les huiles essentielles

1.1. Historique	1
1. 2. Définition	1
1.3. Répartition des huiles essentielles dans la plante	2
1.4. Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....	2
1.4.1. Extraction par distillation et entraînement à la vapeur d'eau.....	2
1.4.2. Hydrodistillation ou distillation à l'eau	3
1.5. Composition chimique des huiles essentielles	3
1.5.1. Les composés aromatiques	3
1.5.1.1. Les phénols	3
1.5.1.2. Les aldéhydes aromatiques	4
1.5.1.3. Les cétones	4
1.5.1.4. Les esters	5
1.5.2. Les terpènes et ses dérivés	5
1.5.2.1. Les terpènes	5
1.5.2.2. Les alcools terpéniques	6
1.5.2.3. Les aldéhydes terpéniques	6
1.6. Conservation des huiles essentielles	7
1.7. Activité antibactérienne des huiles essentielles	
1.8. Généralité sur la verveine	7
1. 8.1. Généralités.....	7
1.8.2. Historique.....	8
1. 8.3. Description de Lippi citriodora	8
1.8.4. Habitat et culture de L. citriodora	8
1.8.5. Récolte et séchage de L. citriodra	9
1.8.6. Origine et répartition géographique	9
1.8.7. Systématique botanique de la plante	9
1.8.8. Noms communs	10
1.8.9. Classification de la verveine La classification botanique de l'espèce.....	10
1.8.10. Composition chimique.....	10

1.8.10.1. Composition chimique de l'huile essentielle de la verveine algerienne.....	11
1.8.10.2. Composition chimique des huiles essentielles de la verveine dans le monde	12
1.9 . Utilisations.....	15
1.10. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i>	15
1.11. Modification chimique.....	15
1.11.1. Addition nucléophile en catalyse acide.....	15
1.11.2. Addition nucléophile de dérivés azotés R - NH ₂	16
1.11.2.1. Synthèse d'oximes	16
1.11.2.2. Synthèse des Hydrazones	17
1.11.3. Réaction de WOLFF KISCHNER.....	17
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	
2.1. <u>Matériels</u>	18
2.1.1. Matériels biologiques.....	18
2. 1.1.1. Matériel végétal.....	18
2.1.1.2. Souches bactériennes	19
2.1.1.3. Milieu de culture	19
2.1.2. Produits chimiques	19
2. 1.3. Matériels de mesures	20
2. 1.3.1. Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC /MS)	20
2.1.3.2. Infra-rouge	20
2. 1.3.3. UV/Visible	20
2.2. Méthodes	20
2.2.1. Extraction de l'huile essentielle de <i>Lippiacitriodora</i>	20
2.2.2. Conservation de l'huile essentielle obtenue	21
2.2.3. Rendement.....	22
2.2.4. Indice de réfraction	22
2. 3. Modification chimique de l'huile essentielle <i>Lippiacitriodora</i>	22
2.3.1. Mode opératoire.....	22
2. 3.1.1. La première réaction	22
2.3.1.2. La deuxième réaction.....	23

2.4. Activités antibactériennes	23
2.4.1. Les disques.....	23
2.4.2. Préparation des pré cultures	24
2.4.3. Préparation des suspensions bactériennes	24
2.4.4. Tests de l'activité antibactérienne	24
2.4.5. Principe	24
2.4.6. Mode opératoire	25
2.4.7. Choix de concentration.....	25
2.4.8. Lecture	25

Chapitre 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Extraction	Erreur ! Signet non défini. 6
3.1.1. Le rendement en huile essentielle de <i>Lippia citriodora</i>	26
3.1.2. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques de l'huile essentielle <i>Lippia citriodora</i>	27
3.2. Modification	27
3.3. Caractérisation	28
3.3.1. Analyse UV/Visible.....	28
3.3.2. Analyse Infra-rouge.....	29
3.3.3. Analyse GC/MS.....	32
3.4. Activité antibactérienne	36
Conclusion	42

Références bibliographique

