

1 REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB BLIDA 1
Faculté des Sciences De La Nature et De La Vie
Département de biotechnologie



Mémoire de Fin d'Étude pour l'Obtention du Diplôme de Master en Biologie

OPTION : BIOTECHNOLOGIE MICROBIENNE

Thème :

Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Coriandrum sativum* L. (La
Coriandre) et leur activité anti microbienne

Réalisé par :

M^{me} BOUDJEMA AMINA

Date de soutenance :

20/09/2020

Devant le jury composé de :

- Mme Bensaid F MAA (USDB, Blida1)
- Mme Mekhaldi D MAA (USDB, Blida1)
- Mme Ammad F MCA (USDB, Blida1)

Présidente
Examinatrice
Promotrice

Année Universitaire : 2019-2020

Remerciement

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à ma Promotrice, Mme AMMAD F, (M.C.A) à la faculté des sciences, de la nature et de la vie – université de Blida 1 – pour avoir accepté de me prendre en charge, m'encadré et surtout pour ses précieux conseils et accompagnement tout au long du cursus. Un grand et respectueux remerciement à M^{me}Bensaid Fet M^{me}Mekhaldi D de nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail. Veuillez accepter l'expression de notre profond respect.

Mes remerciements vont également, à « Mme OUZRI.I- Mme AMARA.M ingénieurs de laboratoire de chimie faculté des sciences. Sans oublier Mme HADAD K. pour son aide.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à Mme AMOUR N. de m'avoir permis de réaliser les tests d'activité antibactérienne au sein du son laboratoire d'analyses médicales à Boufarik ;

Je n'oublie pas aussi de remercier l'ensemble de mes professeurs et enseignants durant ma carrière d'étude.

Enfin je remercie gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chers au monde
et qui m'ont soutenu tout au long de ma vie : mon père et ma mère,
la prunelle de mes yeux mon fils IYAD,

Mon cher mari MOHAMED LAMINE, à mes adorables sœurs
NASSIMA et HASNA et mon cher frère DJALEL.

A tous mes amies, de toute personne que je connais, à toute la
promotion Master 2 Biotechnologie Microbienne 2020.

Résumé

Notre travail a porté sur, l'extraction de l'huile essentielle des fruits de *Coriandrum sativum* L, une analyse physicochimique et l'évaluation du pouvoir antimicrobien par des tests microbiologiques.

Le rendement en huile essentielle des fruits de *C. sativum* L est de l'ordre de 0,29% et son densité égale à 0,855. Cette huile essentielle présente un indice de réfraction égale à 1,650 et un indice d'acide de l'ordre de 0,20.

Les analyses liées au pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de la coriandre selon des deux méthodes de traitement :

L'aromatogramme qui a révélé que un effet antibactérien intéressant sur *E. coli* avec des diamètres d'inhibitions 23mm et 44mm respectivement pour les volumes 10 µl et 30 µl, et qui sont très importantes par rapport aux antibiotiques de référence « Chloramphénicol » 31 mm et « gentamycine » 19mm, *S. aureus* (22mm et 25mm respectivement pour les volumes 10 µl et 30 µl) et *S. aureus* MRSA (21mm et 23mm respectivement pour les volumes 10 µl et 30 µl), Alors que l'antibiotique de référence « Vancomycine » ne dépasse pas 20mm, contrairement aux *P. aeruginosa* qui apparait résistante a cette HE. la Micro-atmosphère qui a montré la sensibilité d' *E. coli* avec des diamètres d'inhibition respectivement de 29-35 mm pour les volumes 10-30µl et qui sont importantes par rapport aux antibiotiques de référence « Chloramphénicol » 31 mm et « gentamycine » 19mm, et les souches de genre Staphylocoques appariaient aussi sensibles à cette HE lorsque on augmente la concentration de cette dernière (23mm pour *S. aureus* et 44mm pour la souche MRSA), alors que l'antibiotiques de référence « Vancomycine » ne dépasse pas 20mm contrairement aux *P. aeruginosa* qui apparait résistante a cette HE. Les résultats obtenus ont montré que la toxicité des différents traitements évolue avec l'augmentation de volume de l'huile appliquées d'une part, et une efficacité relativement progressive par rapport au temps (durée après traitement) qui se traduit par une meilleure efficacité d'autre part.

Mots clés : *Coriandrum sativum* L, analyse physicochimiques, activité antimicrobienne, la méthode d'Aromatogramme, la méthode de Micro-atmosphère

Extraction and characterization of the essential oil of *Coriandrum sativum* L
(Coriander) and their anti-microbial activity

Abstract

Our work focused on the extraction of essential oil from the fruits of *Coriandrum sativum* L, a physicochemical analysis and the evaluation of the antimicrobial power by microbiological tests.

The essential oil yield of the fruits of *C. sativum* L is of the order of 0.29% and its density equal to 0,855. This essential oil has a refractive index equal to 1,650 and an acid index of around 0,20.

Analyzes related to the antimicrobial power of the essential oil of coriander according to two treatment methods:

the aromatogram which revealed that an interesting antibacterial effect on *E. coli* with diameters of inhibitions 23mm and 44mm respectively for the volumes 10 μ l and 30 μ l, and which are very important compared to the reference antibiotics "Chloramphenicol" 31 mm and "gentamycin" 19mm, *S. aureus* (22mm and 25mm respectively for the volumes 10 μ l and 30 μ l) and *S. aureus* MRSA (21mm and 23mm respectively for the volumes 10 μ l and 30 μ l), While the reference antibiotic "Vancomycin" does not exceed 20mm, unlike *P. aeruginosa* which appears resistant to this EO. the Micro-atmosphere which showed the sensitivity of *E.coli* with inhibition diameters of 29-35 mm respectively for the 10-30 μ l volumes and which are important compared to the reference antibiotics "Chloramphenicol" 31 mm and "gentamycin "19mm, and strains of the genus Staphylococci were also sensitive to this EO when the concentration of the latter was increased (23mm for *S. aureus* and 44mm for the MRSA strain), whereas the reference antibiotics" Vancomycin "did not exceed. 20mm unlike *P. aeruginosa* which appears resistant to this EO. The results obtained have shown that the toxicity of the different treatments changes with the increase in volume of the oil applied on the one hand, and a relatively gradual efficiency compared to time (duration after treatment) which results in better efficiency of 'somewhere else.

Key words: *Coriandrum sativum* L, physicochemical analysis, antimicrobial activity, the Aromatogram method, the Micro-atmosphere method

استخراج وتوصيف الزيت العطري من *Coriandrum sativum* L (الكزبرة) ونشاطها المضاد للميكروبات

ملخص

ركز عملنا على استخلاص الزيت العطري من ثمار *Coriandrum sativum* L، وتحليل فيزيائي-كيميائي وتقييم قوة مضادات الميكروبات عن طريق الاختبارات الميكروبيولوجية.

يبلغ محصول الزيت العطري لثمار *C. sativum* L 0.29% وكثافته تساوي 0,855. يحتوي هذا الزيت العطري على معامل انكسار يساوي 1,650 ومؤشر حمضي 0,20.

التحليلات المتعلقة بقوة مضادات الميكروبات للزيت العطري للكزبرة وفقاً لطريقتين للعلاج:

التصوير العطري الذي كشف عن وجود تأثير مضاد للجراثيم مثير للاهتمام على الإشريكية القولونية بأقطار مثبطات 23 مم و 44 مم على التوالي لأحجام 10 ميكرو لتر و 30 ميكرو لتر والتي تعتبر مهمة جداً مقارنة بالمضادات الحيوية المرجعية "الكلورامفينيكول" 31 مم و "جنتاميسين" 19 مم *S. aureus* (22 مم و 25 مم على التوالي للمجلدين 10 ميكرو لتر و 30 ميكرو لتر) و *S. aureus* MRSA (21 مم و 23 مم على التوالي للمجلدين 10 ميكرو لتر و 30 ميكرو لتر) ، بينما المضاد الحيوي المرجعي لا يتجاوز "الفانكوميسين" 20 مم ، على عكس *P. aeruginosa* الذي يبدو مقاوماً للزيت العطري.

الغلاف الجوي الدقيق الذي أظهر حساسية الإشريكية القولونية بأقطار تثبيط 29-35 مم على التوالي لأحجام 10-30 ميكرو لتر والتي تعتبر مهمة مقارنة بالمضادات الحيوية المرجعية "كلورامفينيكول" 31 مم و "جنتاميسين" 19 مم ، وسلالات من جنس *Staphylococcus* كانت حساسة أيضاً لهذا الزيت العطري عندما تم زيادة تركيز الأخير 23 ممل *S. aureus* و 44 ممل *MRSA*، في حين أن المضادات الحيوية المرجعية "Vancomycin" لم تتجاوز 20 ملم على عكس *P. aeruginosa* الذي يبدو مقاوماً لهذا الزيت العطري. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن سمية العلاجات المختلفة تتغير مع زيادة حجم الزيت المطبق من ناحية، وفعالية تدريجية نسبياً فيما يتعلق بالوقت (المدة بعد العلاج) مما يؤدي إلى فعالية أفضل لمكان آخر.

الكلمات المفتاحية: *Coriandrum sativum* L، التحليل الفيزيائي الكيميائي ، النشاط المضاد للميكروبات - طريقة التصوير العطري - طريقة الغلاف الجوي الدقيق

Table des Matières

Introduction Générale

Résumé

Abstract

ملخص

Chapitre I : Partie Bibliographique	3
I.1 Généralités sur les Huiles Essentielles.....	3
I.1.1 Historique :	3
I.1.2 Définition :	3
I.1.3 Répartition et localisation des huiles essentielles :	4
I.1.4 Biosynthèse et composition chimique :	4
I.1.5 Caractéristiques physiques des huiles essentielles :	4
I.1.6 Effet antimicrobien des huiles essentielles :	5
I.1.7 Intérêt et Domaines d'utilisation des huiles essentielles :	6
I.1.8 Analyses des huiles essentielles et critères de qualité :	6
I.1.9 Extraction des huiles essentielles :	7
I.2 Etude botanique.....	8
I.2.1 Généralités sur la famille des Apiacées :	8
I.2.2 Intérêt de la famille des Apiacées :	8
I.2.3 Etymologie :	8
I.2.4 Systématique :	9
I.2.5 Habitats :	9
I.2.6 Composition chimique de la Coriandre :	10
I.3 Activité anti microbienne.....	10
I.3.1 Introduction :	10
I.3.2 Mécanisme d'action des huiles essentielles :	10
I.3.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne :	12
Chapitre II : Matériel et Méthodes	13

II.1 Lieu du stage.....	13
II.2 Matériel.....	13
II.2.1 Matériel biologique.....	13
II.2.1.1 Matériel végétal	13
II.2.1.2 Microorganismes étudiés.....	14
II.2.2 Matériel non biologique.....	14
II.3 Méthodes.....	14
II.3.1 Taux d'humidité	16
II.3.1.1 Principe :.....	16
II.3.2 Extraction de l'HE	18
II.3.3 Détermination du rendement	19
II.3.4 Etude des paramètres physicochimiques	19
II.3.4.1 Indice de réfraction (I _R)	19
II.3.4.2 Indice d'acide (I _A).....	20
II.3.4.3 Densité	21
II.3.5 Activité antimicrobienne	22
II.3.5.1 Mode de traitement :.....	22
II.3.5.1.1 Méthode d'aromatogramme :	22
II.3.5.1.2 Méthode de Micro atmosphère :.....	24
Chapitre III : Résultats et Discussion.....	26
III.1 Rendement et analyse physicochimique de l'HE de <i>C. sativum</i> L	26
III.1.1 Propriétés organoleptiques	26
III.1.2 Détermination du rendement en huile essentielle de coriandre	27
III.1.3 Détermination du taux d'humidité	27
III.1.4 Paramètres physicochimiques	28
III.1.4.1 Indice de réfraction.....	28
III.1.4.2 Indice d'acide	28
III.1.4.3 Densité.....	28
III.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne	29

III.2.1 Résultats du test antimicrobien par la méthode d'aromatogramme :....	31
III.2.1.1 Comparaison avec les antibiotiques testés	32
III.2.2 Résultats du test antimicrobien par la méthode de micro-atmosphère :	32
III.2.2.1 Comparaison avec les antibiotiques testés	33

Conclusion et Perspectives

Références Bibliographiques

Annexes

Liste des Figures

Figure 1 : La coriandre (feuilles et fruit) (originale,2020)	9
Figure 2 : Mécanisme d'action des huiles essentielles sur les bactéries (Burt,2004)	11
Figure 3 : Schéma général de la procédure expérimentale effectuée sur <i>Coriandrum sativum</i> L	15
Figure 4.....	16
Figure 5 : Etapes de détermination du taux d'humidité (Originale 2020)	17
Figure 6 : Montage de distillation « Clevenger » (Originale,2020)	18
Figure 7 : Réfractomètre (Originale,2020)	20
Figure 8 : Indice d'acide (Originale,2020)	21
Figure 9 : Illustration de la méthode d'aromatogramme sur boîte de pétri (Zaika, 1988)	23
Figure 10 : Illustration de la méthode micro-atmosphère sur boîte de pétri (Zaika, 1988)	24
Figure 11 : Aspect de l'H.E de <i>C. Sativum</i> L obtenue par hydro distillation du type Clevenger(Originale,2020)	26
Figure 12 : Taux d'humidité (teneur en eau %)	27
Figure 13 :Résultats du test anti microbien par la méthode d'aromatogramme (a:HE=10µl et b:HE=30µl.....	31
Figure 14 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'HE de <i>C.sativum</i> L et ATB testés « Aromatogramme ».....	32
Figure 15 :Résultats du test antimicrobien par la méthode de micro-atmosphère (a: HE=10µl et b: HE=30µl).....	33
Figure 16 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'HE de <i>C.sativum</i> L et ATB testés « Micro-atmosphère »	34

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques d'achat des grains de la coriandre	13
Tableau 2 : Souches utilisées	14
Tableau 3 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>C. Sativum</i> L.	26
Tableau 4 : Teneur en eau du fruit de <i>Coriandrum sativum</i> L.....	27
Tableau 5 : Diamètre (mm) des zones d'inhibitions de l'huile essentielle de coriandre	30
Tableau 6 :Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des antibiotiques testés	30

Liste des Abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

ATCC : American Type Culture Collection

ATB : Antibiotique

CG-SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

H E : Huile Essentielle

ISO : Organisation International de Standardisation

M H : Muller Hinton

MRSA : Meticillino Resistant *Staphylococcus aureus*

Introduction Générale

Les plantes constituent le mode de traitement le plus répandu dans le monde, y compris dans les pays occidentaux (**Arnal-Schnebelen et al., 2011**).

Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales, des plantes épicées et autres possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent l'application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétique et agriculture (**El Abed et Kambouche, 2003**), grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : flavonoïdes, hétéroside, alcaloïdes, saponosides, quinone, vitamine, ... et huiles essentielles (**Aouf, 2002**). Ces dernières se caractérisent par leur odeur, leur goût, leurs propriétés physicochimiques et biologiques (**Miguel, 2010**).

L'étude d'une huile essentielle est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté grâce aux développements exponentiels des biotechnologies végétales.

Le développement des techniques d'analyse chimique a permis de révéler qu'une espèce végétale peut synthétiser des milliers de constituants chimiques différents, ceux-ci appartiennent à deux types de métabolismes : primaire et secondaire. Le métabolisme secondaire, modelé par le temps et l'évolution, caractérise le profil chimique original de chaque espèce végétale, conduisant à une grande biodiversité moléculaire (**Wichtel et al., 1999**). Dans le réservoir chimique des plantes, les huiles essentielles représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans la pharmacologie car elles ont un effet spécifique sur d'autres organismes (**Remmal et al., 1993**).

Un intérêt considérable a été suscité aux huiles essentielles extraites à partir de plantes aromatiques et dotées d'activités antimicrobiennes vis-à-vis des microorganismes pathogènes (**Alzoreky et Nakahava, 2003**).

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne en général et en vue d'identifier de nouvelles substances potentiellement intéressantes sur les plans biologiques et thérapeutiques, on s'est intéressé à une espèce de la famille des Apiacée qui est la coriandre (*Coriandrumsativum L*) et nous nous sommes assignés comme objectif d'évaluer les paramètres physicochimiques de l'huile essentielle de *CoriandrumsativumL*, extraite par hydrodistillation et d'étudier leur activité antimicrobienne (l'effet antibactérien vis-à-vis les souches *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus aureus* MRSA et *Pseudomonas aeruginosa* afin de justifier l'usage traditionnel de cette plante par la population.

Chapitre I :
Partie
bibliographique

Chapitre I : Partie Bibliographique

I.1 Généralités sur les Huiles Essentielles

I.1.1 Historique :

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (**Baser et Buchbauer, 2010**).

Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles.

Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation, etc.

L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques.

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. **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**).

I.1.2 Définition :

Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16^{ième} siècle par le médecin Suisse **Parascelsus Von Hohenheim** pour désigner le composé actif d'un remède naturel (**Burt, 2004**).

De très nombreux auteurs ont tenté de donner une définition des huiles essentielles. D'après **William Naves** [1874-1936], aucune des définitions des huiles essentielles n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision.

Chapitre I : Partie Bibliographique

Cet auteur définit les huiles essentielles comme « des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passent avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau » (**Garnéro, 1996**).

Une huile essentielle appelée aussi essence est un mélange de substances aromatiques volatiles peu complexe issue et produit par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytopathogènes (**Lahlou, 2004**)

I.1.3 Répartition et localisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles peuvent être présentes dans différents organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, bois, racines des rhizomes, fruits et graines (**Bruneton, 1999**).

I.1.4 Biosynthèse et composition chimique :

La cellule végétale est le siège de la biosynthèse des composés fondamentaux de la matière vivante. Elle est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques conduisant à la production d'huiles essentielles (**Garnéro, 1996**).

Les constituants des huiles essentielles appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (isopréniques, monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes) (**Bruneton, 1999 ; Seguin, 2001 ; Rhayour, 2002 ; Bowles, 2003 ; Chami, 2005 ; Clarke, 2008 ; Baser et Buchbauer, 2010**) d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 1993 et Bruneton, 1999**).

I.1.5 Caractéristiques physiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (**Degryse et al., 2008**). Elles sont très inflammables et très odorantes, liquides à température ambiante.

- Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent.
- Elles ne sont que très rarement colorées.
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les huiles essentielles de saffran, de girofle et de cannelle.

Chapitre I : Partie Bibliographique

- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation.
- Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active) (**Bruneton, 1999 ; Rhayour, 2002 ; Desmares et al., 2008**).

Elles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, elles peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol et autres) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (**Bernadet, 2000**).

Les huiles essentielles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau. Entraînables à la vapeur d'eau, elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille (**Rhayour, 2002 ; Benini, 2007 ; Benayad, 2008**). Par contre, elles sont solubles dans les solvants organiques usuels (**Bruneton, 1999**).

I.1.6 Effet antimicrobien des huiles essentielles :

Le contenu des plantes en essence et la nature chimique des constituants leurs confèrent de grandes perspectives d'application, ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médicale et pharmaceutique.

En effet, les huiles essentielles ont un champ d'activité très large, elles inhibent la croissance des bactéries, et des levures (**Duarte et al., 2005**) et également des moisissures (**Koba et al., 2004**), de plus elles sont très efficaces sur les microorganismes résistants aux antibiotiques.

- **Activité antibactérienne** : les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leurs propriétés antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large gamme de microorganisme, ces propriétés sont utiles pour les infections chez les humains (**Remmal, 1993 ; Chami, 2005 ; Caillet et al., 2009**).
- **Activité antifongique** : le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes médicinales a été mis en évidence par de nombreux chercheurs contre les champignons pathogènes et opportunistes (**De Bellerbeck, 2002**).

Chapitre I : Partie Bibliographique

I.1.7 Intérêt et Domaines d'utilisation des huiles essentielles :

En raison de leur diverses propriétés, les H.Es sont devenus une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance.

En effet, elles présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leur pouvoir antiseptique (cité en dessus), antispasmodique, apéritif...etc., en alimentaire pour leur activité anti-oxydante et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriétés odorifante.

- **En cosmétologie** : Le secteur d'hygiène et l'industrie des cosmétiques sont également des consommateurs, la majorité des produits cosmétiques contiennent une quantité de l'huile essentielle comme élément parfumant et aussi élément assurant une odeur agréable (**Bruneton, 1999**).
- **En industries agroalimentaires** : Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées dans la conservation des denrées alimentaires et cela grâce à leur activité antimicrobienne à large spectre sans pour autant dénaturer le goût car ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires (**Kurita et Koike, 1982**).
- **En agriculture** : Les pesticides naturels basés, notamment, sur les huiles essentielles représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (**Isman, 2000 ; Dayan et al., 2009**).

I.1.8 Analyses des huiles essentielles et critères de qualité :

Selon **Buchbauer (2000)**, seule une connaissance détaillée des constituants d'huile essentielle mènera à une utilisation appropriée.

Selon la Pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais. Ce contrôle a pour but de définir les caractéristiques physicochimiques de l'huile essentielle comme masse volumique, indice de réfraction, indice d'acide, indice d'ester, etc. Ces caractéristiques propres à chaque huile seront ensuite utilisées pour décrire l'huile essentielle et servir de critère de qualité. Les méthodes de détermination des caractéristiques physicochimiques à utiliser sont décrites avec précision dans le recueil de normes publiées par l'Association Française de Normalisation (**AFNOR, 1996**), elles-mêmes identiques aux normes internationales de l'ISO (**ISO, 1997**).

Chapitre I : Partie Bibliographique

Deux autres types d'analyse qui ont pour but d'identifier les différents constituants de l'huile essentielle afin d'en connaître la composition chimique : la chromatographique en phase gazeuse GC et la chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS. La chromatographique en phase gazeuse GC est utilisée pour l'analyse quantitative et la chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS pour l'analyse qualitative (**Lamarti et al., 1993 ; Marriott et al., 2001 ; Lahlou, 2004 ; Bourkhiss et al., 2007**).

I.1.9 Extraction des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles mais, selon la définition de l'AFNOR et l'ISO, les méthodes utilisées pour extraire les huiles essentielles sont : l'hydrodistillation « water distillation » où le matériel végétal à extraire est en contact direct avec l'eau en ébullition, la vapeur d'eau produite entraîne avec elle les essences de la plante (**Belleau,1990; Pingot, 1998; Bruneton, 1999; Baser et Buchbauer, 2010**), entraînement à la vapeur « steam distillation » à la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (**Lesley, 1996; Marriott et al., 2001; Lahlou, 2004; Lucchesi, 2005**) et l'expression à froid, ce procédé est réservé surtout aux agrumes (**Lesley,1996; AFNOR, 1996**).

La distillation est la méthode la plus ancienne et, également, la plus utilisée (**Bruneton, 1999**). En revanche, une remarque s'impose dès à présent, la distillation ne permet pas d'extraire la totalité des principes actifs lourds d'un végétal mais seulement les composés volatils entraînaables. De plus, ces procédés présentent des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition, certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation (**Garnéro, 1996**).

I.2 Etude botanique

I.2.1 Généralités sur la famille des Apiacées :

Les Apiacées anciennement appelées Umbellifères, comprennent environ 3.000 espèces se répartissant dans toutes les régions tempérées mais surtout dans l'hémisphère Nord.

C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres.

I.2.2 Intérêt de la famille des Apiacées :

Certaines plantes de la famille des Apiacées peuvent être utilisées comme aliments. Les racines de la carotte (*D. carota* L.), du panais (*Pastinaca sativa* L.), du maceron (*Smyrniolumolusatrum* L.) et du céleri (*Apiumgraveolens* L.) peuvent être consommées ainsi que les feuilles de persil (*Petroselinumcrispum* L.) et de céleri. Le cerfeuil (*Anthriscuscerefolium* L.) est utilisé en tant que condiment. Les souches et le pétiole d'angélique (*Angelica archangelica* L.) sont utilisés en confiserie (sous forme confite) car riches en glucides (**Sharkey-Thomas, Sunsun., 2001**).

Les plantes de la famille des Apiacées telles que l'aneth (*Anethumgraveolens* L.), l'anis (*P. anisum* L.), l'angélique (*Angelica archangelica* L.), le carvi (*Carum carvi* L.), la coriandre (*Coriandrumsativum* L.) et le fenouil (*F. vulgare* Mill.) ont une importante activité antispasmodique (**Salvito-Daniel et al., 2004**).

I.2.3 Etymologie :

La coriandre a plusieurs noms à travers le monde : Nom scientifique : *Coriandrum sativum* L. Synonymes : punaise pale, mari de la punaise, persil arabe, persil chinois, coriander (Ang) (**Baba Aissa, 1999**)

- Fr. : persil arabe, persil chinois, persil mexicain ;
- All.: Koriander, Garten-Koriander, Koliander, Schiwindelkorn, Wanzen-Kraut, WanzenKümmel, ArabichePetersilie, chineischepetersilie;
- Ang.: coriander, cilantro, Chinese parsley. (**Teuscher et al, 2005**)

Chapitre I : Partie Bibliographique

- H'chich m'qetfa (مقطفة حشيش) ou h'chich tout court, كسبر kesbar ou قسبر qasbar (pour les graines). Kouzbara كزبرة est cité par tous les auteurs arabes, Ibn El-Baytar et Abderrezaq EIDjazairi ajoutent le terme populaire كسبر (Baba Aissa, 2011)

I.2.4 Systématique :

D'après Quesel et Santa, (1963), Guignard (1968) et Sallé (1991) ; la systématique de *Coriandrum sativum* L se présente comme suit :

Embranchement : Spermaphyte (phanérogame)

Sous-embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédone

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Apiale (ombellale)

Famille : Apiacée (ombellifère)

Genre : *Coriandrum*

Espèce : *Sativum* L



Figure 1 : La coriandre (feuilles et fruit) (originale,2020)

I.2.5 Habitats :

Originnaire de la région méditerranéenne et du Proche Orient, la culture de la coriandre est mondiale. Citons par exemple, le Maroc, la Hongrie, la Roumanie, la Bulgarie, la Turquie et l'Italie

Chapitre I : Partie Bibliographique

comme principaux pays exportateurs. Très cultivée en Algérie et parfois subspontanée (**Girre, 2006 ; Teuscher et al., 2005 ; Wichtl et Anton, 2003**).

I.2.6 Composition chimique de la Coriandre :

Les fruits (ou graines), par leur contenu en huile essentielle, sont la partie véritablement médicinale, mais seulement quand ils sont bien murs et secs (**Hurtel, 2013**).

Les fruits de *C.sativum*L renferment:

- **Huile essentielle** 0,1 à 2% son principale constituant est le linalol ou coriandrol (45 à 85%) ; il est accompagné d' α -pinène (1 à 15%), de limonène (0 à 4%), de γ -terpinène (traces à 15%), de p-cymène (0 à 15%), de camphre (0 à 10%), de géraniol (0 à 7%) et d'acétate de géranyle (1 à 20%).
- **Lipides** : 13 à 21%, avec de fortes teneurs en acide pétrosélinique (\approx 38%)
- **Hydroxycoumarines** : présente en très faible quantité : scopolétole et ombélliférone
- Dérivés de l'acide hydroxycinnamique : acide caféique, souvent accompagné de dérivés de l'acide quinique, comme les acides chlorogénique, 4 et 5-caféoylquinique, p-coumaroylquinique et féruloyl-quinique.
- **Triterpènes** : coriandrinondiol. (**Teuscher et al., 2005**)

I.3 Activité anti microbienne

I.3.1 Introduction :

L'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes. Ces derniers sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites (**Khiati, 1998**).

Les qualités antimicrobiennes des plantes médicinales et aromatiques sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début de XXème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (**Dorman et Deans, 2000**).

Il est nécessaire de contrôler la manipulation des bactéries afin de prévenir ou traiter les maladies infectieuses ou pour limiter la croissance des micro-organismes indésirables (**Arnie et Couplan, 2001**).

I.3.2 Mécanisme d'action des huiles essentielles :

Le mécanisme d'action des produits antimicrobiens autres que les antibiotiques reste encore généralement peu connus (**Flurette et al., 1995**). Du fait de la complexité de leur composition

Chapitre I : Partie Bibliographique

chimique, il est difficile de donner une idée précise sur le mode d'action des HE. Il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Dorman et Deans, 2000**).

L'action des HE sur la prolifération microbienne se fait à travers l'altération de la perméabilité membranaire des bactéries en perturbant les systèmes de transport ioniques, le transport des électrons et la production d'énergie (**Oussalah et al., 2006**).

Le mode d'action des HE dépend du type de micro-organisme. En générale, les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram positive grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi la membrane extérieure des Gram négatives est plus riche en lipopolysaccharides (LPS) la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (**Cristani et al., 2007**) (**Figure 2**).

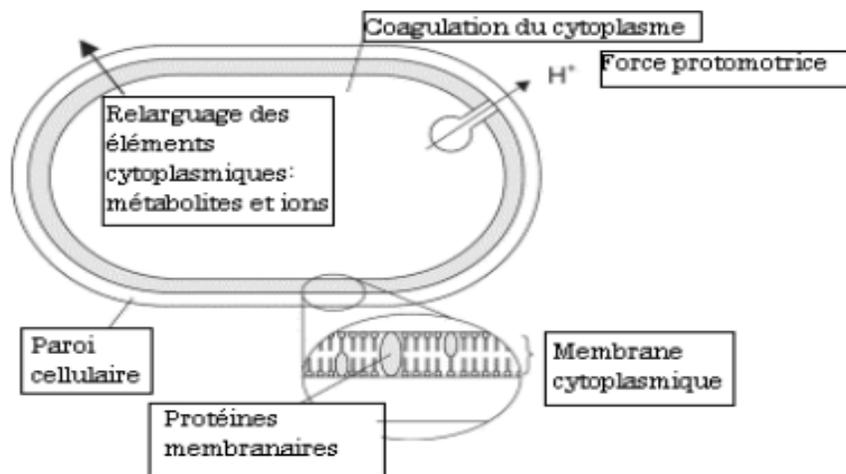


Figure 2 : Mécanisme d'action des huiles essentielles sur les bactéries (**Burt, 2004**)

I.3.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne :

Selon **Guerin, Faublée et Carret, (1999)** ; **Eymard, (2003)** ; **Pibiri, (2005)**, l'examen des données bibliographiques fait apparaître la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne, plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antimicrobienne :

- Aromatogramme
- Méthode de diffusion en puits
- Méthode de dilution
- Méthode de micro-atmosphère.

Chapitre II :
Matériel et
Méthodes

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1 Lieu du stage

Pour obtenir, caractériser l'HE de la coriandre et mettre en évidence l'activité antimicrobienne, on a réalisé notre travail durant le mois de Février 2020 au niveau du :

- Laboratoire de chimie du département de chimie, faculté des sciences à l'université de Blida 1 (extraction d'HE et paramètres physicochimiques)
- Laboratoire des analyses médicales privé à Boufarik concernant l'évaluation de l'activité antibactérienne

II.2 Matériel

II.2.1 Matériel biologique

II.2.1.1 Matériel végétal

Depuis l'antiquité, la coriandre est considérée comme une plante aromatique et médicale. L'HE de *C.sativum*L est employée en médecine traditionnelle à cause de leur effet carminatif, spasmolytique et antimicrobien.

Pour étudier les caractéristiques de cette HE, on a procédé à l'extraction de l'HE de la coriandre à partir des grains de *C.sativum*L.

Les caractéristiques d'achat des grains de la coriandre sont mentionnées dans le **Tableau 1**

Tableau 1 : Caractéristiques d'achat des grains de la coriandre

Lieu d'achat des fruits	BOUGUARA Wilaya de Blida
Date d'achat	11 février 2020
Quantité	02Kg
Partie achetée	Grains

Les graines de coriandre ont subi un nettoyage suivi par un broyage et conserver dans des boîtes fermées à une température ambiante.

II.2.1.2 Microorganismes étudiés

Les germes testés ont été fournis par l'unité de microbiologie de laboratoire d'analyses médicales privé (Boufarik). (Identifiés avec un numéro ATCC (American Type Culture Collection), et présentés dans le **Tableau II**.

Tableau 2: Souches utilisées

Souches utilisées		ATCC
Bactéries à Gram –	<i>Escherichia coli</i>	25922
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27700
Bactéries à Gram +	<i>Staphylococcus Aureus</i>	25923
	<i>Staphylococcus Aureus</i> (MRSA)	43300

II.2.2 Matériel non biologique

L'appareillage, la verrerie et accessoires, en plus des réactifs et produits chimiques divers sont mentionnés en **Annexe I**.

II.3 Méthodes

Le plan général du protocole adopté pour la réalisation de cette partie de notre étude est illustré par la **Figure 3**.

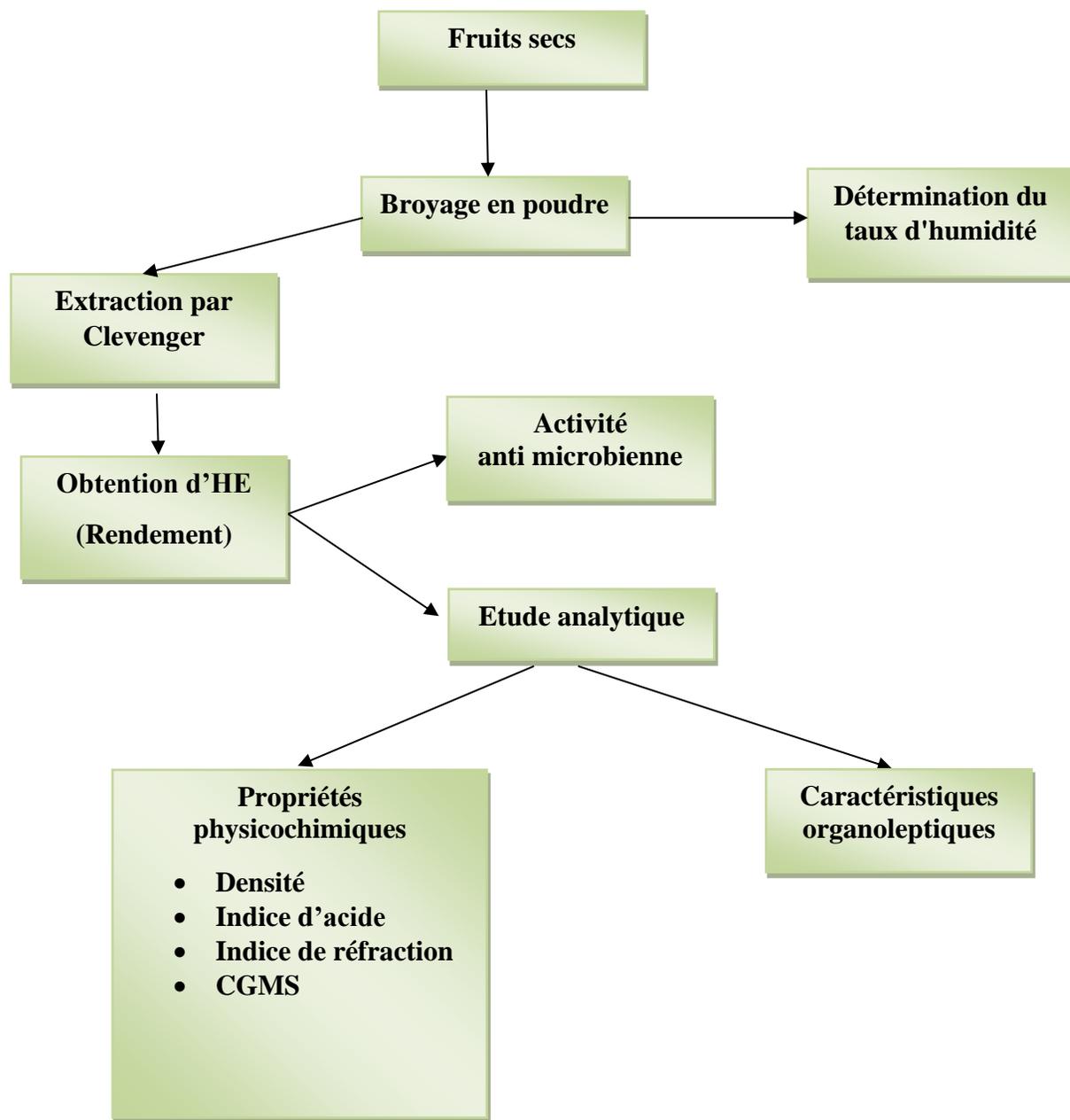


Figure 3: Schéma général de la procédure expérimentale effectuée sur *Coriandrum sativum* L

II.3.1 Taux d'humidité

II.3.1.1 Principe :

L'appareil de Dean-Stark (**Figure 4**) est un montage de verrerie de laboratoire utilisé en synthèse organique pour extraire l'eau formée lors d'une réaction. Cet appareil a été inventé par **Ernest. W. Dean et David D.Stark en 1920.**

Cela s'effectue par un entraînement à la vapeur continu avec un solvant organique qui forme un hétéroazéotrope avec l'eau. Le mélange hétéroazéotropique est condensé puis recueilli dans un tube gradué. Il y a démixtion (séparation de phase) et l'eau, plus dense que le solvant organique en général, se trouve dans la phase inférieure. On peut en mesurer le volume, et l'éliminer par un robinet.



Figure 4 : Montage Dean Stark (Original 2020)

➤ **Mode opératoire :**

Les fruits de *C.sativum*L sont chauffés sous reflux avec un solvant non miscible dans l'eau (toluène) qui Co-distille avec l'eau contenue dans la prise d'essai. Au cours de la réaction, des vapeurs contenant le solvant et l'espèce à extraire (l'eau) montent jusqu'au condenseur, et une fois liquéfiées, tombent dans le cylindre gradué. A l'intérieur de celui-ci les liquides non miscibles se séparent en 2 phases (**Figure 5**)

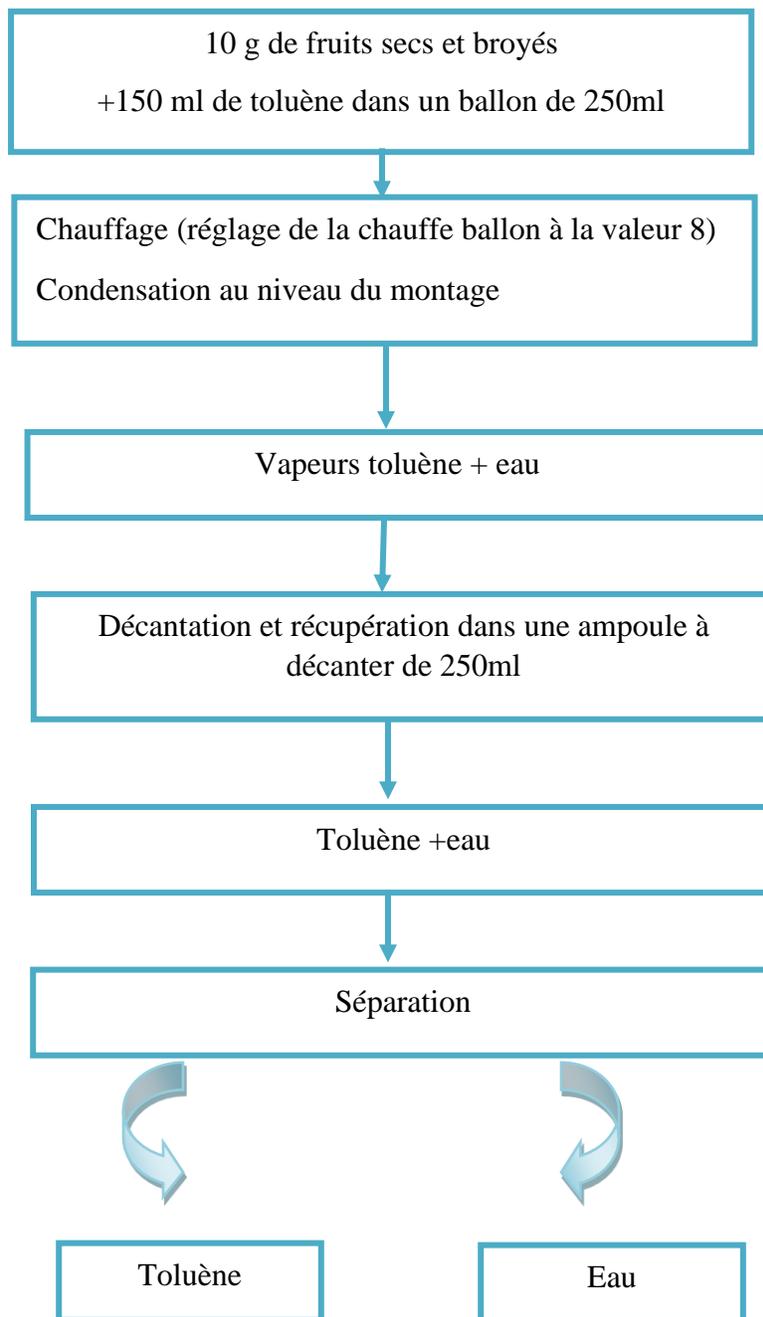


Figure 5: Etapes de détermination du taux d'humidité (Originale 2020)

II.3.2 Extraction de l'HE

L'extraction de l'huile essentielle du *Coriandrum sativum* L a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger au niveau du laboratoire de chimie, département de chimie, Université de BLIDA-1 (**Figure 6**).

Chaque fois on prend les fruits secs de coriandre avec de l'eau distillée (125g/0,5L) est l'introduire dans un ballon d'un litre, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielle traversant un réfrigérant de 40 cm se condensent et chutent dans le siphon, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. Les huiles essentielles sont récupérées dans de petits flacons opaques et stockée à 4°C pour éviter sa dégradation.

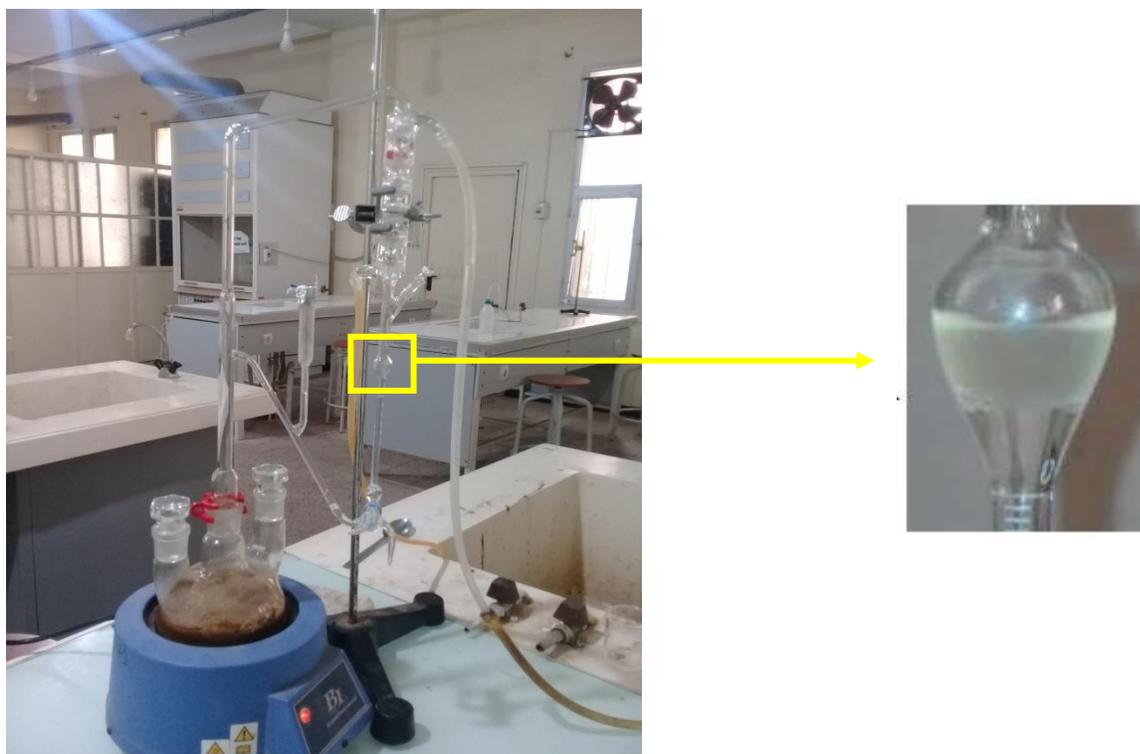


Figure 6:Montage de distillation « Clevenger » (Originale,2020)

II.3.3 Détermination du rendement

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

$$R_{HE} (\%) = M'/M \times 100$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

II.3.4 Etude des paramètres physicochimiques

II.3.4.1 Indice de réfraction (I_R)

- **Principe**

Selon la norme de **la Pharmacopée Européenne, (2008)**, l'indice de réfraction (I_R) d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air et le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré.

- **Mode opératoire**

1. Etalonner le réfractomètre avec de l'eau distillée.
2. Placer 2 à 3 gouttes de l'huile essentielle testée sur l'appareil.
3. Régler le réfractomètre jusqu'à la stabilisation.
4. Lire la valeur de l'indice de réfraction sur le cercle graduée (**Figure7**)

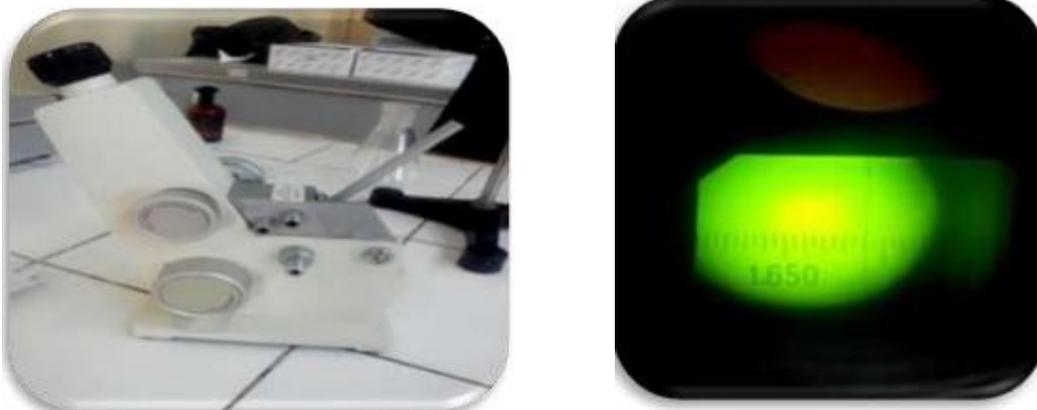


Figure 7: Réfractomètre (Originale, 2020)

II.3.4.2 Indice d'acide (I_A)

- **Principe**

Selon la norme **AFNOR (NF T 75-103)** ; l'indice d'acide (I_A) est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH), nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huile essentielle.

- **Mode opératoire**

1. Peser 2g d'HE de *C.sativum L.*, et introduire dans un Erlen Meyer.
2. Ajouter 5ml d'éthanol neutralisé et 5 gouttes au maximum de phénolphtaléine.
3. Titrer le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,1M.
4. Poursuivre l'addition jusqu'à l'obtention du virage de la solution persistante pendant 30s.
5. Noter le volume (V) de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé (**Figure 8**).

L'indice d'acide I_A est mesuré par la formule suivante :

$$I_A = \frac{V.C}{m} \times 56,1$$

Où :

I_A : Indice d'acide

V : Le volume de la solution de KOH utilisée en titrage (ml).

C : Concentration exacte de la solution KOH utilisée (0,1M).

m : Masse d'HE.

$56,1$: Poids moléculaire de KOH.



Figure 8:Indice d'acide (Originale,2020)

II.3.4.3 Densité

Selon la norme **AFNOR (1992)**, la densité relative de l'huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C et la masse égal d'un volume de l'eau distillée à 20°C

- **Mode opératoire**

La détermination de la densité est réalisée à l'aide d'une seringue de 1 ml. Le volume prélevé est de 0,20 ml pour l'huile, ainsi que pour l'eau.

La densité d'HE est calculée à partir de la relation suivante

$$d_{20} = \frac{m_1 - m_0}{m - m_0}$$

Dans laquelle :

m_1 : Masse en g de seringue contenant 0,20 ml d'HE

m_0 : Masse en g de seringue vide

m : Masse en g de seringue contenant 0,20 ml d'eau distillée

II.3.5 Activité antimicrobienne

La recherche de l'activité antimicrobienne consiste à estimer l'inhibition de la croissance des micro-organismes soumis à l'HE de *C.sativum* L. Dans ce test, deux méthodes ont été effectuées : Aromatogramme (méthode de diffusion sur gélose) et Micro-atmosphère (méthode en phase vapeur) et comparer ces résultats avec un traitement utilisé avec des antibiotiques de références : Oxacilline 10mg, Gentamycine 10mg, Vancomycine 30mg, Chloromphénicol 30 μ g.

II.3.5.1 Mode de traitement :

II.3.5.1.1 Méthode d'aromatogramme :

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée « Antibiogramme » ou « méthode par diffusion sur gélose » ou encore « méthode des disques » (Guerrin-Faubleé et Carret, 1999).

➤ Préparation du milieu de culture

Faire fondre le milieu de culture Muller –Hinton (M.H) pour les bactéries testées, au bain marie à 100°C ; ensuite couler les boîtes de pétri de 90mm de diamètre sur une épaisseur de 4mm (Rahalet *al.*, 2011), laisser solidifier sous PSM (Poste de Sécurité Microbiologique).

➤ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture fraîche de 24 heures pour les bactéries, prélever à l'aide d'une anse de platine 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques, décharger l'anse de platine dans 10ml d'eau physiologique stérile (0,9%), bien homogénéiser la suspension bactérienne.

➤ Ensemencement

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Sur des boites contenant le milieu gélosé (Muller Hinton) d'une épaisseur de 2 mm bien séché, on introduit 3 à 5 ml de l'inoculum. Nous obtenons ainsi, un étalement uniforme en nappe, ou on ensemence sous forme de stries sérés à l'aide d'un écouvillon stérile.

➤ Dépôt des disques

Avec une micropipette, deux volumes d'huile essentielle de *Coriandrum sativum* L (10 μ l et 30 μ l) ont été déposés sur des disques préalablement stérilisés jusqu'à imprégnation totale

Déposés les disques ainsi traités sur la surface de la gélose inoculée, fermé le couvercle et couvrir toutes les boites de Pétri avec un papier film pour éviter l'évaporation de l'huile, laisser diffuser pendant 30min sur la paillasse.

Faire en parallèle des témoins positifs : des disques d'antibiotique comme référence (chloramphénicol 30 μ g, vancomycine 30mg, gentamycine 10mg, oxacilline 10mg).

La lecture des résultats consiste à observer :

- La présence d'une zone claire autour du disque : présence d'une activité inhibitrice.
- L'absence d'une zone claire autour du disque : indique l'absence d'activité inhibitrice.

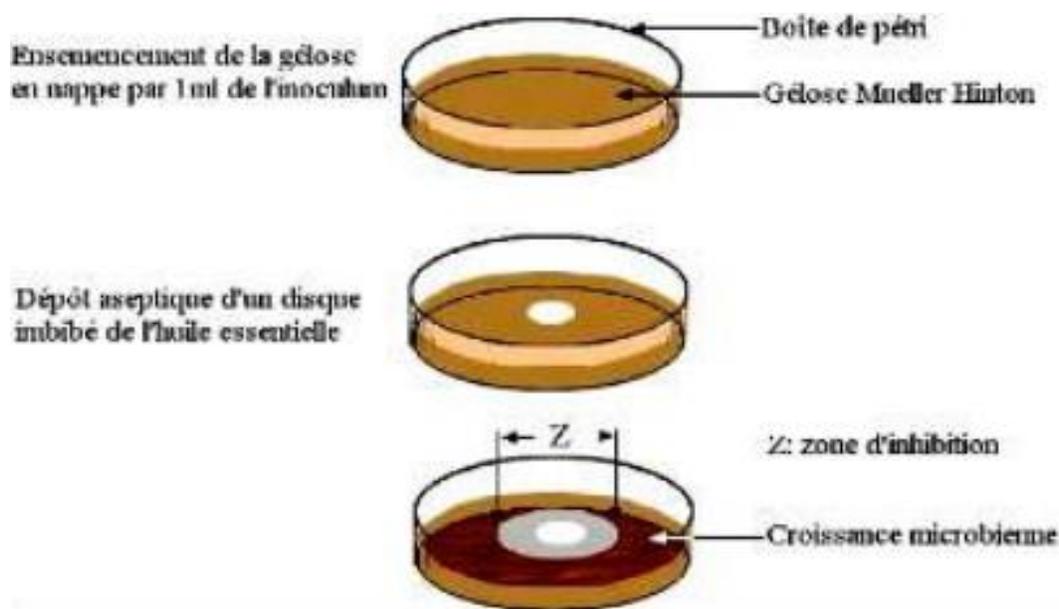


Figure 9: Illustration de la méthode d'aromtogramme sur boîte de pétri (Zaika, 1988)

II.3.5.1.2 Méthode de Micro atmosphère :

Cette technique permet d'évaluer l'activité antimicrobienne de la phase volatile de l'HE.

Le mode opératoire consiste à ensemencer un milieu gélosé avec une souche microbienne. Un disque imprégné d'HE sera déposé au centre du couvercle.

La boîte est incubée, couvercle en bas. Il se produit une évaporation des substances volatiles. En se volatilisant, l'HE va inhiber la croissance du germe en créant une zone d'inhibition (Tyagi et Malik, 2011) (Figure 10).

La seule différence entre cette méthode et l'aromatogramme réside dans la position du disque (Tyagit et Malik, 2011) la préparation de l'inoculum, l'ensemencement, l'incubation et la lecture des résultats ont été faites de la même manière que la première méthode (Aromatogramme).

Le but est d'apprécier l'action inhibitrice de la phase vapeur de l'huile

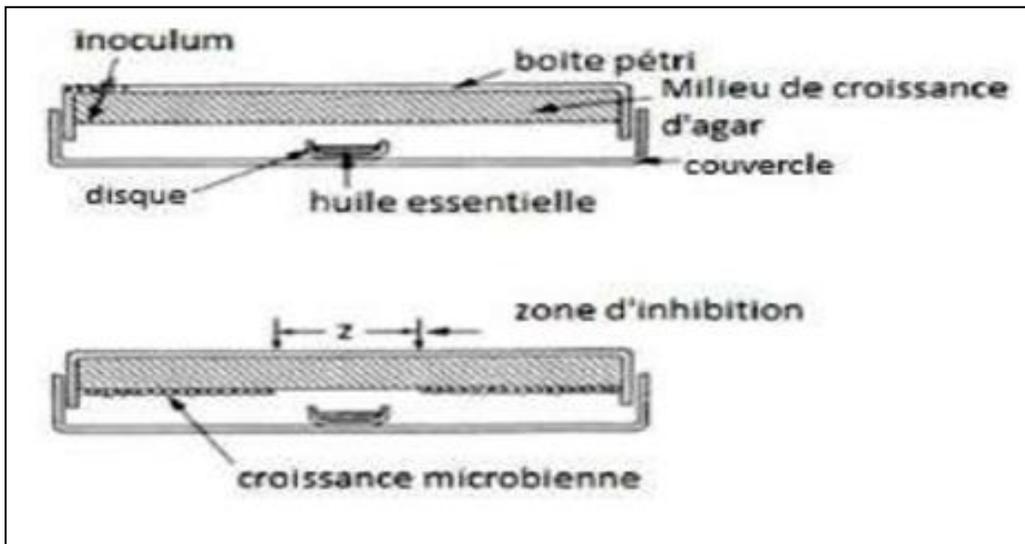


Figure 10: Illustration de la méthode micro-atmosphère sur boîte de pétri (Zaika, 1988)

➤ Lecture des résultats

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques contenant l'huile à tester. Le résultat de cette activité

Chapitre II : Matériel et Méthodes

est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition qui a été déterminée en mesurant à l'aide d'un pied à coulisse la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des croix. La souche ayant un diamètre :

- $D < 8\text{mm}$: Souches résistante (-).
- $9\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$: Souches sensible (+).
- $15\text{mm} \leq D \leq 19\text{mm}$: Souches très sensible (++) .
- $D > 20\text{ mm}$: Souches extrêmes sensible (+++) (**Ponce et al., 2003**).

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibitions à l'extérieur de la boîte fermée.

Le Classement des bactéries se fait dans l'une des catégories : sensible ou résistante.

Chapitre III :
Résultats et
Discussion

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1 Rendement et analyse physicochimique de l'HE de *C. sativum* L

III.1.1 Propriétés organoleptiques

L'huile essentielle de *Coriandrum sativum* L, extraite par la technique d'hydro distillation du type Clevenger, présente les caractéristiques organoleptiques regroupées dans le tableau III. La **figure 11** illustre l'aspect de notre huile.

Tableau 3 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *C. Sativum* L.

	Aspect	Couleur	Odeur
L'huile essentielle extraite des fruits	Liquide mobile limpide	Jaune clair	Douce, aromatique et très agréable
L'huile essentielle extraite des fruits (France) Goetz et Busser (2007)	/	Incolore, jaunâtre	Musque, aromatique, agréable
L'huile essentielle extraite des fruits (Algerie) Ouis (2015)	Liquide huileux	Jaune	Caractéristique de la coriandre

Les paramètres organoleptiques de l'huile essentielle des fruits sont en accord avec ceux répertoriés dans **Goetz et Busser, (2007)** ,**Ouis (2015)** et **Amara (2016)**.

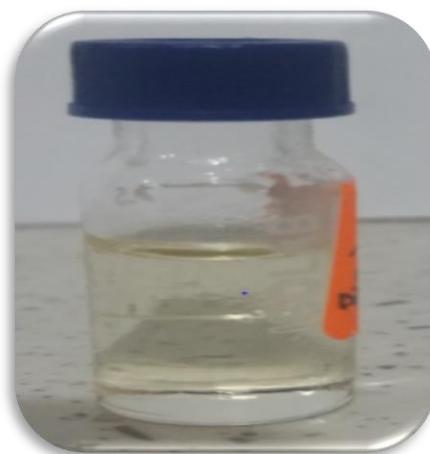


Figure 11: Aspect de l'H.E de *C. Sativum* L obtenue par hydro distillation du type Clevenger (Originale,2020)

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1.2 Détermination du rendement en huile essentielle de coriandre

Dans le but d'obtenir une quantité d'HE suffisante pour effectuer toutes les analyses physicochimiques et l'activité antimicrobienne, nous avons réalisé une série d'extraction de l'huile essentielle de *C. sativum L.*

Le rendement moyen obtenu après extraction de l'huile essentielle des fruits de *C. sativum L.* est de **0,2933%**. Ce dernier est conforme aux données bibliographiques (0,1 à 2%) (**Eberhard et al., 2005**), toutefois la valeur obtenue est proche des pourcentages faibles. Cela peut être dû aux différents facteurs pédoclimatiques qui influent sur le rendement, tels que la nature du sol, la période de la récolte et le mode d'extraction.

III.1.3 Détermination du taux d'humidité

Les résultats du taux d'humidité des fruits secs de la coriandre et résume dans le tableau IV et illustrés par la **figure12**

Tableau 4: Teneur en eau du fruit de *Coriandrum sativum L*

Partie utilisée	Fruits secs
Volume toluène (ml)	150
Poids utilisé (g)	10
Poids d'eau (g)	0,0765
% d'eau	0,76%

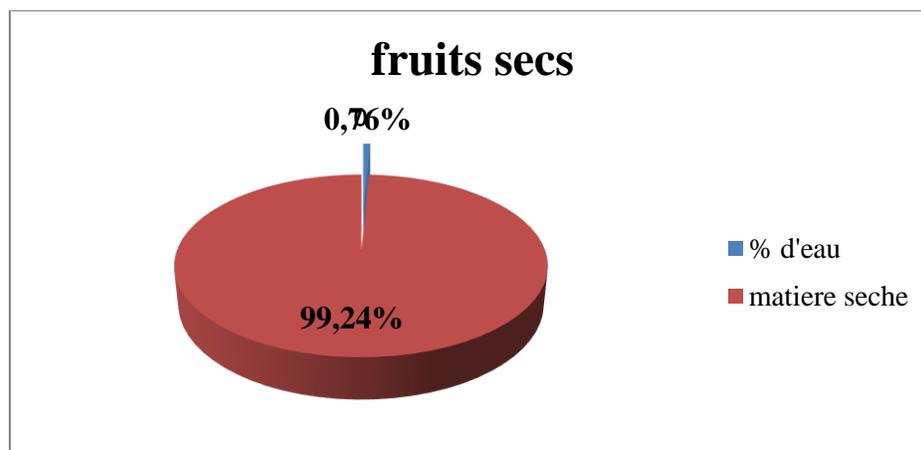


Figure 12: Taux d'humidité (teneur en eau %)

Chapitre III : Résultats et Discussion

Les fruits de la coriandre présentent un faible pourcentage en eau avec un taux de 0,76%. Et cela dans le but d'exprimer le rendement en huile essentielle par rapport à la masse de la matière végétale sèche.

III.1.4 Paramètres physicochimiques

III.1.4.1 Indice de réfraction

L'indice de réfraction est utilisé pour l'identification et comme critère de pureté des huiles essentielles et de composés liquides divers. Chaque substance a son indice de réfraction spécifique.

L'indice de réfraction de l'HE de *C.sativum* L est de **1,650**, cette valeur n'est pas incluse dans l'intervalle **1,462-1,470** (Caratini, 1983), mais elle est assez proche, et cela peut être due à l'influence de plusieurs facteurs : les conditions climatiques, saison, région, le mode d'extraction....

Le faible indice de réfraction de l'HE indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques (Kanko et al., 2004).

III.1.4.2 Indice d'acide

L'indice d'acide indique le comportement et la qualité des acides gras libres présents dans notre huile. Il peut aussi nous renseigner sur la susceptibilité de l'huile à subir des altérations, notamment l'oxydation.

L'indice d'acide donne une idée sur le taux d'acides libres, un indice d'acide inférieur à 2 est une preuve de bonne conservation de l'essence (faible quantité d'acides libres) (Kanko et al., 2004).

L'HE de Coriandre à IA égal à **0,20**. Cet indice est inférieur à celui cité par Ouis (2015) (I_a = **2,87**) et cela peut être due à l'influence de plusieurs facteurs : les conditions climatiques, saison, région, le mode d'extraction....

III.1.4.3 Densité

A T°= 20°C la densité de l'HE de *Coriandrum sativum* L est de l'ordre de **0,855**.

La densité de l'HE de *C.sativum* L est de **0,855**, cette valeur n'est pas incluse dans l'intervalle **0,862-0,878** obtenue par Caratini(1983) mais elle est assez proche, et cela peut être due à

Chapitre III : Résultats et Discussion

l'influence de plusieurs facteurs : les conditions climatiques, saison, région, le mode d'extraction, période de récolte....

III.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne

D'après (Cailletet ses collaborateurs ,2007). L'action antimicrobienne des HE, se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'H.E., provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaire.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *Coriandrum sativum* L par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide et méthode micro-atmosphère (Muller Hinton pour les bactéries) et on a comparé ces résultats avec des antibiotiques de références pour chaque bactérie testée mentionnés dans le tableau VII pour valoriser notre HE.

L'activité antibactérienne d' HE de *C.sativum* L est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les produits à tester vis-à-vis de trois germes pathogènes d'origine hospitalière (*Escherichia-coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°.

Les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau 5**.

Chapitre III : Résultats et Discussion

Tableau 5:Diamètre (mm) des zones d'inhibitions de l'huile essentielle de coriandre

	Aromatogramme		Micro-atmosphère	
	Zone d'IN Ø (mm)		Zone d'IN Ø (mm)	
Volume d'HE (µl)	10	30	10	30
<i>E. Coli</i> ATCC 25922	23	44	29	35
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	22	25	16	23
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA ATCC 43300	21	23	12	44
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27700	<8	<8	<8	<8

Tableau 6:Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des antibiotiques testés

Antibiotique testés	Oxacilline 10mg	Gentamycine 10mg	Vancomycine 30mg	Chloromphénicol 30µg
<i>E. Coli</i>	/	19mm	/	31mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	/	15mm	/	14mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	09mm	/	20mm	/

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.2.1 Résultats du test antimicrobien par la méthode d'aromatogramme :

Afin de démontrer le pouvoir antibactérien de l'HE de la coriandre on a commencé par la technique la plus utilisée en bactériologie médicale qui est appelée « Antibiogramme » et qui est la base de la méthode d'aromatogramme.

Les résultats sont illustrés dans la **figure 13**

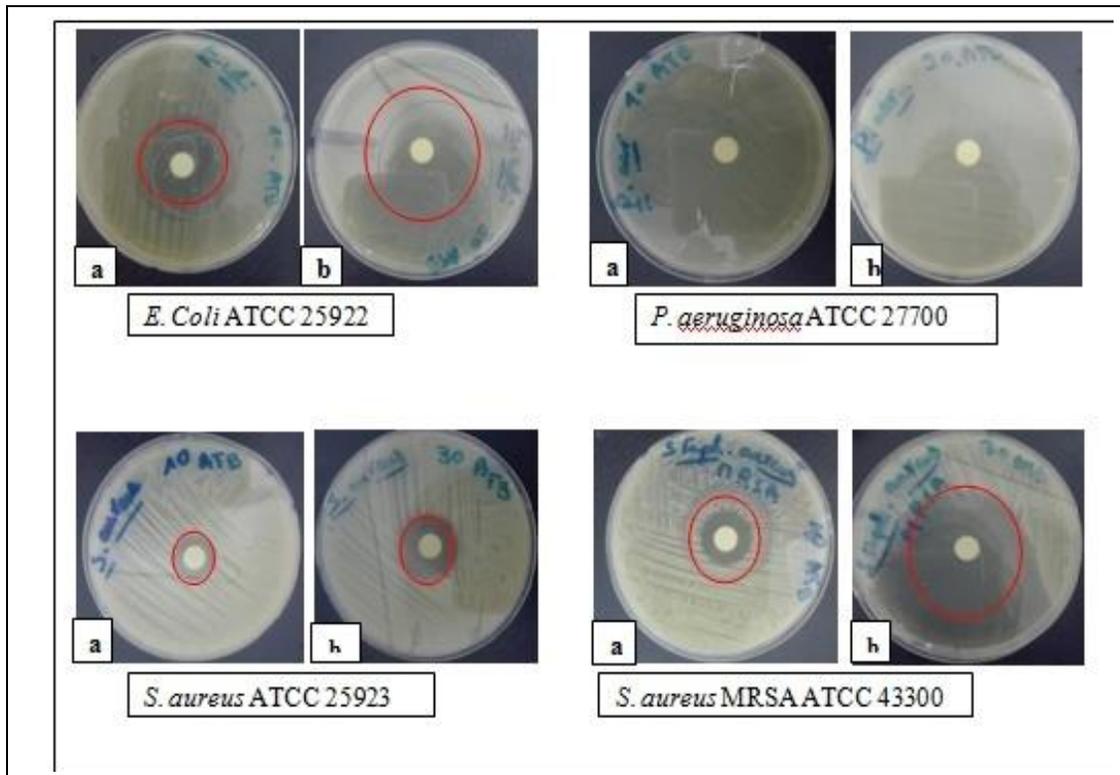


Figure 13: Résultats du test anti microbien par la méthode d'aromatogramme (a:HE=10 μ l et b:HE=30 μ l)

D'après les résultats de recherche effectués par **Ouis (2015)** et **Amara (2016)**, l'HE de Coriandre présente une activité antimicrobienne contre *E. coli* et *Staphylococcus aureus*. L'activité antibactérienne de l'HE de *Coriandrum sativum* L vis-à-vis les deux bactéries identifiées avec un numéro ATCC est évaluée qualitativement par la méthode de diffusion sur la gélose et méthode de micro-atmosphère.

Dans un premier temps, les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE de coriandre ont démontré clairement qu'avec des doses croissantes, le diamètre de la zone d'inhibition augmente, cela veut dire que les quatre bactéries sont sensibles à l'HE de coriandre.

Chapitre III : Résultats et Discussion

On remarque que le diamètre de la zone d'inhibition augmente, et la résistance des micro-organismes testés diminue avec l'augmentation des volumes injectés sauf pour la bactérie *P.aeruginosa* qui apparaît résistante a cette HE (**figure 13**).

III.2.1.1 Comparaison avec les antibiotiques testés

L'HE des fruits de Coriandre a montré une zone d'inhibition importante à chaque fois que nous augmentons la dose injectée dans le disque, Pour *E.coli* (ATCC 25922), nous avons enregistré une zone d'inhibition plus importante 44mm avec une dose de 30µl et qui sont très importantes par rapport aux médicaments de référence « Chloramphénicol » 31 mm et « gentamicine » 19mm.

Staphylococcus aureus et *S.aureus* MRSA présentent une zone d' inhibition de 25mm et 23mm. Alors que le médicament de référence « Vancomycine » ne dépasse pas 20mm (**figure 14**).

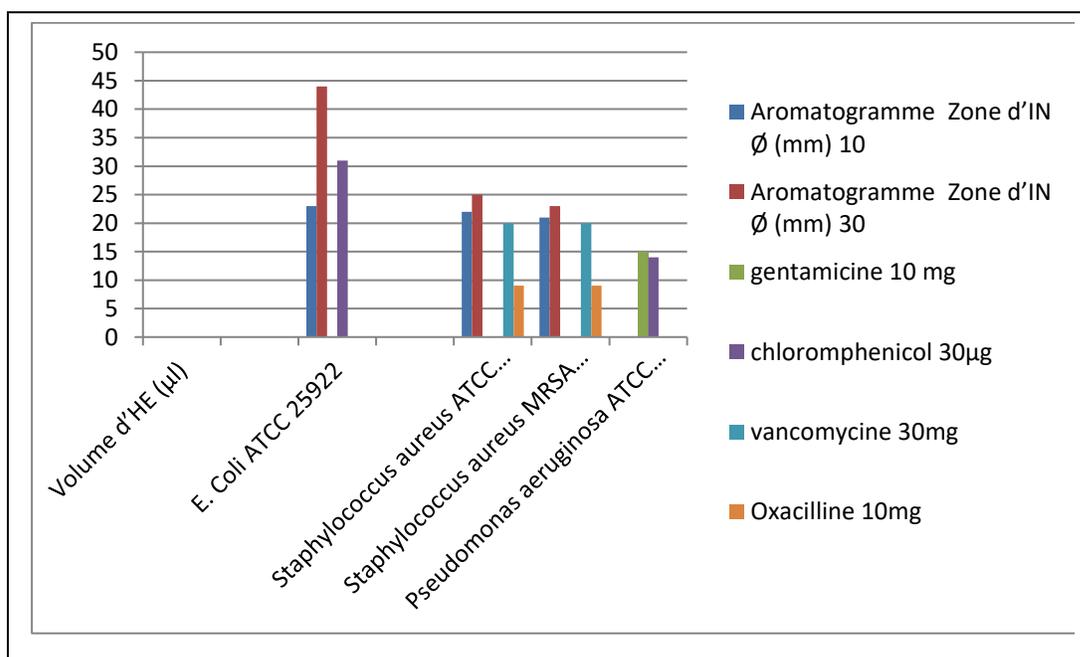


Figure 14: Diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'HE de *C.sativum* L et ATB testés « Aromatogramme »

III.2.2 Résultats du test antimicrobien par la méthode de micro-atmosphère :

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne de la phase vapeur de l'HE de *C.sativum* L, nous avons utilisé la technique de micro-atmosphère. Les résultats de cette étude sont rapportés dans la **figure 15**).

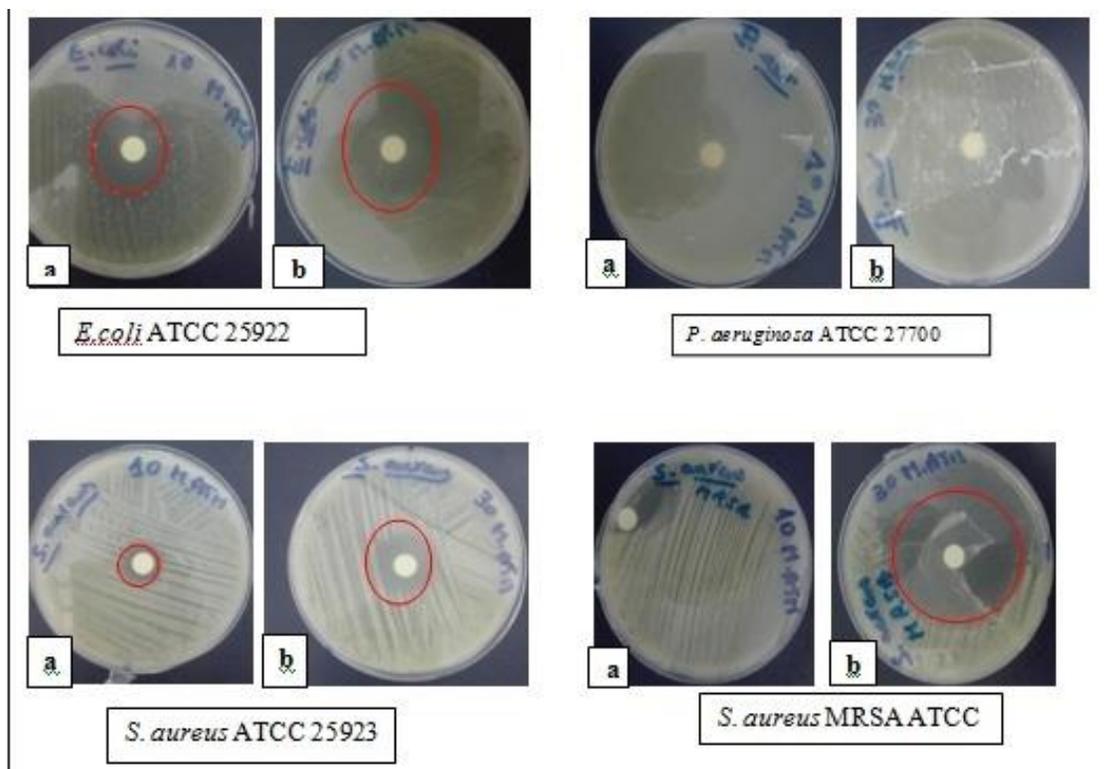


Figure 15 : Résultats du test antimicrobien par la méthode de micro-atmosphère (a: HE=10µl et b: HE=30µl)

A la lecture de ces résultats, il apparaît clairement que l'action inhibitrice de la phase vapeur (micro-atmosphère) est similaire à celle de la phase liquide (Aromatogramme) pour toutes les souches testées.

L'HE de *C.sativum* L est très active sur *E.coli* (ATCC 25922), avec des diamètres d'inhibition respectivement de 29-35mm pour les volumes 10-30µl.

Les souches de genre Staphylocoques apparaissent aussi sensibles à cette HE lorsque on augmente la concentration de cette dernière (23mm pour *S.aureus* et 44mm pour la souche MRSA).

En outre, la bactérie *P.aeruginosa* (ATCC 27700) apparaît toujours résistante à cette HE.

III.2.2.1 Comparaison avec les antibiotiques testés

Les résultats de cette méthode (micro-atmosphère) ont révélé une sensibilité assez importante d'*E.coli* vis-à-vis de notre HE (35mm pour une dose de 30µl d'HE) et qui sont importants aux médicaments testés (19mm pour gentamicine 10mg et 31mm pour 30µg de chloramphénicol)

Chapitre III : Résultats et Discussion

S.aureus et *S.aureus* MRSA présentent une zone d'inhibition 23mm et 44mm respectivement pour une dose de 30 μ l d'HE alors que le médicament de référence «Vancomycine» ne dépasse pas 20mm.

Selon la littérature, probablement le Linalool, principal composant de l'huile essentielle de coriandre, a été signalé comme ayant un effet antibactérien contre de nombreuses souches bactériennes (Ates et Erdogrul, 2003).

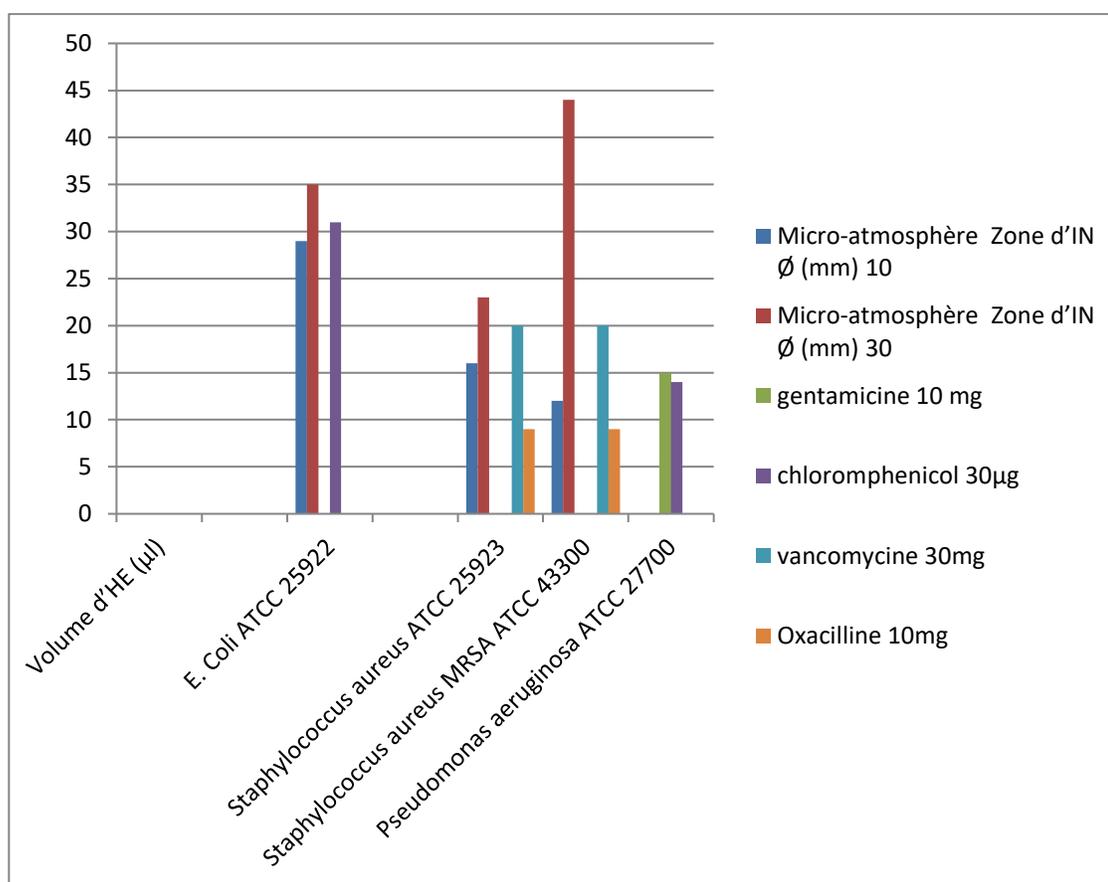


Figure 16 : Diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'HE de *C.sativum* L et ATB testés « Micro-atmosphère »

Conclusion et Perspectives

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'étude de L'huile essentielle la coriandre « *Coriandrum sativum* L » qui est très répandue en Algérie.

Le rendement de fruit de la coriandre en HE est de l'ordre de 0,29%. L'analyse des caractères organoleptiques nous a permis d'obtenir une huile d'aspect liquide, mobile, limpide, de couleur jaune claire avec une très forte odeur épicée caractéristique de la plante.

La qualité de l'HE a été évaluée par la détermination des indices physicochimiques : indice d'acide, indice de réfraction et densité à 20°C.

En outre, l'étude de l'activité antimicrobienne de l'HE des fruits secs de *C.sativum* L par la méthode de diffusion sur gélose et la méthode de micro- atmosphère, a révélé que l'HE est active contre *E.Coli* , *S.aureus* et *S.aureus* MRSA . Contrairement au *P.aeruginosa* qui apparaît résistante à cette HE.

On comparaison avec les antibiotiques de références, l'HE des grains de *Coriandrum sativum* L apparaît aussi active sur les souches testées (*E.Coli*, *S.aureus* et *S.aureus* MRSA) pour les 2 méthodes (aromatogramme et micro- atmosphère).

Afin de poursuivre et d'approfondir tous les volets abordés dans ce travail, il est nécessaire d'analyser l'HE de *C.sativum* L par des méthodes chromatographiques « CG-MS » afin d'en déduire sa composition chimique, et étudier d'autres propriétés thérapeutiques telle que l'activité anticancéreuse, antidiabétique,....

Il serait intéressant d' utiliser cette essence en industrie pharmaceutique pour ces vertus thérapeutiques intéressantes, et qui pourraient être une réponse face aux problèmes des antibiotiques et de leur résistance, et avoir une application en santé humaine et animale sans danger.

Références bibliographiques

A

AFNOR, 1996 : Huiles essentielles. Volume 1 : échantillonnage et méthodes d'analyse. AFNOR, Paris, 440 p.

Alzoreky, Nakahara, 2003: Antimicrobial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. International journal of Food Microbiology, 80, 223_230.

Amara M., 2016 : Valorisation de l'huile essentielle des fruits de *Coriandrum sativum L* (La Coriandre) par l'étude de quelques effets thérapeutiques, Mémoire de Master, Université de Blida 1, 93p.

Aouf .C, 2002 : Extraction. Evaluation des propriétés physico-chimique, chromatographique des huiles essentielles de Carvi, Coriandre et Cumin, Mémoire de Magister, Université d'Oran Es-Sénia.

Arnal-SchnebelenB ; Goetz P et Paris M, 2011 : Secrets et vertus des plantes medicinal. Première édition. SelectionReader's Digest.335P.

Arni C et Couplan F, 2001 : Le préparateur en pharmacie. Paris. Techniques et documentations. 44p.

Ates. D.A, Erdogrul. O.T(2003): Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts Turk J Biol, 27, pp. 157–162

B

Baba Aissa, F, 1999 : « Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb », 17p.

Baba-aissa F (2011) : Encyclopédie des plantes utiles : Plantes médicinales, Plantes aromatiques et plantes alimentaire. Flore d'Algérie (Méditerranéenne, maghribine et sahariennes). P 471, pp 357-358.

Baser K.H.C. and Buchbauer G., 2010 : Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994p.

Belleau F., 1990 : Analyses des huiles essentielles du *Ledumgroenlandicum*. Thèse de doctorat, Université du Québec. pp. 13-16.

Benayad N., 2008 : Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat, 63p.

Benini C., 2007 : Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, 109p.

Références bibliographiques

Bernadet M., 2000 : Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles.

Besombes C., 2008 : Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.

Bourkhis B., Ouhssine M., Hnach M., Bourkhiss M., Satrani B. & Farah A., 2007 : Composition chimique et bio activité de l'huile essentielle des rameaux de *Tetraclinis articulata*. Bull.Soc. Pharm. Bordeaux, 146, pp. 75-84. Bowles E.J., 2003. The chemistry of aromatherapeutic oils. 3rd Ed. Allen & Unwin, Australia. 257p.

Bowles E.J., 2003: The chemistry of aromatherapeutic oils. 3rd Ed. Allen & Unwin, Australia. 257p.

Bruneton J, (1999) : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition. Paris : tec & doc. Lavoisier. P1120, pp 1-484.

Bruneton J., 1993 : Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.

Buchbauer G., 2000: The detailed analysis of essential oils leads to the understanding of their properties. Perfumer & Flavorist 25: pp.64–67

Burt S., 2004: Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. International Journal of Food Microbiology 94, pp.223-253.

C

Caillet S. et Lacroix M., 2007 : Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (RESALA). pp. 1-8. **Caratini. R. 1983** : « la vie des plantes », Bordas Encyclopédie, 589.

Chami F., 2005 : Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 266p.

Clarke S., 2008: Chemistry of essential oil. 1st edition ELSEVIER. British, 302p. Coste 1937: *Coriandrum sativum* L. - Taxon 1486, tome 2, p. 165.

D

Dayan F., Cantrell C.L., et Duke S.O, 2009: Natural products in crop protection. Bioorganic&medicinalchemistry, 17(12), 4022-4034.

De Billerbeck K.V.G., Roques C., Vanière P., et Marquier P, 2002. : Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. Hygiène, 10(3), 248-251.

Références bibliographiques

Degryse A.C., Delpla I. & Voinier M.A., 2008 : Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP, 87p.

Desmares C., Laurent A. & Delerme C., 2008 : Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole, France, 18p.

Dorman H.J.I et Deans S.G., 2000 : Antimicrobial agent from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. Vol: 8, N°2, pp 308-316.

Duarte M.C.T., Figueira G.M., Sartoratto., Rehder V.L.G and Delarmelina C. 2005.: Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 97(2), 305-311.

E

El Abed. D, N. Kambouche, 2003 : Les huiles essentielles, 1ere Ed., Dar El Gharb. Janvier/Février 2003, 15,39-4

Eymard S, 2003 : Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation de chinchard (*Trachurus trachurus*), choix des procédés. Thèse de Doctorat en Génie des procédés (Ecole Doctorale en Génie des procédés : Spécialité Biochimie. Nante. France.

F

Fleurette J ; Freney J et Reverdy M.E, 1995 : Antiseptie et désinfection. Paris. ESKA. 639p.

G

Garnéro J., 1996.: Huiles essentielles. Techniques de l'Ingénieur, traité Constantes physicochimiques ; K 345-1, 39p.

Girre L. 2006: Les plantes et les médicaments : l'origine végétale de nos médicaments, Delachaux et Niestlé, Paris, 253 pp.

Goetz. P et Busser. C, 2007 : La phytocosmétologie thérapeutique, Paris 258p.

H

Hurtel J- M, 2013, <http://www.phytomania.com/coriandre.htm> Copyright 2013

I

Isman M.B., 2000: Plant essential oils for pest and disease management. Crop protection, 19(8), 603-608.

K

Khiati M, 1998 : Guide des maladies infectieuses et parasitaires. Office des publications Universitaires (OPU), Alger, 255p.

Références bibliographiques

Koba K., Sanda K., Raynaud C., Nenonene Y.A., Millet J. et Chaumont J.P., 2004 : Activités antimicrobienne d'huile essentielle de trios Cymbopogonsp. Africains vis-à-vis de germe pathogène d'animaux de compagnie. Ann. Méd. Vét. 148 : 202-206

Kurita, Koike, 1982: Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. Agric. Biol. Chem., p 46-159-165.

Lahlou M., 2004: Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. PhytotherapyResearch 18 : pp. 435-448.

Lamarti A., Badoc A. & Carde J.P., 1993 : Etude chromatographique de l'huile essentielle de la plantule de fenouil amer (*Foeniculumvulgare* Mill.) ; caractéristiques spectrales (UV, IR,SM) de ses constituants. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 132, pp. 73-89

Lesley B., 1996 : Plantes médicinales et aromatiques, Ed. Lavoisier. Paris. pp. 58-61.

Lucchesi M. E., 2005 : Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de La Réunion, 72p.

M

Marriott P.J., Shellie R. and Cornwell C., 2001 : Review : Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. Journal of Chromatography A, 936; pp. 1-22.

Miguel.M.C., 2010. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils, Short Review Journal, Vol. 15.

O

Ouis. N, 2015 : Etude chimique et biologique des huiles essentielles de Coriandre, de Fenouil et de Persil. Thèse de Doctorat en Science, Spécialité : Chimie Organique. Université d'Oran-1-, 223p.

OussalahM; Caillet S; Sancier L et Lacroix M, 2006: Antimicrobial effects of selected plants essential oil on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. Meat Science. Vol 73, No.2, pp: 236-244.

P

Pibiri M.C, 2005 : Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctorat. Polytechniques Fédérale de Lausanne. 161p.

Pingot A., 1998 : Les huiles essentielles. Ed. Tec. & Doc. Paris, pp. 230-236

Q

Quezel, P. ; Santa, S. 1963 : « Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques et méridionales », Editions du Centre National de la Recherche Scientifique : Paris Tome II. 657, 671, 678.

Références bibliographiques

R

Rahal K ; Benslimani A ; Tali-Maamar H ; Missoum M.F ; Kechih-Bounar S et Ammarti H, 2011 : Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire). Document édité avec la collaboration de l'OMS, 6ème Edition. 195p.

Rhayour K., 2002 : Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.

S

Salvito-Daniel. T, J.H. Matthias et J. Sanna, 2004: Fragrancematerials and their environmental impact, *FlavourFragr. Journal*, Vol.19.

Sharkey-Thomas. D, Y. Sunsun, 2001 : Isoprene emission from plants. *planthysiol. Chemical Physics Ann.* Vol. 52,

T

Teuscher E., Anton R., Lobstein A. 2005 : Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Tec & Doc, Paris, , 522 pp.

Tyagi A et Malik A, 2011 :Antimicrobila potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus oil*in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms.*Food chemistry*, 126(1), pp: 228-235.

W

Wichtl M., Anton R. 2003 : Plantes thérapeutiques, 2e édition, Tec & Doc, Paris, 692 pp.

Z

Zaika L, 1988: Spices and Herbs –Their antimicrobial activity and its determination. *Journal of food safety*. 9 : 97-118.

Annexes

Annexe I

❖ Matériel non biologique

1. Appareillage

- Agitateur magnétique
- Bain marie
- Balance analytique
- Chauffe ballon 1L, 2L et 250ml
- Etuve
- Hotte
- Incubateur
- Réfractomètre

2. Verrerie et accessoires

- Ampoule à décanter
- Ballons
- Bec benzène
- Béchers
- Boites Pétri
- Burettes
- Disques
- Entonnoires
- Erlen Meyer
- Fioles
- Gants
- Micropipettes
- Statifs et pinces
- Pipettes graduées
- Spatules
- Pipettes pasteur
- Eprovettes
- Montage Dean Stark
- Clevenger
- Bouchons en verre
- Joints clips
- Micro-seringues
- Pied à coulisse

3. Réactifs chimiques et milieu de culture

- Eau distillée
- Eau physiologique
- Hydroxyde de potassium
- Toluène
- Milieu de culture
- Milieu MH et gélose nutritive



Balance digitale



Etuve

