

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أمحمد بوقرة بومرداس
Université M'Hamed Bougara de Boumerdès



Faculté des Sciences - Département de Chimie

Domaine : Science de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Organique

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Présenté et soutenu par

BENYOUCEF Fatma Zohra & CHERIFI Djihad

22 octobre 2020

Thème

“ Extraction, caractérisation et valorisation de l'huile essentielle et de l'hydrolat du lentisque pistachier ”

Mme BOUSSAK Hassina	Maitre de conférence A FS - UMBB	Présidente
Mlle BENOUDJIT Fouzia	Maitre de conférence B FS - UMBB	Promotrice
Mlle DEMIM Soraya	Maitre de conférence B FS - UMBB	Examinatrice

Remerciements

D'abord, tout le remerciement est pour Dieu de nous avoir donné la volonté, la santé, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Notre remerciement les plus sincères s'adressent en premier lieu à notre promotrice **Mme Benoudjit Fouzia**, pour ses conseils judicieux, son jugement critique, son sérieux, son compétence et son sens du devoir nous ont énormément marqués. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

Nous remercions les membres du jury, qui nous font l'honneur de juger notre travail :

Mme Boussak, qui a bien voulu assumer la présidence du jury, qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect.

Mme Demim Soraya, d'avoir accepté avec tant d'enthousiasme de nous faire partager ses impressions avisées lors de l'examen de ce travail.

Nous tenons à remercier également :

Zidane Menaour et sa fille **Sabrina** de nous avoir accueilli dans son **distillerie Sarl ZIPHEEBIO**, pour la confiance et l'aide qu'ils nous ont accordé.

Membres du laboratoire SPIC et particulièrement **Hammoudi Imene** pour nous avoir facilités la tâche et pour nous avoir assurés un bon environnement de travail.

Membres du laboratoire pédagogique appartenant au Département de Chimie (Faculté des Sciences UMBB), **laboratoire central de biologie clinique** (unités de microbiologie et de bactériologie) de l'Etablissement Public Hospitalier de Bologhine IBN ZIRI (Wilaya d'Alger) et **laboratoire microbiologique** qui se trouve au niveau de l'Etablissement Public Hospitalier de Thénia (Wilaya de Boumerdès) pour la contribution qu'ils ont apportée à notre travail.

Enfin nos remerciements s'adressent à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvent ici nos sincères reconnaissances.

Dédicace

*Tout d'abord, je souhaite dédier ce mémoire aux êtres que j'aime le plus au monde « Mes chers parents **Mr. CHERIFI Menouar** et **Mme. SIDI ALI Noura** »*

A ma mère : ma source de tendresse de patience et de générosité, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que tu m'as consenti pour mon instruction et mon bien être. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu m'as apporté depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction m'accompagnera toujours. Je t'aime plus que tout.

A mon père : aucun mot ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour toi. Merci pour le libre choix que tu m'as toujours accordé, pour ton encouragement durant toutes ces années, dans les périodes de doute comme d'espoir. Merci d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Ma réussite est la tienne, Qu'Allah t'accorde une longue vie.

*A mes frères : **Mohamed, Nabil** et **Bilel** que j'aime profondément. Je leurs souhaite pleins de réussite dans leur vie professionnelle.*

*A ma petite sœur Chérie **Chahd** : Sans toi ma vie ne serait que simple. Je t'aime mon ange.*

*A mes chères : **Fatma, Malika, Naima, Saida, Sarah , Fatma-zohra, Ahmed** et **Oussama** qui m'ont beaucoup soutenu. A mon binôme **Zahrati** avec qui j'ai partagé des moments de bonheur durant tout ce mémoire. Je vous souhaite pleins de succès dans vos vies.*

*Une dédicace spéciale pour mes chères copines : **Fella** et **Fatma-zohra** et pour tous les moments que nous avons passés ensemble.*

*Une dédicace spéciale pour : **Mmes. MOHAMEDI (Malika, Nabila, Dahbia)** et **Mr. RAHMANI Mohamed** qui m'ont apporté leurs encouragements et leurs aides pour réaliser ce travail.*

*Enfin, je remercie celle qui est au cœur de ma vie et qui m'a toujours soutenu. Merci **Asma** (ma loulou). Cela fait maintenant plus de huit ans que nous partageons tout : les moments les plus merveilleux, mais également les moments plus durs de remise en question et de doute. Malgré nos erreurs, nous sommes toujours ensemble, plus forts que jamais et prêts à affronter le futur. Je t'aime.*

Djihad

Dédicace

Je Dédie ce modeste travail :

*A mes très chers parents « **Mr. Benyoucef** Mohamed et **Mme. Meslem Nacira** » qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions, qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras et sans qui je ne serais pas là aujourd'hui. Je les remercie pour leurs endurance, leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements. Que ce travail soit, pour eux, un faible témoignage de ma profonde affection et tendresse.*

*A ma source d'énergie, de volonté et de sourire mes sœurs **Latifa** et **Salima** que j'aime énormément.*

*A mes frères **Yacine**, **Yacer** et **Saber** que j'aime trop.*

*A mon fiancé **Aberkane Fayçal** qui est toujours à mes cotés et avec son appui inestimable et son sourire dans les moments difficiles.*

*A mon binôme **Djidjiti** pour sa présence dans tous les instants et pour les beaux souvenirs. Je lui souhaite le bonheur et la réussite.*

*À toute ma famille, tous mes chers amis, et tous mes proches.
À Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire.
À tous ceux qui me connaissent de près ou de loin.*

Fatma Zohra

Liste des tableaux

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Tableau I.1 : Principales PAM consommées en Algérie.....	5
Tableau I.2 : HEs les plus demandées sur le marché mondial.....	11
Tableau I.3 : Caractères organoleptiques de l'HE et de l'HD du lentisque pistachier.....	23
Tableau I.4 : Propriétés physiques de l'HE et de l'HD du lentisque pistachier.....	23
Tableau I.5 : Quelques molécules contenues dans l'HE de différente partie du lentisque pistachier.....	24

Chapitre II : Matériel et méthodes

Tableau II.1 : Composition des émulsions formulées.....	34
Tableau II.2 : Nature et origine des différentes souches pathogènes utilisées.....	38
Tableau II.3 : Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés.....	39

Chapitre III : Résultats et discussions

Tableau III.1 : Teneur en humidité, en matière sèche des rameaux feuillés du lentisque pistachier récoltés et rendement d'extraction de l'HE 2020.....	40
Tableau III.2 : Caractéristiques organoleptiques et propriétés physicochimiques des HEs et de l'HD du lentisque pistachier.....	41
Tableau III.3 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) cultivées en présence de HE 2008, HE 2020 et HD 2020, respectivement.....	44
Tableau III.4 : Caractéristiques organoleptiques et observations macroscopiques des 04 formulations au cours du temps.....	47
Tableau III.5 : Résultats du test d'irritation des émulsions formulées.....	50
Tableau III.6 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition des différentes bactéries (en mm) cultivées en présence des quatre formulations.....	54

Liste des figures

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Figure I.1 : Organes sécréteurs des HE.....7

Figure I.2 : Structures histologiques des végétaux.....7

Figure I.3 : Isoprène.....8

Figure I.4 : Structures chimiques de quelques monoterpènes extraits des HEs.....9

Figure I.5 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des HEs.....9

Figure I.6 : Structures chimiques de quelques composés odorants.....9

Figure I.7 : Répartition des taux de production d’HEs par pays à travers le monde en 2008.....11

Figure I.8 : Illustration de l'aromatogramme.....12

Figure I.9 : Schéma de l’extraction par entraînement à la vapeur.....14

Figure I.10 : Schéma de l’extraction par hydrodistillation.....15

Figure I.11 : Montage d’hydrodiffusion.....16

Figure I.12 : Principe de l’expression à froid.....17

Figure I.13 : Principe de l’extraction par solvant volatil.....18

Figure I.14 : Enfleurage avec des graisses.....19

Figure I.15: Schéma de l’extraction de l'HE par CO₂ supercritique.....19

Figure I.16 : Schéma du montage d’extraction assistée par micro-onde.....20

Figure I.17 : Lentisque pistachier.....21

Figure I.18 : Distribution du lentisque pistachier dans le bassin méditerranéen.....22

Figure I.19 : Emulsions simples.....26

Figure I.20 : Emulsions multiples.....27

Chapitre II : Matériel et méthodes

Figure II.1 : Protocole de mesure de la teneur en humidité.....28

Figure II.2 : HE 2008.....30

Figure II.3 : Etapes de mesure de la densité relative.....31

Figure II.4 : Mesure de l'indice de réfraction de l'HD et des HEs, respectivement.....32

Figure II.5 : Apparition de la couleur rose persistante.....33

Figure II.6 : Crèmes F1, F2, F3 et F4, respectivement.....35

Figure II.7 : Centrifugeuse de la marque HERMLE.....36

Chapitre III : Résultats et discussions

Figure III.1: Effets de HE 2008, HE 2020 et de l'HD 2020 sur les quatre souches.....44

Figure III.2 : Exemple de résultats des essais de centrifugation pour les quatre crèmes formulées.....49

Figure III.3 : Images macroscopiques du test de bleu de méthylène de F1, F2, F3 et F4, respectivement.....50

Figure III.4 : Effets des quatre formulations sur les trois bactéries.....53

Liste des abréviations

PAM : Plantes aromatiques et médicinales.

HE : Huile essentielle.

HD : Hydrolat.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ISO : Organisation Internationale de Normalisation.

pH : Potentiel d'hydrogène.

Ia : Indice d'acide.

ATCC: American type culture collection.

MH : Muller Hinton.

SAB : Sabouraud.

ATBs : Antibiotiques.

D : Diamètre d'inhibition.

mm : Millimètre.

H/E : Huile dans l'eau.

E/H : Eau dans l'huile.

F : Formulation.

R : Résistante.

S : Sensible.

TS : Très Sensible.

ES : Extrêmement Sensible.

T° amb : Température ambiante.

T° réf : Température du réfrigérateur.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I : Rappels bibliographiques	
I.1. Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales	3
I.1.1. Introduction	3
I.1.2. Définition.....	3
I.1.3. Importance	3
I.1.4. Dénomination botanique	3
I.1.5. Plantes aromatiques et médicinales en Algérie	4
I.2. Généralités sur les huiles essentielles	6
I.2.1. Historique	6
I.2.2. Définition.....	6
I.2.3. Répartition et localisation dans la plante.....	6
I.2.4. Rôle dans la plante.....	7
I.2.5. Composition chimique.....	8
I.2.6. Facteurs de variabilité de la composition chimique	9
I.2.7. Propriétés physico-chimiques.....	9
I.2.8. Domaines d'utilisation.....	10
I.2.9. Toxicité.....	10
I.2.10. Conservation.....	10
I.2.11. Intérêt économique	10
I.2.12. Pouvoir antimicrobien	11
I.3. Hydrolat	12
I.3.1. Définition.....	12
I.3.2. Composition chimique.....	13
I.3.3. Facteurs influençant la qualité de l'hydrolat.....	13
I.3.4. Utilisation	13
I.3.5. Conservation.....	14
I.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles et d'obtention des hydrolats	14
I.4.1. Distillation	14
I.4.1.1. Entraînement à la vapeur	14
I.4.1.2. Hydrodistillation	15
I.4.1.3. Hydrodiffusion.....	15

I.4.2. Expression à froid.....	16
I.4.3. Extraction par solvants volatils	17
I.4.4. Enflourage.....	18
I.4.5. Extraction au CO ₂ supercritique	19
I.4.6. Extraction assistée par micro-ondes	20
I.5. Données bibliographiques sur le matériel végétal étudié : Lentisque pistachier	20
I.5.1. Description botanique.....	20
I.5.2. Noms vernaculaires	21
I.5.3. Classification botanique	21
I.5.4. Répartition géographique	22
I.5.5. Méthodes d'extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat.....	22
I.5.6. Propriétés physico-chimiques de l'HE et de l'HD	22
I.5.6.1. Caractéristiques organoleptiques	22
I.5.6.2. Caractéristiques physiques.....	23
I.5.6.3. Composition chimique.....	23
I.5.7. Activités biologiques de l'huile essentielle	24
I.5.8. Usages de l'huile essentielle et de l'hydrolat	25
I.5.8.1. Huile essentielle	25
I.5.8.2. Hydrolat	25
I.5.9. Conditionnement et conservation de l'huile essentielle et l'hydrolat	25
I.6. Notions sur les émulsions	25
I.6.1. Définition.....	25
I.6.2. Composition	26
I.6.3. Types d'émulsions.....	26
I.6.3.1. Emulsions simples	26
I.6.3.2. Emulsions multiples.....	27
I.6.4 Domaines d'utilisation	27
Chapitre : Matériels et méthodes	
II.1. Objectif du mémoire	28
II.2. Matériel végétal	28
II.3. Essais effectués sur le matériel végétal avant extraction	28
II.3.1. Teneurs en humidité et en matière sèche	28
II.4. Extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat du lentisque pistachier	29
II.4.1. Protocole d'extraction.....	29

II.4.2. Détermination du rendement d'extraction	30
II.5. Caractérisation des huiles essentielles et de l'hydrolat	30
II.5.1. Caractéristiques organoleptiques	30
II.5.2. Propriétés physico-chimiques	30
II.5.2.1. Potentiel d'hydrogène (pH)	30
II.5.2.2. Densité relative (NF ISO 279).....	31
II.5.2.3. Miscibilité à l'éthanol (ISO 875).....	31
II.5.2.4. Indice de réfraction à 20°C (NF ISO 280)	32
II.5.2.5. Indice d'acide (Ia) (ISO 1242)	32
II.6. Valorisation des huiles essentielles et de l'hydrolat et étude de stabilité.....	33
II.6.1. Formulation de crèmes décongestionnantes.....	33
II.6.2. Etude de stabilité	35
II.6.2.1. Propriétés organoleptiques	35
II.6.2.2. Potentiel d'hydrogène (pH)	35
II.6.2.3. Centrifugation.....	36
II.6.2.4. Test d'irritation.....	37
II.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, de l'hydrolat et des formulations	37
II.7.1. Antibioaromatogramme	37
II.7.2. Matières biologiques	37
II.7.3. Mode opératoire	38
Chapitre : Résultats et discussions	
III.1. Essais effectués sur le matériel végétal	40
III.1.1. Teneur en humidité et en matière sèche	40
III.1.2. Rendement d'extraction	40
III.2. Caractéristiques organoleptiques et propriétés physico-chimiques des HEs et de l'HD du lentisque pistachier	40
III.2.1 Caractères organoleptiques	41
III.2.2. Propriétés physico-chimiques	42
III.2.2.1. Potentiel d'hydrogène (pH).....	42
III.2.2.2.Densité relative 20°C	42
III.2.2.3. Miscibilité à l'éthanol	42
III.2.2.4. Indice de réfraction	42
III.2.2.5. Indice d'acide	43
III.3. Activité antimicrobienne des huiles essentielles et de l'hydrolat	43

III.4. Etude de stabilité des crèmes décongestionnantes formulées	45
III.4.1. Caractères organoleptiques et observations macroscopiques	45
III.4.2. Sens de l'émulsion	48
III.4.3. Test d'irritation	49
III.4.4. Activité antibactérienne des émulsions formulées.....	52
Conclusion et perspectives	55
Références bibliographiques	57
Résumé	

Introduction

Depuis les temps les plus anciens, l'homme a appris à utiliser les plantes aromatiques et médicinales (PAM) que le monde lui offre pour se nourrir et se soigner. L'utilisation thérapeutique de ces plantes est très ancienne mais elle connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. L'une des valorisations possibles de cette richesse naturelle est l'extraction de leurs huiles essentielles (HEs) et de leurs hydrolats (HDs), produits connus et utilisés pour leurs propriétés aromatisantes et médicinales.

Les HEs sont des composés volatils aromatiques extraits par différentes méthodes. La plus traditionnelle et ancienne de ces méthodes est la distillation par entraînement à la vapeur. Il y a plus de 200 substances actives différentes dans chaque HE [1] : des alcools, des éthers, des terpènes, des acétates, des cétones, des phénols... c'est l'ensemble qui lui confère ses propriétés. À la différence des HEs, les HDs ont été peu étudiés malgré l'intérêt des industries alimentaires, cosmétiques et phytothérapeutiques.

De nos jours l'association entre la chimie, la biochimie, la biologie, la médecine, la pharmacie et la botanique est un assemblage que personne ne peut contester. Les plantes identifiées et classifiées par les botanistes sont devenues la matière première de prédilection pour de nouvelles prospections pharmaceutiques.

Le lentisque pistachier (*Pistacia lentiscus L*) est un arbrisseau appartenant à la famille des Anacardiaceae qui pousse dans le maquis méditerranéen. Il produit une HEs excellente pour les problèmes de circulation sanguine et lymphatique [2] et est très utilisée pour les jambes lourdes et les varices. Malgré sa large utilisation en médecine traditionnelle, très peu de travaux scientifiques ont été réalisés sur l'HE et l'HD de rameaux feuillés du lentisque pistachier.

Notre présent travail a pour but l'extraction et la caractérisation d'HE et d'HD provenant des rameaux feuillés du lentisque pistachier cultivés à Bouderbala (wilaya de Bouira) et la comparer avec une HE du lentisque pistachier datant de 2008, la valorisation de ces HEs et de l'HD dans des formulations et étudier leurs stabilités et l'évaluation des activités antimicrobiennes des HEs, HD et formulations qui seront testées vis-à-vis de différentes souches pathogènes.

Par conséquent, le travail exposé dans ce mémoire est organisé en trois chapitres :

Le premier chapitre est réservé à une synthèse bibliographique abordant les PAM, les HEs, les HDs ainsi que les différentes méthodes d'extraction des HEs et d'obtention d'HDs. Cette partie présente ensuite lentisque pistachier ainsi que les propriétés globales de l'HE et de l'HD qui peuvent en être extrait. Enfin, ce chapitre se termine par quelques notions sur les émulsions.

Le deuxième chapitre, matériel et méthodes, a porté sur la présentation du matériel végétal, la description du procédé d'extraction de l'HE et de l'HD, les différentes techniques et modes opératoires réalisés pour la détermination de leurs propriétés organoleptiques et physico-chimiques ainsi celle d'une HE du lentisque pistachier datant de 2008. Ensuite, le protocole de valorisation des HEs et de l'HD étudiés dans la formulation de crèmes décongestionnantes a été décrit suivi par les différentes analyses effectuées en vue de suivre leurs stabilités. Ce chapitre se termine par l'évaluation de l'activité antibactérienne des HEs, de l'HD et des formulations.

Le troisième chapitre récapitule tous les résultats obtenus des caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques des HEs et de l'HD, du suivi de la stabilité des crèmes formulées sur une durée déterminée, et des activités antimicrobiennes des HEs, HD et des formulations interprétées à la lumière de la littérature.

Ce mémoire est clôturé par une conclusion et quelques perspectives.

Chapitre I : Rappels bibliographiques

I.1. Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales

I.1.1. Introduction

Depuis longtemps l'homme a utilisé les plantes comme source pour se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer ... mais aussi pour maintenir son équilibre, soulager ses souffrances et soigner les maladies qui nuisent à sa santé. En effet, les Egyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques [3].

I.1.2. Définition

Une plante est dite « médicinale » lorsqu'un de ses organes possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques alors qu'elle est dite « aromatique » lorsqu'elle synthétise et sécrète d'infimes quantités d'essence aromatique. De ce fait, parmi les espèces végétales existantes (800 000 à 1 500 000 selon les botanistes) 10 % seulement sont dites « aromatiques » [4].

I.1.3. Importance

Après avoir été longtemps considérés comme produits secondaires, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) ont pris un essor considérable. En effet, la croissance de l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire ainsi que du développement incessant de nouveaux produits synthétiques et biologiques plus efficace n'ont pas réduit l'importance de l'utilisation des PAM et des produits dérivés dans le monde. Selon la revue l'Economiste [5] le marché mondial des PAM est estimé à environ 64 milliards de dollars.

Les PAM ont non seulement des rôles pastoral, énergétique et environnemental mais aussi de nombreuses utilisations dans l'alimentation humaine, la médecine traditionnelle ainsi qu'à des fins industrielles (agroalimentaire, parfumerie, cosmétique, pharmaceutique...). Plus de 35 000 plantes sont utilisées dans des industries comme la pharmacie, la phytothérapie, l'herboristerie, l'hygiène et entrent également en tant que composants dans la fabrication des cosmétiques. Elles sont aussi la base des produits naturels transformés à forte valeur ajoutée tels que les huiles essentielles (HEs), les extraits secs et liquides et les oléorésines.

I.1.4. Dénomination botanique

Pour identifier de façon précise une plante, il faut connaître :

- **la famille** : elle représente le classement systématique qui regroupe les espèces ayant des caractères morphologiques communs ;
- **le genre** : il représente l'unité de classification regroupant un certain nombre d'espèces ayant des caractères communs, subordonnée à la famille ;

- **l'espèce** : c'est l'ensemble d'individus inter féconds étroitement apparentés par caractères.
- **la sous-espèce** : c'est la subdivision de l'espèce qui se distingue par quelques caractères et possède souvent une autre distribution géographique ;
- **la variété** : elle constitue la subdivision d'une espèce ou sous-espèce, souvent différente par un seul caractère, qui pousse généralement à proximité de l'espèce type ;
- **l'hybride** : c'est une plante provenant d'une espèce dont la graine a été fécondée par une autre espèce presque toujours du même genre.

I.1.5. Plantes aromatiques et médicinales en Algérie

L'Algérie avec une surface de 2381741 km², est le plus grand pays riverain de la Méditerranée. L'Algérie est reconnue par sa diversité variétale en PAM ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays qui représentent un héritage familial oral, dominant en particulier chez les femmes âgées et illettrées. Les principales PAM les plus consommées en Algérie sont regroupées dans le Tableau I.1 ci-dessous :

Tableau I.1 : Principales PAM consommées en Algérie [6].

Espèces	Noms scientifiques	Parties utilisées	Importance
Fenugrec	<i>Trigonella foenum groecum. L</i>	Graines	XXX
Verveine	<i>Verbena citriodora HB et K</i>	Feuilles	XXX
Sablina	<i>Arenaria rubra . L</i>	Plante entière	XXX
Coriandre	<i>Coriandrum Sativum. L</i>	Graines	XXX
Queue de cerise	<i>Prunus cerasus . L</i>	Queues	XXX
Armoise blanche	<i>Artemesia herba alba .asso</i>	Sommités fleuries	XXX
Marrube blanc	<i>Marrubiumvulgare .L</i>	Sommités fleuries	XXX
Globulaire	<i>Globularia alypum. L</i>	Sommités fleuries	XXX
Menthe verte	<i>Mentha veridis . L</i>	Feuilles	XXX
Origan	<i>Majorana hortentis Moeneli</i>	Sommités fleuries	XXX
Nigelle	<i>Nigella sativa . L</i>	Graines	XXX
Petite centaurée	<i>Erithrea centaurium . L</i>	Sommités fleuries	XXX
Cumin	<i>Cuminum Cuminum L.</i>	Graines	XXX
Réglisse	<i>Glycyrrhiza globra. L</i>	Racines	XX
Romarin	<i>Romarinus officinalis . L</i>	Sommités fleuries	XX
Tyum	<i>Thymus vulgaris</i>	Sommités fleuries	XX
Bigaradier	<i>Citrus bigaradia . Duham</i>	Feuilles et fleurs	XX
Séné	<i>Cassia abovata.coll</i>	Feuilles	XX
Sauge	<i>Salvia officinalis L</i>	Sommités fleuries	XX
Lavande	<i>Lavandula officinalis L</i>	fleurs	XX
Noyer	<i>Juglans regia L</i>	Feuilles et écorce	XX
Myrte	<i>Myrtus communis . L</i>	Feuilles et fruits	XX
Alaterne	<i>Rhammus alaternus. L</i>	Feuilles	XX
Menthe pouliot	<i>Menta pulegium. L</i>	Sommités fleuries	XX
Tym serpolet	<i>Tyymus serpillum. L</i>	Sommités fleuries	XX
Aubépine	<i>Carataegus monogyna Jacq</i>	Fleurs	XX
Camomille	<i>Matricaria camomilla. L</i>	Fleurs	XX
Anis vert	<i>Pimpinella anisum. L</i>	Graines	XX
Ortie	<i>Urtica urens L</i>	Sommités fleuries	X
Frêne	<i>Faxinus exelsior L</i>	Feuilles	X
Lentisque	<i>Pistacia lentiscus. L</i>	Feuilles	X
Basilic	<i>Ocinum basilicum. L</i>	Sommités fleuries	X
Pétale de rose	<i>Rosa canina. L</i>	Pétales et fruit	X
Fenouil	<i>Foeniculum vulgare</i>	Graines	X

XXX : Très important, XX : Important, X : Moins important

I.2. Généralités sur les huiles essentielles

I.2.1. Historique

L'extraction des huiles essentielles (HEs) commença environ 4000 à 5000 ans avant Jésus Christ en Orient. Les HEs ont été utilisées d'abord en Chine et en Inde, sous forme de massage, puis en Irak et en Égypte sous forme d'embaumement des pharaons et de conservateurs d'aliments. En Grèce et à Rome, l'extraction des HEs était très répandue pour combattre l'épidémie de peste. Les principes de la distillation et techniques d'extraction arrivèrent en Europe au XIIIème siècle, par le biais des croisades musulmanes [7].

I.2.2. Définition

L'HE est défini comme suit :

- **Selon la commission de la pharmacopée européenne** : produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit 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 [8].
- **Selon AFNOR NF T 75-006** : produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition... [9].

I.2.3. Répartition et localisation dans la plante

Les HEs sont produites par des cellules végétales spécialisées et peuvent être stockées dans tous les organes végétaux, nommées organes sécréteurs (Figure I.1).



Figure I.1 : Organes sécréteurs des HEs.

La synthèse et l'accumulation des HEs sont généralement associées à la présence de structures histologiquement spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante [10]. On retrouve par exemple (Figure I.2) :

- les cellules à HEs chez les rhizomes de gingembre ;
- les poils sécréteurs chez les feuilles de tomates ;
- les poches sécrétrices chez les eucalyptus citronnés ;
- les canaux sécréteurs chez les Apiacées et les Astéracées.



Figure I.2 : Structures histologiques des végétaux.

I.2.4. Rôle dans la plante

Les HEs jouent un rôle pour la plante elle-même et pour interagir avec leur environnement. On estime que certains de leurs composants seraient des messagers internes ou encore des intermédiaires du métabolisme de la plante. Aussi, les HEs pourraient être des sources d'énergie

lorsque l'activité de photosynthèse n'est plus suffisante ou un moyen de défense contre les prédateurs (micro-organismes, champignons, insectes ...) [11].

I.2.5. Composition chimique

Comme toutes les plantes sont classées en familles, les HEs sont aussi classés en deux familles [12] :

- Groupe des trapénoïdes (ou terpènes) : c'est le groupe majeur et le plus important.
- Groupe des composés aromatiques dérivés du phényle propane.

I.2.5.1. Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques. Ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute $(C_5H_8)_n$ (Figure I.3).

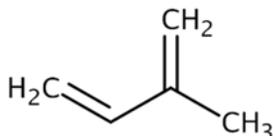


Figure I.3 : Isoprène.

Les variations structurales dans ce groupe dépendent de :

- nombre d'atomes de carbone qui la constitue :
 - Monoterpènes C_{10} (Figure I.4).
 - Sesquiterpènes C_{15} (Figure I.5).
 - Diterpènes C_{20} .
- caractère saturé ou insaturé des liaisons ;
- leur agencement linéaire ou cyclique ;
- la configuration spatiale (formes chaise, bateau ou trièdre) ;
- la nature des groupes fonctionnels :
 - Terpènes $R_1-HC=CH-R_2$.
 - Alcools terpéniques $R-OH$.
 - Cétones $RI-CO-R_2$.
 - Phénols C_6H_6-OH .
 - Aldéhydes $R-CHO$.
 - Esters $R-COO-R$.
 - Ethers R_1-O-R_2 .

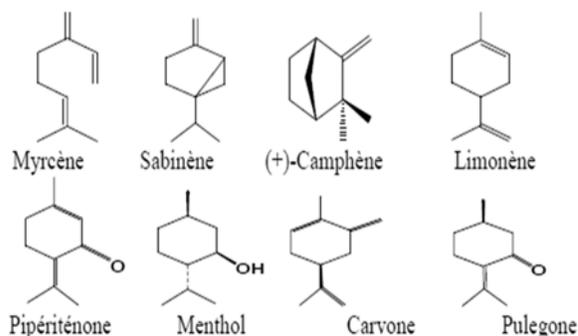


Figure I.4 : Structures chimiques de quelques monoterpènes extraits des HEs.

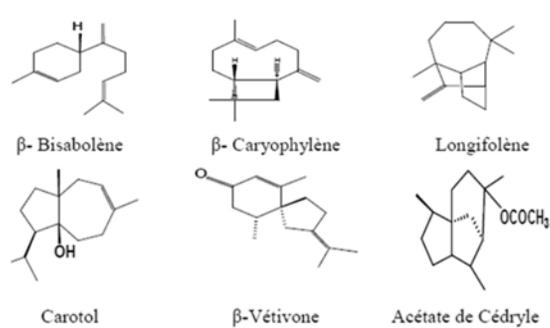


Figure I.5 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des HEs.

I.2.5.2. Dérives du phényle propane

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole (Figure I.6) et bien d'autres. Ils sont d'avantage fréquents dans les HEs d'apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc.

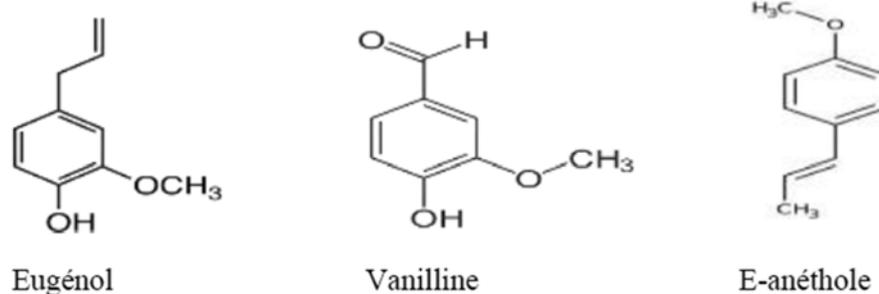


Figure I.6 : Structures chimiques de quelques composés odorants.

I.2.6. Facteurs de variabilité de la composition chimique

La composition chimique des HEs est très fluctuante et peut varier à l'intérieur d'une même espèce. Ces variétés chimiques, communément appelées chimiovariété, peuvent être dues à de nombreux facteurs parmi eux :

- l'origine botanique ;
- l'organe producteur ;
- l'origine géographique ;
- le climat dans lequel la plante a poussé ;
- la conservation des plantes ...

I.2.7. Propriétés physico-chimiques

Les HEs ont, généralement, les propriétés physico-chimiques suivantes [13] :

- Elles sont volatiles à la température ambiante, inflammable, et très odorante.
- Elles sont liquides dans la plupart des cas sauf pour quelques-unes qui sont solide à la température ordinaire.
- Elles sont généralement incolores et peuvent peu à peu prendre une coloration jaune plus au moins foncée.
- Elles sont solubles dans les alcools, l'éther et les huiles fixes, et sont insolubles dans l'eau. Néanmoins, qu'au contact de cette dernière, les HEs laissent leur odeur.
- Elles ont des densités inférieures à celle de l'eau allant de 0,85 à 0,95.
- Elles ont des points d'ébullition qui varient de 160°C jusqu'à 240°C.
- Elles ont des indices de réfraction souvent élevés avec des pouvoirs rotatoires.

I.2.8. Domaines d'utilisation

Les HEs sont utilisées dans divers domaines notamment :

- **en agroalimentaire** : dans la fabrication d'arômes alimentaires, d'essences fruitées, de boissons rafraichissantes, de liqueurs de pâtisseries et de confiseries ;
- **en cosmétologie** : dans les parfums et les savons ;
- **en pharmacie** : comme matières premières pour la synthèse des principes actifs médicamenteux, des vitamines et des substances odorantes.

I.2.9. Toxicité

Les HEs sont des substances puissantes et très actives dont l'utilisation abusive peut être nocive. Les HEs peuvent engendrer des effets secondaires plus ou moins néfastes dans l'organisme en usage interne ou externe (allergies, coma, épilepsie...) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques).

I.2.10. Conservation

L'HEs se conserve dans un flacon propre et sec en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté anti actinique. Le flacon doit être presque entièrement rempli et fermé de façon étanche (l'espace libre étant occupé d'azote ou d'un autre gaz inerte). En générale, le délai de conservation des HEs peut aller de 6 mois à 3 ans, en fonction de la nature de l'huile et de la qualité de conservation.

I.2.11. Intérêt économique

Le domaine des HEs est considéré comme un secteur porteur de croissance économique. Il a l'avantage d'être une activité nécessitant une main d'œuvre disponible créatrice d'emplois susceptible de réduire la pauvreté et d'améliorer la qualité de vie. Le Tableau I.2 et Figure I.7 regroupe les HEs les plus demandées sur le marché mondial et illustre la répartition des taux de production d'HEs par pays à travers le monde, respectivement.

Tableau I.2 : HEs les plus demandées sur le marché mondial [14].

Huiles essentielles	Volumes (tonnes)	Pays producteurs
Citronnelle	1800	Chine, Sri Lanka
Menthe des bois	32000	Inde, Chine, Argentine
Eucalyptus type cinéole	4000	Inde, Chine, Argentine
Orange	51000	USA, Brésil, Argentine
Menthe poivrée	2367	Inde, USA, Chine
Citron	9200	Argentine, Italie, Espagne
Eucalyptus (type citronnelle)	1000	Chine, Brésil, inde, Vietnam
Feuille de clou de girole	1800	Indonésie, Madagascar
Verveine exotique	1200	Chine
Menthe verte	1800	USA, Chine
Bois de cèdre (chine)	1650	USA, Chine
Lavandin	1100	France
Patchouli	1200	Indonésie, Inde

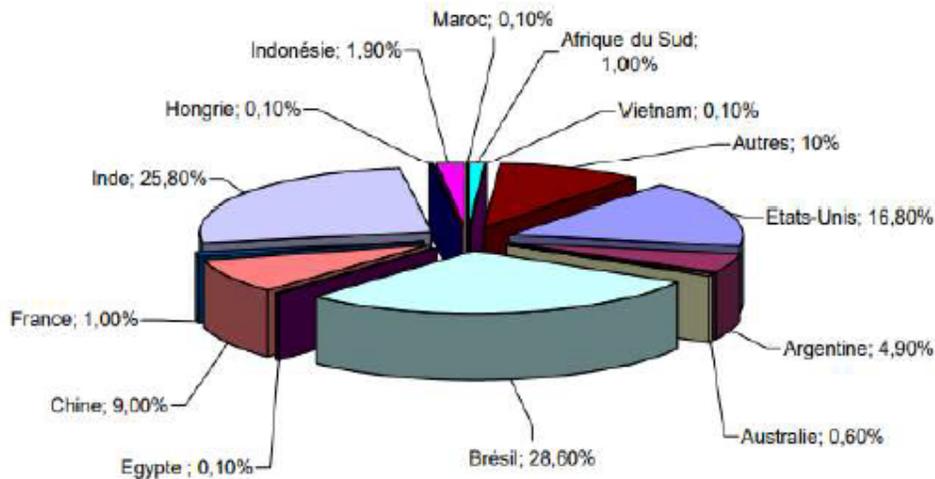


Figure I.7 : Répartition des taux de production d'HEs par pays à travers le monde en 2008 [15].

I.2.12. Pouvoir antimicrobien

Afin de déterminer in vitro le pouvoir antimicrobien d'une HE, il existe diverses méthodes de mesure parmi elle la méthode nommée aromagramme, technique de l'antibioaromagramme [16] ou méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques) [17].

Cette méthode représente un point de repère essentiel puisque sa technique est identique à celle utilisée pour mesurer l'activité bactériostatique ou bactéricide des antibiotiques nommée antibiogramme.

Ainsi, la méthode de diffusion sur gélose, utilisée dans ce mémoire, permet de prouver l'efficacité de telle ou telle HE sur telle ou telle micro-organisme.

Le principe de la méthode des disques, qui a été employée dans ce mémoire, est décrit ci-dessous.

- **Méthode des disques :**

La méthode des disques, nommée également technique de l'aromatogramme, est pratiquée pour tester et mettre en évidence l'activité antimicrobienne. Le principe de cette méthode consiste à préparer une suspension de 18 à 24 heures de chaque souche microbienne à étudier avec le bouillon nutritif dilué. Des boîtes de pétri contenant la gélose sont inoculées par la suspension bactérienne. Ces boîtes sont ensuite séchées sous hotte à flux laminaire. Un disque de papier filtre d'un diamètre déterminé est arrosé avec l'HE pure ou diluée puis conservé sur une boîte de pétri et le tout est entretenu pendant 18 à 24 heures à 30°C pour les bactéries gram négatif et à 37°C pour les bactéries gram positif. Après 18 à 24 heures d'incubation, on remarque la constitution d'une zone ou un halo clair (Figure I.8) autour du disque si l'HE considérée entrave le développement microbien. Plus la zone d'inhibition est importante, plus le germe est sensible.

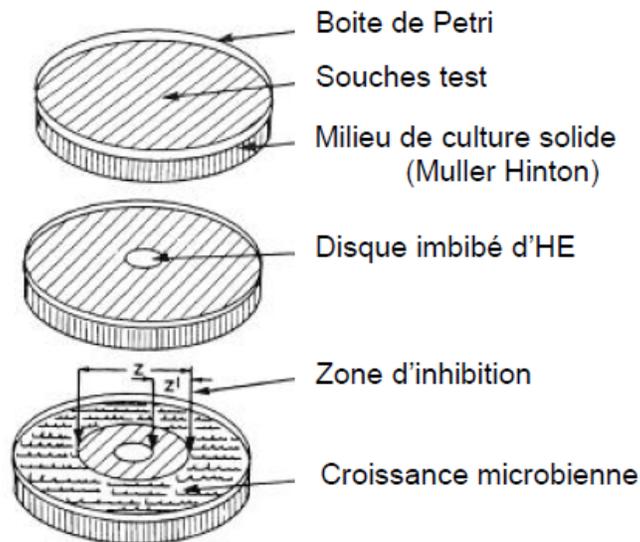


Figure I.8 : Illustration de l'aromatogramme.

I.3. Hydrolat

I.3.1. Définition

Le terme « hydrolat » vient du latin « hydro » (= eau) et du vieux français « lat » (= lait). Également appelé aquarome, eau florale (dans le cas des fleurs) ou hydrosol (terme en anglais), l'hydrolat (HD) est un sous-produit d'une distillation de plantes ou de partie de plantes. Lors de l'extraction d'une HE, deux produits sont récoltés : de l'eau distillée aromatisée chargée de molécules aromatiques hydrosolubles qui est l'HD, et de l'HE qui surnage au-dessus de l'HD.

Seules les plantes aromatiques permettent de récolter à la fois une HE et un HD.

I.3.2. Composition chimique

En raison de leurs procédés d'obtention, les hydrolats sont constitués de composés volatils hydrosolubles dilués dans l'eau de distillation. Leur concentration dépend de la nature des molécules (hydrophiles ou non) et du végétal. Elle peut varier de 0,05% (les eaux florales les moins odorantes) à quelques pourcent (dans de rares cas) [18]. Les composés les plus hydrophiles sont présents en proportions bien plus importantes dans l'HD que dans l'HE. Les composés organiques contenus dans l'HD sont généralement les mêmes que ceux retrouvés dans l'HE (voir I.2.5).

I.3.3. Facteurs influençant la qualité de l'hydrolat

Un hydrolat de qualité ne doit recevoir aucun ajout complémentaire jusqu'à son conditionnement. Il existe dans le marché des hydrolats de qualités très variables qui varient en fonction de [19] :

- la vitesse de distillation ;
- la température de distillation ;
- le type d'appareil utilisé ;
- la qualité des végétaux ;
- la quantité de végétaux mis en œuvre ;
- la quantité et la qualité de l'eau mise en œuvre.

I.3.4. Utilisation

Parmi les grandes utilisations des HDs ce qui suit [20] :

- **Industrie alimentaire** : pour aromatiser et cuisiner les aliments (Ex : HD de thym et d'origan).
- **Cosmétique** : les HDs sont utilisés dans les cosmétiques, les savons, les articles de toilette et les parfums.
- **Agriculture biologique** : pour contrôler les champignons, les moisissures et les insectes, et pour la fertilisation.
- **Médecine traditionnelle** : pour abaisser la température de la peau, pour traiter les bouffées de chaleur chez les femmes subissant un traitement anticancéreux
- **Aromathérapie** : pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, antiseptiques, astringentes, analgésiques, anti-infectieuses, antioxydantes, anticoagulantes, anti-inflammatoires, cicatrisantes, aphrodisiaques, digestives, cicatrisantes et calmantes.
- **Boisson/ Irrigation/ Eau de distillation** : les HDs peuvent être utilisés pour l'irrigation des plantes ou réutilisés pour la distillation ou comme eau potable.

I.3.5. Conservation

L'HD est proportionnellement fragile. En effet, sa faible concentration en HE et la présence d'éventuelles particules végétales favorisera la reproduction des bactéries. Les HDs peuvent être conservés pendant une période de 6 mois à 2 ans) [18]. Il est préférable de les garder au frais (de préférence au réfrigérateur) et d'éviter la lumière et l'air.

I.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles et d'obtention des hydrolats

Il existe plusieurs techniques d'extraction, variables, selon la partie du végétal employé, sa fragilité et ses caractéristiques botaniques.

I.4.1. Distillation

Il existe trois différentes méthodes utilisant ce principe :

I.4.1.1. Entraînement à la vapeur

La distillation à la vapeur d'eau, ou entraînement à la vapeur d'eau, est la technique la plus courante pour l'obtention des HEs. C'est la seule technique, avec l'expression à froid dans le cadre des HEs de zestes d'agrumes, qui est autorisée par la Pharmacopée européenne.

L'installation dans laquelle s'opère cette extraction est composée de trois cuves reliées entre elles par des tubes (Figure I.9). La première cuve (chaudière) reçoit de l'eau et la seconde (alambic) les plantes. L'eau est doucement chauffée et la vapeur générée traverse le végétal et arrache les composés volatils d'HE. Cette vapeur d'eau chargée est refroidie dans un serpentin par un circuit d'eau froide, se condense en gouttelettes à la sortie de ce serpentin et arrive dans

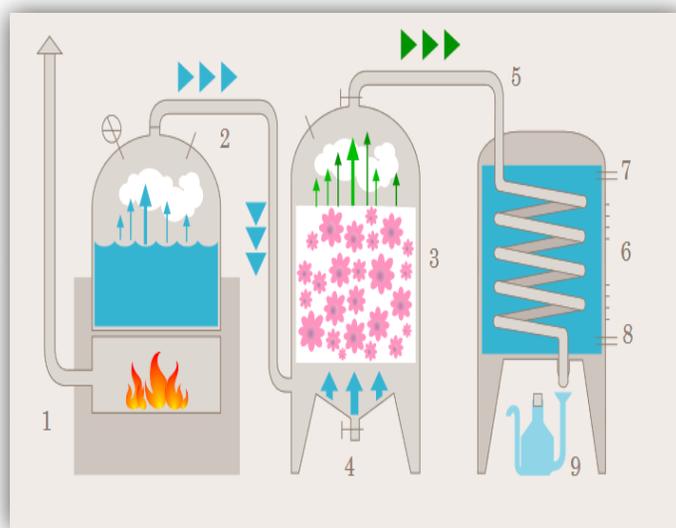


Figure I.9 : Schéma de l'extraction par entraînement à la vapeur (1 : chaudière ; 2 : vapeur ; 3 : plante à distiller ; 4 : alambic ; 5 : col de cygne ; 6 : réfrigérant avec serpentin ; 7 : arrivée d'eau froide ; 8 : essencier).

la troisième cuve, nommée essencier ou vase florentin, sous forme d'un mélange d'HD et d'HE. L'HE surnage à la surface de l'eau par sa faible densité et peut donc être séparée de l'HD.

I.4.1.2. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée. Son principe correspond à une distillation hétérogène qui consiste à immerger la matière végétale dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur pour une extraction industrielle (Figure I.10). Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotrope. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les HEs se séparent de l'eau (i.e. HD) par différence de densité. Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur afin de maintenir le rapport plante/eau à son niveau initial.

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

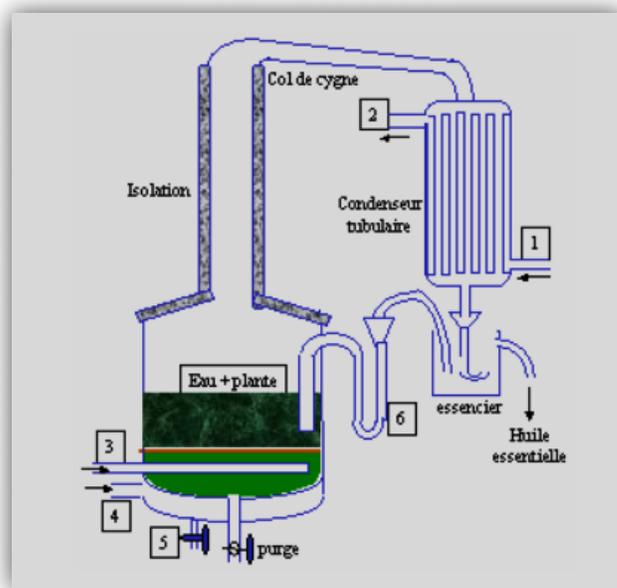


Figure I.10 : Schéma de l'extraction par hydrodistillation (1 : entrée d'eau froide dans le condenseur ; 2 : sortie d'eau du condenseur ; 3 : alimentation en eau ; 4 : admission de la vapeur surchauffée ; 5 : purge ; 6 : système pour cohobation éventuellement).

I.4.1.3. Hydrodiffusion

En général, la production des HEs est basée sur un principe de distillation où la matière végétale est soumise à un courant de vapeur la traversant de bas en haut. Dans l'extracteur d'hydrodiffusion la vapeur traverse le végétal de haut en bas (Figure I.11), en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur. Le concept de cet appareil de distillation exploite l'action osmotique de la vapeur d'eau qui est libérée sous forme azéotrope. On

obtient ainsi un produit de caractéristiques particulières. Ce procédé apporte des avantages majeurs qui se traduisent en économie de temps (la durée de distillation peut être réduite à 20 minutes, voire moins), de vapeur, d'eau et d'énergie, ainsi qu'en amélioration qualitative de l'huile extraite.

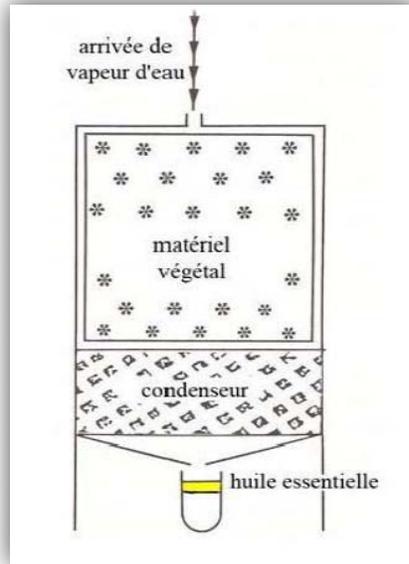


Figure I.11 : Montage d'hydrodiffusion.

I.4.2. Expression à froid

Le procédé d'extraction par expression à froid, dont le principe est illustré dans la Figure I.12 ci-dessous, est assurément le plus simple mais aussi le plus limité. Il est réservé à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés ou encore d'agrumes (bergamote, citron, mandarine, ...). Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'HE.

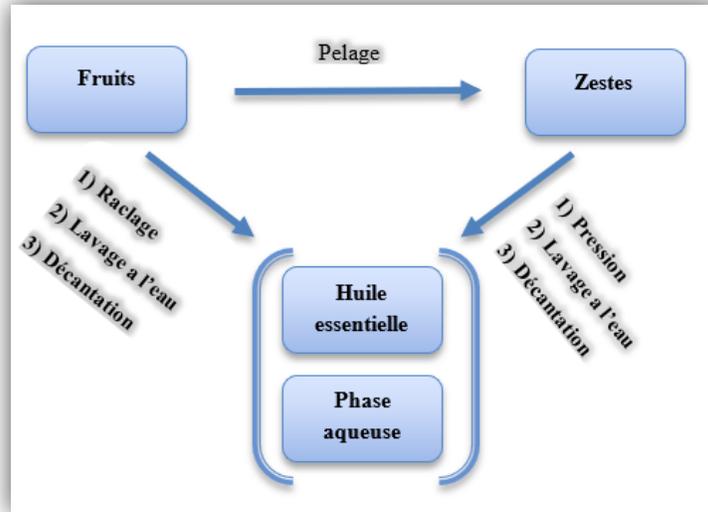


Figure I.12 : Principe de l'expression à froid.

I.4.3. Extraction par solvants volatils

La technique d'extraction par solvant (Figure I.13), consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et de la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une « absolue ». Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone [21].

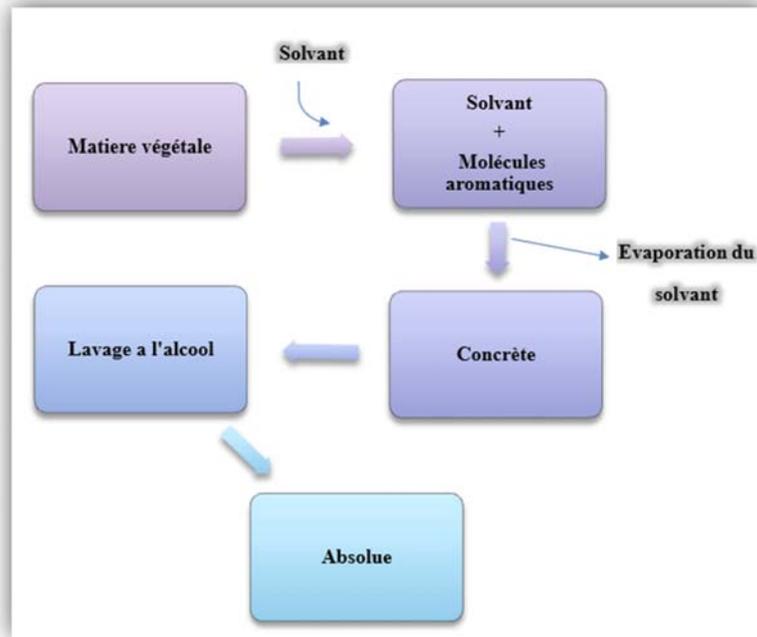


Figure I.13 : Principe de l'extraction par solvant volatil.

I.4.4. Enfleurage

Cette méthode se rapproche quelque peu de l'extraction par solvants volatils par son principe mais dans ce cas on utilise des graisses (Figure I.14) comme solvant. Ces dernières ayant elles aussi une forte affinité avec les composés odorants. On distingue deux types d'enfleurages [22]:

- **Enfleurage à froid** : il consiste à piquer des fleurs fraîches dans de la graisse. Cette dernière absorbant ainsi les molécules odorantes. On remplace régulièrement les fleurs pour gorger au maximum la graisse. La graisse est ensuite lavée à l'alcool dans des batteuses. On évapore l'alcool et on obtient ainsi une absolue de pommade.
- **Enfleurage à chaud (ou digestion)** : il consiste à faire fondre dans de grandes marmites au bain-marie de la graisse à laquelle on ajoute les fleurs. On renouvelle les fleurs tous les deux jours environs, puis on filtre le tout à travers plusieurs couches de tissus (lin et coton) afin de séparer la graisse inutile de la pommade.



Figure I.14 : Enfleurage avec des graisses.

I.4.5. Extraction au CO₂ supercritique

Le terme supercritique signifie que le CO₂, sous pression et à une température de 31°C, se trouve entre l'état liquide et l'état gazeux. Lorsqu'il est dans cet état, le CO₂ est capable de dissoudre de nombreux composés organiques et c'est cette même propriété dont les fabricants se servent pour extraire les HEs (Figure I.15). La matière végétale est chargée dans l'extracteur où est ensuite introduit le CO₂ supercritique sous pression et réfrigéré. Le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO₂ s'évapore et il ne reste plus que l'HE. Cette toute nouvelle méthode est très prometteuse car le produit obtenu est proche du naturel et sans trace de solvant. De plus le CO₂ est non toxique, incolore, inodore et ininflammable, ce qui permet des conditions de sécurité supérieures [23].

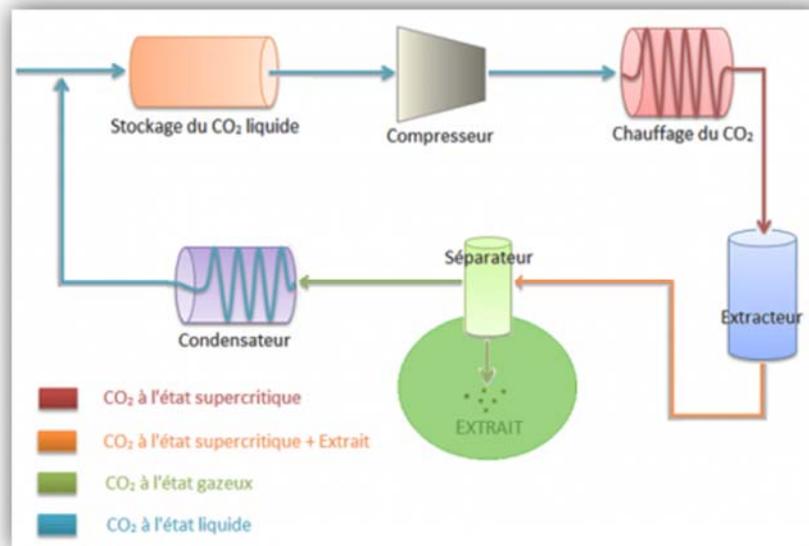


Figure I.15 : Schéma de l'extraction de l'HE par CO₂ supercritique.

I.4.6. Extraction assistée par micro-ondes

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé (Figure I.16) consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement [24]

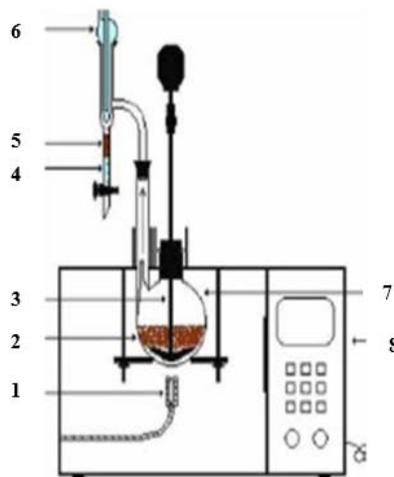


Figure I.16 : Schéma du montage d'extraction assistée par micro-onde (1 : thermomètre ; 2 : matière végétale + solvant ; 3 : agitateur ; 4 : eau ; 5 : HE ; 6 : réfrigérant ; 7 : réacteur ; 8 : Four).

I.5. Données bibliographiques sur le matériel végétal étudié : Lentisque pistachier

I.5.1. Description botanique

Le lentisque pistachier (Figure I.17) est en général un arbrisseau pouvant atteindre trois mètres, et parfois aussi un arbuste ne dépassant pas six mètres, à odeur résineuse forte. Le lentisque pistachier est particulièrement représentatif des milieux les plus chauds du climat méditerranéen que l'on retrouve en association avec l'oléastre (olivier sauvage).

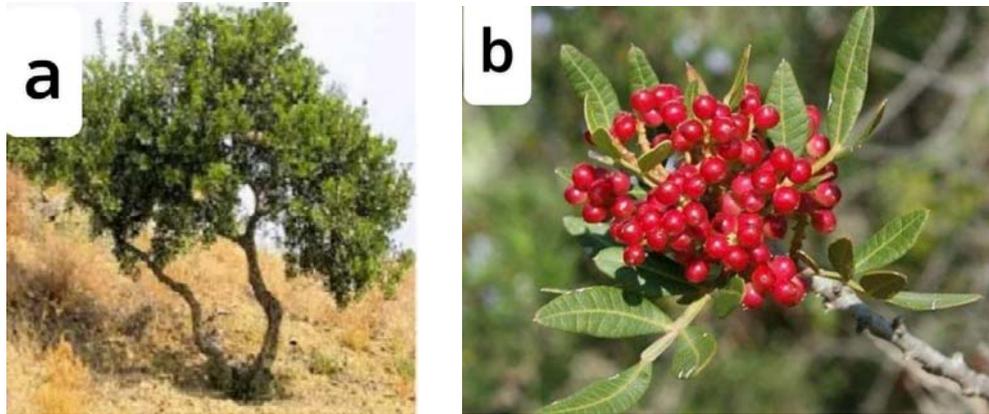


Figure I.17 : Lentisque pistachier (a : arbrisseau ; b : feuilles et fruits).

I.5.2. Noms vernaculaires

Les principaux noms vernaculaires du lentisque pistachier sont les suivants :

- **Nom latin (scientifique) :** *Pistacia lentiscus* L.
- **Nom français :** lentisque.
- **Nom anglais :** mastic tree.
- **Nom arabe :** dherou.
- **Nom kabyle :** imidek ou tidakth ou amadagh.

I.5.3. Classification botanique

La classification botanique du lentisque pistachier comme suit :

- **Règne :** *Plantae*.
- **Embranchement :** Angiospermes.
- **Classe :** Dicotylédone.
- **Groupement :** Oléolentisque.
- **Ordre :** Sapindales.
- **Famille :** Anacardiacees.
- **Genre :** *Pistacia*.
- **Espèce :** *Pistacia lentiscus* L.
- **Récolte :** Novembre à février.

I.5.4. Répartition géographique

Le lentisque pistachier pousse sur des sols légers et sablonneux proches des plages de méditerranée (Figure I.18). On le croise surtout en Sardaigne, en Provence, au Maroc, mais il peut s'aventurer jusqu'aux Canaries et arpenter les côtes d'Asie et d'Afrique [25].

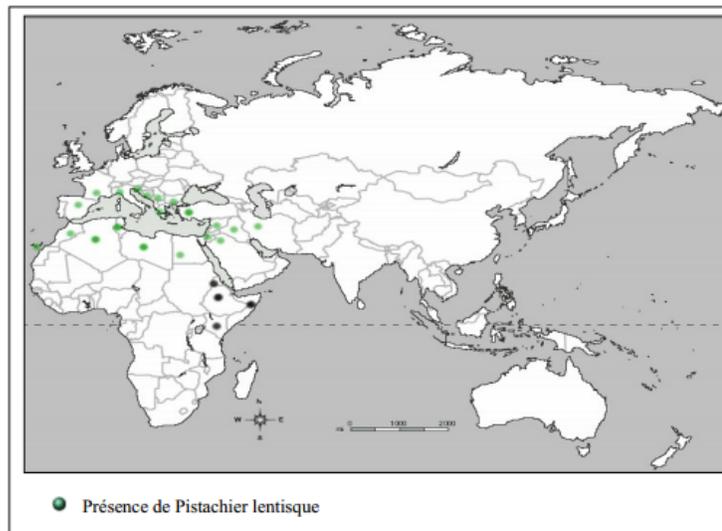


Figure I.18 : Distribution du lentisque pistachier dans le bassin méditerranéen.

I.5.5. Méthodes d'extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat

L'HE et l'HD du lentisque pistachier peuvent être obtenus par entraînement à la vapeur d'eau ou par hydrodistillation. Les parties du lentisque pistachier qui peuvent subir l'extraction en vue de l'obtention d'une HE et d'un HD sont : les rameaux feuillés, la partie aérienne (rameaux feuillés + fruits), les feuilles, les fruits ou les tiges.

Le rendement d'extraction de l'HE du lentisque pistachier est très faible. Il varie entre 0,02% et 0,16% [26] d'où le prix élevé de cet HE.

I.5.6. Propriétés physico-chimiques de l'HE et de l'HD

Les propriétés physico-chimiques des HE et des HD du lentisque pistachier varient considérablement selon la partie de la plante distillée, le climat, la méthode d'extraction... C'est pourquoi, aucune norme relative aux propriétés physico-chimiques de l'HE et/ou de l'HD du lentisque pistachier n'a été élaborée pour le moment. Les caractéristiques physico-chimiques énumérées ci-dessous ont été prises de travaux antérieurs.

I.5.6.1. Caractéristiques organoleptiques

Le Tableau I.3 regroupe les caractères organoleptiques de l'HE et de l'HD des rameaux feuillés du lentisque pistachier.

Tableau I.3 : Caractères organoleptiques de l'HE et de l'HD du lentisque pistachier.

Caractères organoleptiques	HE [1]	HD [18]
Aspect	Liquide fluide ou légèrement visqueuse	Liquide limpide
Couleur	Brun-verdâtre	Jaune pâle
Odeur	Balsamique caractéristique, pénétrante et rémanente	Terreuse, verte
Goût	/	Terreux, frais

I.5.6.2. Caractéristiques physiques

Le Tableau I.4 regroupe quelques caractéristiques physiques de l'HE et de l'HD trouvés dans la littérature.

Tableau I.4 : Propriétés physiques de l'HE et de l'HD du lentisque pistachier.

Propriétés physiques	HE (fruits) [27]	HD (rameaux) [18]
Indice de réfraction	3,65	/
Densité relative à 20°C	0,911	/
pH	/	5,5 – 7,5

I.5.6.3. Composition chimique

Le Tableau I.5 ci-dessous présente quelques molécules contenues dans l'HE du lentisque pistachier extraites de différentes parties de la plante.

Quant à l'HD du lentisque pistachier, d'après [18], ce dernier est principalement constitué de terpèn-4-ol, d' α -terpinéol, d'isobornéol et de camphre.

Tableau I.5 : Quelques molécules contenues dans l'HE de différente partie du lentisque pistachier.

Molécules	Parties de la plante			
	Rameaux feuillés [28]	Partie aérienne [29]	Feuilles [30]	Tiges [30]
α – pinene	42,13	5,1	0,5	19,4
Sabinene	6,46	3,5	1,8	23,2
Terpinen-4-ol	6,22	19,3	29,2	5,7
γ -Terpinene	6,21	5,9	/	1,8
Charyophelene	4,43	/	/	/
α -Terpinene	4,1	1,3	/	1,1
α -Terpineol	2,95	/	3,5	0,4
α -Terpinolene	2,18	/	/	/
α -Cadinol	1,98	/	3	0,6
Limonene	1,8	8,1	0,4	6,9
β -Pinene	1,76	0,9	1,1	2,8
β -Phellandrene	1,75	0,6	/	2,3
Epi-Cadinol	1,55	/	/	/
Z- β -Ocimene	1,5	/	/	/
β -Myrcene	1,36	2,3	/	/
Germacrene D	1,35	/	0,7	14,1
Camphen	1,17	1,1	/	0.3
2-Undecanone	1,05	/	2,8	/
Bornyl acetate	1,03	/	1,4	0,1

I.5.7. Activités biologiques de l'huile essentielle

L'HE du lentisque pistachier possèdent des diverses activités biologiques d'après la littérature dont quelques-unes sont récapitulées ci-dessous.

- Activité décongestionnante veineuse [31].
- Activités antivirale, antimutagène, antitumorale [32].
- Activités antibactérienne et antioxydante [32].
- Activité antifongique [33].
- Activité anti inflammatoire [34].

Concernant l'HD du lentisque pistachier, aucun travail relatif à l'activité biologique de n'a été trouvé.

I.5.8. Usages de l'huile essentielle et de l'hydrolat

I.5.8.1. Huile essentielle

L'HE du lentisque pistachier a une indication dans la prise en charge des différentes pathologies liées à des troubles de la circulation sanguine [2] L'HE est :

- décongestionnant veineux et lymphatique pour les varices et les jambes lourdes ;
- désinfiltrante : elle est indiquée dans tous les œdèmes ;
- phlébotonique : elle favorise la circulation dite « de retour » ;
- décongestionnant prostatique qui lutte contre les hémorroïdes ;
- antispasmodique.

I.5.8.2. Hydrolat

L'HD du lentisque pistachier a divers usages [18] :

- **En cosmétique** : il peut être utilisé comme lotion purifiante pour les peaux acnéiques.
- **En phytothérapie** :
 - c'est un décongestionnant lymphatique et circulatoire qui permettra de réduire les problèmes de rétention d'eau ou de troubles circulatoires (varices, hémorroïdes, ...)
 - il sert également en cas de sinusite, utilisé directement en spray dans les narines ;
 - il aurait une action décongestionnante sur la prostate, pour les hommes, et, pour les femmes, il permettrait de réguler les sécrétions vaginales ;

I.5.9. Conditionnement et conservation de l'huile essentielle et l'hydrolat

Il est impératif de conserver l'HE du lentisque pistachier dans un flacon au sec, à l'abri de la chaleur et de la lumière. Pour l'HD, selon Fernandez [18] il doit se conserver au frais (entre 4°C et 10°C) à l'abri de la chaleur et de la lumière pour une préservation optimale.

I.6. Notions sur les émulsions

I.6.1. Définition

Le terme émulsion désigne un système colloïdal comprenant au moins deux liquides non miscibles, habituellement l'eau et l'huile, dont l'un est dispersé en petites gouttes dans une phase continue constituée par l'autre liquide, sous une forme plus ou moins stable.

I.6.2. Composition

Les principaux composants des émulsions sont [35] :

- **la phase lipophile** : appelée également la phase huileuse ou phase organique. Elle comporte des huiles, des cires et des graisses d'origine végétale, animale ou minérale.
- **la phase hydrophile** : c'est la phase aqueuse. Elle contient l'eau ou l'HD et divers composants hydrosolubles. Les solutés de la phase aqueuse sont de nature diverse : ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines, ;
- **les émulsifiants** : les émulsions conventionnelles sont des systèmes thermodynamiquement instables qui se séparent, plus ou moins rapidement, en deux phases. En raison de cette instabilité les émulsions doivent ainsi comporter des émulsifiants, formant une membrane interfaciale, autour des globules de phase dispersée. Il s'agit le plus souvent de petites molécules amphiphiles appelées tensioactifs qui permettent aux émulsions industrielles d'avoir une stabilité dans le temps ;
- **les additifs** : Ils se distribuent entre phase aqueuse et phase grasse suivant leur solubilité. En fonction du type d'émulsion (alimentaire, cosmétique, pharmaceutique) des substances peuvent être ajoutées à l'une ou l'autre des phases pour conférer au produit diverses propriétés (augmentation de la durée de conservation, modification du goût, de la texture, de l'aspect, maintien de l'humidité, ...) ;
- **les principes actifs** : les produits pharmaceutiques et les produits cosmétiques de soin comportent au moins un principe actif dans l'une ou l'autre phase de l'émulsion qui assure l'efficacité du produit final. Ces principes actifs peuvent être des HEs et/ou des HDs.

I.6.3. Types d'émulsions

Il existe deux types d'émulsions : les émulsions simples et les émulsions multiples [36].

I.6.3.1. Emulsions simples

Les émulsions simples (Figure I.19) : sont constituées d'une phase dispersée dans une phase continue et sont de type « huile-dans-eau » (H/E) si la phase continue est constituée d'un liquide polaire associé (d'ordinaire, il s'agit d'eau ou d'une solution aqueuse). Dans le cas inverse, cette émulsion est appelée « eau-dans-huile » (E/H).

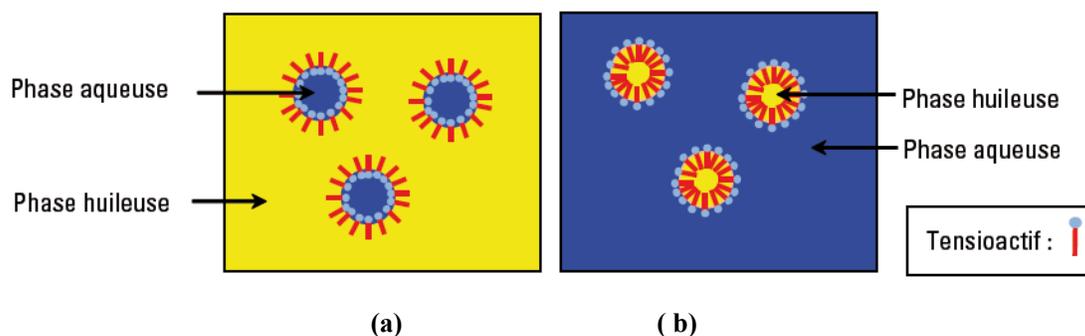


Figure I.19 : Emulsions simples (a : H/E ; b : E/H) [37].

I.6.3.2. Emulsions multiples

L'émulsion multiple (Figure I.20) consiste en une émulsion simple dispersée à son tour dans une phase continue externe. Elles sont alors du type E/H/E ou H/E/H.

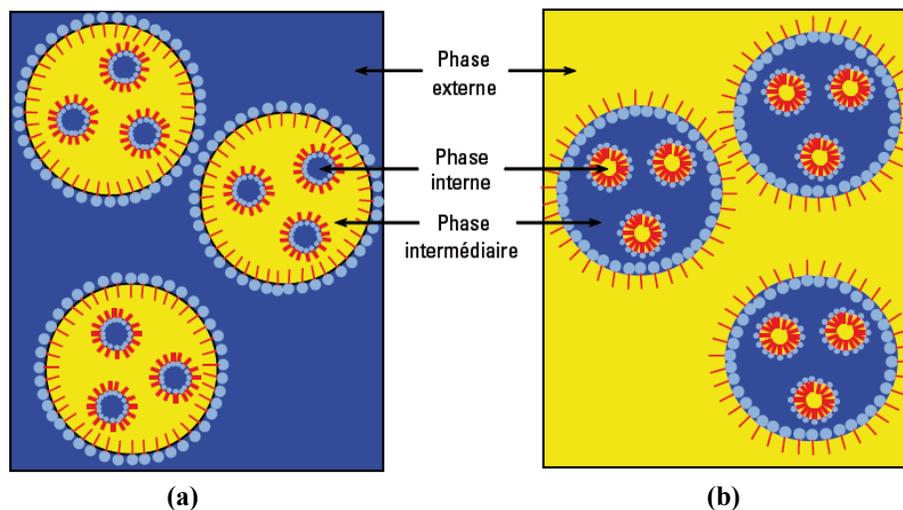


Figure I.20 : Emulsions multiples (a : H/E/H ; b : E/H/E).

I.6.4 Domaines d'utilisation :

Les émulsions sont largement utilisées dans divers domaines industriels et plus particulièrement dans les formulations pharmaceutiques et parapharmaceutiques à usage externe, choix de notre application dans le présent mémoire. Les HEs et les HDs peuvent être incorporés à ces émulsions en tant que principes actifs pour remédier ou soulager divers maux. Parmi eux le problème des jambes lourdes qui touche de plus en plus de personne et sur lequel nous nous sommes penchées dans ce mémoire étant donné l'activité décongestionnante veineuse de l'HE du lentisque pistachier. Les veines qui transportent le sang jusqu'au cœur et qui doivent lutter contre la gravité aux longues périodes en position assise ou couchée, l'âge, la chaleur vont créer des problèmes de circulation desquels résultent la sensation désagréable de jambes lourdes.

Les molécules actives de l'HE du Lentisque pistachier pourraient, une fois valorisée dans l'émulsion, pourraient donner le coup de pouce salutaire en stimulant la circulation

Chapitre II :

Matériel et méthodes

II.1. Objectif du mémoire

Le travail pratique du présent mémoire a pour objectifs :

- l'extraction, à l'échelle industrielle, et la caractérisation de l'HE et de l'HD du lentisque pistachier ;
- la comparaison des propriétés physico-chimiques de l'HE du lentisque pistachier extraite avec une HE datant de 2008 ;
- la valorisation des HEs et de l'HD du lentisque pistachier dans des émulsions et l'étude de la stabilité respectives des formulations au cours du temps ;
- l'évaluation de l'activité antimicrobienne des HEs et des formulations.

II.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé lors de l'extraction consiste en des rameaux feuillés du lentisque pistachier. Ces derniers ont été récoltés au mois de janvier 2020 de la commune de Bouderbala, wilaya de Bouira.

II.3. Essais effectués sur le matériel végétal avant extraction

II.3.1. Teneurs en humidité et en matière sèche

La teneur en humidité est le volume d'eau présent dans l'échantillon. Quant à la teneur en matières sèches, c'est le volume de solides résiduels obtenu après dessiccation. Les teneurs en humidité et en matière sèche sont exprimés en pourcentage massique. Ces calculs s'effectuent après chauffage du matériel végétal dans une étuve à 103°C jusqu'au poids constant. L'essai, dans ce mémoire, a été établi au sein d'un laboratoire pédagogique appartenant au Département de Chimie (Faculté des Sciences UMBB).

Mode opératoire (Figure II.1) :

- A l'aide d'une balance peser une masse du matériel végétal dans un creuset sec.
- Placer le creuset dans l'étuve à 103°C pendant 2h.
- Retirer le creuset et le laisser refroidir dans un dessiccateur.
- Peser le creuset après refroidissement.

L'expérience a été effectuée sur 3 échantillons en parallèle.



Figure II.1 : Protocole de mesure de la teneur en humidité.

La teneur en humidité (H) est calculée par la formule suivante :

$$H = \frac{mR - mS}{mR - mV} \times 100$$

Tel que :

mV est la masse du creuset vide en g ;

mR est la masse du creuset et de la prise d'essai avant chauffage en g ;

mS est la masse du creuset et du résidu après refroidissement en g.

La teneur en matière sèche de l'échantillon se déduit de la valeur de H par la formule :

$$\% \text{ Matière sèche} = 100 - H = \frac{mS - mV}{mR - mV} \times 100$$

II.4. Extraction de l'huile essentielle et de l'hydrolat du lentisque pistachier

L'HE et l'HD des rameaux feuillés du lentisque pistachier ont été obtenus, au mois de février 2020, par entraînement à la vapeur sous pression, à l'échelle industrielle, au niveau de la distillerie « ZIPHEE bio » qui se trouve à Bouderbala, wilaya de Bouira.

II.4.1. Protocole d'extraction

Tout d'abord, la chaudière est allumée et réglée à température de 100-110°C. Ensuite, trois tonnes des rameaux feuillés du lentisque pistachier sèches sont déposées sur une grille, qui se trouve dans l'alambic, où de la vapeur d'eau est envoyée. Cette dernière traverse la matière végétale. Ainsi, les composés volatils contenant dans les rameaux feuillés se mélangent à la vapeur d'eau. La vapeur d'eau chargée de composés volatils quitte l'alambic en passant dans un col de cygne, puis dans un serpent à l'intérieur du réfrigérant rempli d'eau froide qui circule en continu grâce à un système de circuit fermé. Au contact du refroidissement, cette vapeur se condense et devient liquide. Ce dernier est récupéré dans l'essencier après trois heures d'extraction. L'HE est collecté en premier en ouvrant le robinet de l'essencier. Quant à la deuxième séparation de l'HE de l'hydrolat, elle se fait par un système de décantation. L'HE et l'HD sont pesés pour le calcul du rendement puis conservés : l'HE est mise dans des flacons en verre ombré et hermétiquement clos et l'HD est versée dans des citernes en plastique, les deux à l'abri de la lumière et à température ambiante. À la fin du procédé, lorsque la plante est épuisée, la distillation est terminée. Dans ce cas, le fond de l'alambic est ouvert et le déchet est retiré.

L'HE et l'HD des rameaux feuillés du lentisque pistachier de l'année 2020 (i.e. HE 2020 et HD 2020) sont ainsi obtenus.

Afin d'effectuer l'étude comparative des HE, nous avons également acheté une HE de rameaux feuillés du lentisque pistachier, datant de 2008 (i.e. HE 2008), dont le matériel végétal a été récolté pendant la même période de l'année (i.e. janvier 2008) et extrait avec la même méthode

d'extraction au sein de la même distillerie (Figure II.2). Le rendement obtenu pour cette extraction nous a été donné par la distillerie (rendement : 0,06%).



Figure II.2 : HE 2008.

II.4.2. Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme AFNOR 2000 [37], le rendement en HE (R_{HE}), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'HE obtenue après extraction (M_{HE}) et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R_{HE} (\%) = (M_{HE}/M) * 100$$

II.5. Caractérisation des huiles essentielles et de l'hydrolat

II.5.1. Caractéristiques organoleptiques

Chaque HE et HD se caractérise par ses propriétés organoleptiques (apparence, couleur et odeur). L'analyse organoleptique consiste à évaluer les propriétés des HEs (i.e. HE 2008 et HE 2020) et de l'HD (i.e. HD 2020) d'une façon extrêmement objective par les organes des sens.

II.5.2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des HEs et HD du lentisque pistachier a été déterminés au niveau d'un laboratoire pédagogique appartenant au Département de Chimie (Faculté des Sciences UMBB).

II.5.2.1. Potentiel d'hydrogène (pH)

Le potentiel d'hydrogène est une mesure de l'acidité des ions H^+ . Il représente chimiquement, l'acidité ou l'alcalinité d'une solution ou d'un liquide. L'échelle de pH s'étend de 0 (milieu très acide) à 14 (milieu très basique), en passant par 7 (milieu neutre). La détermination du pH a été réalisée à l'aide du papier pH.

II.5.2.2. Densité relative (NF ISO 279)

La densité relative est le rapport entre la masse d'un certain volume d'échantillon et la masse du même volume d'eau pris comme référence à une température donnée [38].

Mode opératoire (Figure II.3) :

- Peser une éprouvette graduée vide bien nettoyée et séchée à l'aide d'une balance (a).
- Remplir l'éprouvette graduée avec 1ml d'eau distillée puis la peser (b).
- Vider, nettoyer et bien sécher l'éprouvette graduée.
- Remplir l'éprouvette graduée avec 1ml d'HE 2008, d'HE 2020 et d'HD 2020, respectivement (c), puis la peser.

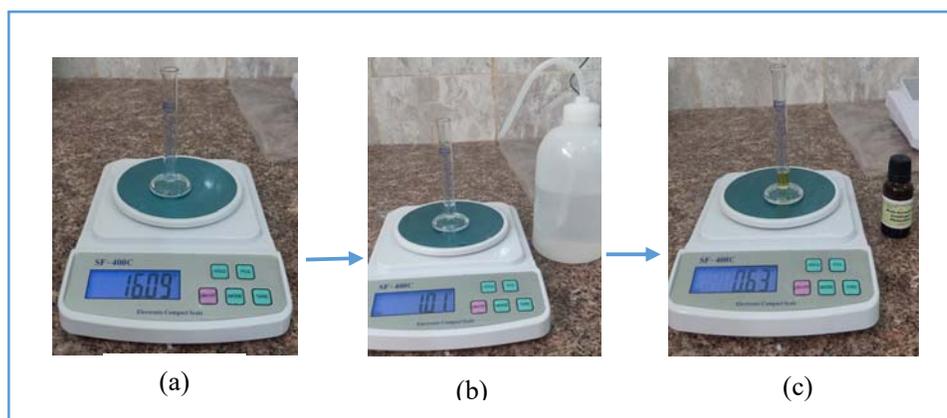


Figure II.3 : Etapes de mesure de la densité relative.

La densité relative (d) est donnée par la relation suivante :

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Où :

m_0 est la masse de l'éprouvette graduée vide ;

m_1 est la masse de l'éprouvette graduée contenant l'eau distillée ;

m_2 est la masse de l'éprouvette graduée contenant l'HE ou HD.

II.5.2.3. Miscibilité à l'éthanol (ISO 875)

La miscibilité à l'éthanol d'une HE correspond au volume d'alcool ajouté à un millilitre de celle-ci pour former une solution limpide [39].

Mode opératoire :

- Introduire 1 ml d'HE à l'aide d'une pipette dans un tube à essai.
- Ajouter un volume V d'éthanol à 96% par fraction d'1ml.
- Agiter le mélange après chaque ajout.
- Une fois la solution devient limpide, noter le volume d'éthanol additionné.

II.5.2.4. Indice de réfraction à 20°C (NF ISO 280)

L'indice de réfraction est une caractéristique optique d'une substance et une image des particules dissoutes pour déterminer la concentration d'une substance dans un liquide [40]. Le réfractomètre utilisé, pour l'analyse des HEs et de l'HD, dans ce mémoire est un Hanna HI 96801 (Figure II.4). Cet appareil affiche l'indice de réfraction sur l'écran du réfractomètre en % Brix et varie en fonction de la température.

Mode opératoire :

- Allumer le réfractomètre HANNA HI 96801 en appuyant sur le bouton d'allumage.
- Verser une goutte d'eau distillée sur la cellule de mesure.
- Appuyer sur la touche ZÉRO pour étalonner l'appareil.
- Nettoyer la cellule à l'aide d'un papier absorbant
- Déposer quelques gouttes d'HEs ou d'HD sur la cellule de mesure.
- Appuyer sur la touche READ puis noter la valeur affichée.
- Rincer la cellule de mesure avec de l'eau distillée.



Figure II.4 : Mesure de l'indice de réfraction de l'HD et des HEs, respectivement.

II.5.2.5. Indice d'acide (Ia) (ISO 1242)

L'indice d'acide d'une HE est la quantité de potasse en mg nécessaire pour neutraliser son acidité libre. La teneur en acides libres d'une HE augmente avec le temps [41]. L'indice d'acide permet donc de juger de son état de détérioration.

Mode opératoire :

- Dans un bécher, introduire 2g d'HE.
- Ajouter 5ml d'éthanol à 96% et 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine dans le bécher.
- Procéder au titrage du liquide avec une burette remplie de solution de KOH (0,1 M) en agitant constamment jusqu'au virage de l'indicateur coloré à la couleur rose persistante (Figure II.5).

L'indice d'acide (I_a) est donné par l'équation suivante :

$$I_a = 5,61 \times \frac{m}{V}$$

Où :

V est le volume en millilitres de solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour le titrage ;

m est la masse en grammes de la prise d'essai (exprimer le résultat à une décimale près) ;

5,61 correspond à 0,1 mol/l de KOH ajoutée.



Figure II.5 : Apparition de la couleur rose persistante.

II.6. Valorisation des huiles essentielles et de l'hydrolat et étude de stabilité

II.6.1. Formulation de crèmes décongestionnantes

Les émulsions préparées dans ce mémoire et dans lesquelles les HEs et l'HD du lentisque pistachier vont être valorisés sont des crèmes décongestionnantes pour massage. Ces crèmes, grâce aux actifs contenus dans les HEs et l'HD, serviront à stimuler la circulation du sang sur la paroi des vaisseaux, participant ainsi à un meilleur retour veineux.

Les émulsions (ou formulations), étudiées dans ce mémoire, ont été formulées au sein du laboratoire parapharmaceutique "Laboratoire SPIC" qui se trouve à El Mohammadia, wilaya d'Alger. Nous avons élaboré quatre (04) formulations : une crème témoin dépourvue d'HE et d'HD (F1), une crème contenant l'HD (F2), une crème contenant l'HE 2020 (F3) et une crème contenant l'HE 2008 (F4). Les quatre émulsions sont de type huile-dans-eau (H/E).

II.6.1.1. Composition

Les compositions respectives des diverses émulsions formulées (formulations : F1, F2, F3 et F4) sont regroupées dans le Tableau II.1.

Tableau II.1 : Composition des émulsions formulées.

Constituants		F1	F2	F3	F4	Pourcentages (%)
Phase aqueuse	HD	-	+	-	-	78
	Eau déminéralisée	+	-	+	+	
	Sorbitol	+	+	+	+	
	Propylène glycol	+	+	+	+	
Phase huileuse	Acide stéarique	+	+	+	+	19,5
	Alcool cétylique	+	+	+	+	
	Emulgin B1	+	+	+	+	
	Cutina AGC	+	+	+	+	
	Conservateur	+	+	+	+	
Principes actifs	HE 2008	-	-	-	+	2,5
	HE 2020	-	-	+	-	

(+) : présence ; (-) : absence ; F1 : témoin ; F2 : crème à base d'HD ; F3 : crème à base d'HE 2020 ; F4 : crème à base d'HE 2008.

II.6.1.2. Protocole de préparation

Les quatre émulsions (F1, F2, F3 et F4) (Figure II.6) ont été formulées en trois étapes :

1. Préparation des deux phases (huileuse et aqueuse)

- Peser et mesurer les ingrédients de la phase huileuse : acide stéarique, alcool cétylique, Emulgin B1 et Cutina AGC.
- Mettre les ingrédients dans un récipient et chauffer doucement jusqu'à 75°C.
- Peser et mesurer les ingrédients de la phase aqueuse : HD du lentisque pistachier ou eau déminéralisée
- Mettre les ingrédients dans un autre récipient et chauffer doucement jusqu'à 75°C.
- Retirer les deux phases de la plaque chauffante.

2. Mélange des deux phases

- Verser progressivement la phase aqueuse dans la phase huileuse.
- Mélanger avec un fouet.
- Laisser refroidir dans un bain de glace.

3. Ajout des HEs et des conservateurs

- Ajouter l'HE du lentisque pistachier dans les formulations correspondantes et le conservateur lorsque le mélange passe en dessous des 40°C,
- Transférer les produits finis (formulations F1, F2, F3 et F4) dans des emballages appropriés.



Figure II.6 : Crèmes F1, F2, F3 et F4, respectivement.

II.6.1.3. Conservation

Chacune des quatre crèmes formulées (F1, F2, F3 et F4) a été versée dans deux récipients distincts : l'un d'eux a été conservé à température ambiante alors que l'autre a été mis au réfrigérateur.

II.6.2. Etude de stabilité

L'objectif des études de stabilité est de découvrir comment un produit ou une substance active se modifie dans des conditions données (température, humidité de l'air, lumière) pendant une période déterminée. Les résultats détermineront entre autres la durée de vie et les conditions de stockage recommandées d'une substance donnée. L'étude de stabilité peut s'opérer par le suivi des caractéristiques organoleptiques et des propriétés physicochimiques.

Les quatre formulations élaborées (conservées à température ambiante et mises au réfrigérateur) ont été suivies durant 28 jours depuis le jour de leurs préparations en analysant leurs propriétés organoleptiques et physicochimiques par les paramètres énumérés ci-dessous.

II.6.2.1. Propriétés organoleptiques

Les propriétés organoleptiques regroupent tout ce qui est perceptible par les sens : aspect, couleur, odeur et toucher. L'examen macroscopique concerne également la recherche d'une opacité ou d'une texture particulière.

II.6.2.2. Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH des émulsions a été mesuré à l'aide du papier pH.

II.6.2.3. Centrifugation

Les essais de centrifugation des quatre crèmes formulées, au cours du temps, se sont opérés au niveau du laboratoire microbiologique qui se trouve au niveau de l'Etablissement Public Hospitalier de Thénia (Wilaya de Boumerdès) à l'aide d'une centrifugeuse de la marque HERMLE (Figure II.7). Cette dernière permet de séparer des éléments cellulaires, solides ou semi-solides, d'éléments liquides. C'est aussi un moyen d'observer la résistance des émulsions à la centrifugation et d'évaluer ainsi leurs stabilités.



Figure II.7 : Centrifugeuse de la marque HERMLE.

Mode opératoire

- Prendre quatre tubes secs et propres adaptés à la centrifugeuse.
- Remplir la moitié de chacun de ces tubes par une des quatre formulations.
- Allumer la centrifugeuse et la régler à 5000 tour/min pendant 10min.
- Introduire les tubes remplis dans la centrifugeuse.
- Appuyer sur le bouton « Start ».
- Enlever les tubes lorsque la centrifugeuse d'arrête.
- Noter les observations constatées.

II.6.2.4. Sens de l'émulsion

Le sens de l'émulsion pour les quatre formulations préparées a été déterminé par le test au colorant. Cette méthode repose sur le fait qu'une goutte de colorant hydrophile ou lipophile mélangée à une goutte d'émulsion se dissout ou non dans sa phase externe de façon homogène ou non. Le colorant utilisé dans ce travail est le bleu de méthylène qui est un colorant hydrophile.

II.6.2.5. Test d'irritation

Le test d'irritation, de chacune des quatre formulations, a été effectué sur les avant-bras de dix (10) volontaires dont les âges sont compris entre 18 et 70 ans.

Mode opératoire

- Rincer et bien essuyer l'intérieur de l'avant-bras du volontaire.
- Marquer une zone pour chaque formulation sur la surface intérieure de l'avant-bras.
- Appliquer une noisette de chacune des crèmes sur sa zone spécifiée à l'aide d'une spatule en mouvement circulaire en massant doucement jusqu'à pénétration.
- Attendre 24h.
- Examiner la peau et noter toutes imperfections ou signes d'irritation.

II.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, de l'hydrolat et des formulations

Cette partie consiste à évaluer l'activité antimicrobienne des HE 2020 et HE 2008, et de l'HD sur quatre souches de bactérie, d'une part, et celle des quatre crèmes préparées sur trois souches bactériennes, d'autre part. L'évaluation de l'activité antibactériennes des formulations F1, F2, F3 et F4 ont été effectuée chaque semaine pendant 28 jours.

Cette partie du travail a été effectuée au sein du laboratoire central de biologie clinique (unités de microbiologie et de bactériologie) de l'Etablissement Public Hospitalier de Bologhine IBN ZIRI (Wilaya d'Alger).

II.7.1. Antibioaromatogramme

La méthode utilisée pour étudier l'interaction entre les HEs et l'HD, et les espèces microbiennes, et l'interaction entre les formulations et les espèces microbiennes sont basées sur la diffusion de des HEs et des émulsions dans des milieux de culture, respectivement, pour inhiber la croissance de souches pathogènes.

II.7.2. Matières biologiques

Les souches utilisées dans ce travail proviennent de la collection ATCC (American type culture collection). Il s'agit de 3 bactéries et une levure, et dont la sensibilité aux antibiotiques est déterminée par le test d'antibiogramme, qui est décrits dans le Tableau II.2 ci-dessous.

Tableau II.2 : Nature et origine des différentes souches pathogènes utilisées.

Souches	Référence	Gram	Nature
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Négatif	Bactérie
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Positif	Bactérie
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négatif	Bactérie
<i>Conidialbicans</i>	ATCC10231		Levure

II.7.3. Mode opératoire

Pour effectuer le test de l'aromatogramme pour les HEs et les formulations, nous avons réalisé les étapes suivantes :

1. Milieux de culture

- Couler la gélose Muller Hinton (MH) dans des boites de pétri sur une épaisseur de 4 mm pour les bactéries et la gélose de Sabouraud (SAB) pour la levure.
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

2. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur un milieu d'isolement appropriée, racler à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger la pipette dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% Na Cl.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

3. Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boite de 60 degrés à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boites de Petri, Il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

4. Application des disques

- Préparer les disques :
 - ✓ Des disques stériles de 6mm de diamètre ont été imprégnés d'HEs du lentisque pistachier (HE 2020 et HE 2008) et d'HD, respectivement.
 - ✓ Des disques stériles de 6mm de diamètre ont été imprégnés, respectivement, des différentes formulations.
- Mettre les disques d'antibiotiques de même diamètre (i.e. 6mm) qui vont servir de référence.
- Presser chaque disque à l'aide d'une pince bactériologique stérile et ne pas déplacer les disques après application.

5. Incubation

- La durée d'incubation recommandée pour les bactéries est de 24 h à 37°C et pour la levure elle est 72 h à 25°C.

6. Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes et classer la bactérie ou la levure dans l'une des catégories : résistante (R), sensible (S), très sensible (TS) ou extrêmement sensible (ES) (Tableau II.3).

Tableau II.3 : Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés [42].

Diamètres de la zone d'inhibition (mm)	Transcription	Sensibilité du germe
< 8	-	Résistant
9 – 14	+	Sensible
15 – 19	++	Très sensible
> 20	+++	Extrêmement sensible

Chapitre III :

Résultats et discussions

III.1. Essais effectués sur le matériel végétal

III.1.1. Teneur en humidité et en matière sèche

Le Tableau III.1 ci-dessous montre la teneur en en humidité et en matière sèche du lentisque pistachier cueilli en janvier 2020.

Tableau III.1: Teneur en humidité, en matière sèche des rameaux feuillés du lentisque pistachier récoltés et rendement d'extraction de l'HE 2020.

Teneur en humidité	Teneur en matière sèche	Rendement
7,98%	92,02%	0,033%

Les PAM destinées à l'extraction des HEs ne doivent pas contenir une quantité d'humidité supérieure à la valeur standard de 17% [43]. Les résultats d'analyses montrent que la teneur en humidité et matière sèche des rameaux feuillés du lentisque pistachier sont de 7,98% et de 90,02%, respectivement. Le taux d'humidité dans le matériel végétal étudié est compris dans l'intervalle standard.

III.1.2. Rendement d'extraction

Le rendement en HE 2020 est très faible. Il est de l'ordre de 0,033 % (Tableau III.1). Cependant, le rendement d'HE 2008 est de 0,06% qui supérieur à celui de HE 2020. Cette différence pourrait être due aux conditions climatiques.

Les résultats des rendements d'extraction obtenus corroborent avec ceux trouvés par Taleb-Toudert Karima [44] (0,02%) et par Bares [45] (0,082 %) qui ont obtenus des HEs par hydrodistillation des feuilles du lentisque pistachier.

III.2. Caractéristiques organoleptiques et propriétés physico-chimiques des HEs et de l'HD du lentisque pistachier

Les caractéristiques organoleptiques et les propriétés physicochimiques de HE 2008, HE 2020 et de HD 2020 du lentisque pistachier sont regroupées dans le Tableau III.2 suivant :

Tableau III.2 : Caractéristiques organoleptiques et propriétés physicochimiques des HEs et de l'HD du lentisque pistachier.

Propriétés organoleptiques et physicochimiques	HE 2008	HE 2020	HD 2020
Aspect	Liquide mobile 	Liquide mobile et limpide 	Liquide mobile et limpide 
Couleur	Jaune moutarde	Jaune pâle	Transparent
Odeur	Aromatique, puissante et herbacée	Aromatique, très puissante et herbacée	Terreuse, verte
pH	4	5	5
Densité relative à 20 °C	0,63	0,90	0,98
Miscibilité a l'éthanol à 96%	Non-miscible	Non-miscible	/
Indice de réfraction	1,4881	1,4778	1,333
Indice d'acide (mg de KOH/g d'HE)	5,020	3,055	/

III.2.1 Caractères organoleptiques

Les HEs 2008 et 2020 étudiées sont des liquides jaune moutarde et jaunes pâles, respectivement. Alors que l'HD 2020 est transparent. HE 2020 et HD 2020 sont limpides contrairement à HE 2008. HE 2008 et HE 2020 dégagent des odeurs aromatiques et herbacées tel que l'odeur de

HE 2020 est plus puissante que celle de HE 2008. L'HD 2020, quant à elle dégage une odeur terreuse verte.

Selon Beghlal et al [30], l'HE de la variété algérienne du lentisque pistachier est liquide et est caractérisée par un aspect limpide, une couleur jaunâtre foncée et une forte odeur aromatique. Ce qui est en accord avec les observations obtenues pour HE 2008 et HE 2020 étudiées sauf pour la couleur d'HE 2020 qui est dans notre cas jaune pâle.

Selon Xavier Fernandez [18], l'HD du lentisque pistachier est de couleur jaune pâle et dégage une odeur terreuse verte ce qui est en accord avec l'HD 2020 sauf pour la couleur qui est transparente dans notre cas.

III.2.2. Propriétés physico-chimiques

III.2.2.1. Potentiel d'hydrogène (pH)

Les pH approximatifs de HE 2008, HE 2020 et HD 2020 sont 4, 5 et 5, respectivement (Tableau III.2). Les échantillons étudiés sont donc acides ($\text{pH} < 7$). Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et peut influencer les propriétés stabilisatrices d'une HE (effets antioxydant et effet antimicrobien) [46].

III.2.2.2. Densité relative 20°C

La détermination de la densité d'une HE nous renseigne sur sa pureté. Elle dépend de la composition chimique des HEs. En effet, plus la densité est faible plus l'HE est riche en monoterpènes [47].

Le Tableau III.2 montre que la densité relative de l'HE 2020 est égale à 0,90. Celle-ci est supérieure de celle de l'HE 2008 qui est de 0,63. Ceci suppose que l'HE 2008 est plus riche en monoterpènes que l'HE 2020.

La densité relative de l'HE 2020 est similaire à celle de l'HE des fruits du lentisque pistachier étudiée par Amara et al (0,911) [27].

La densité relative de l'HD 2020 est de 0,98. Cette valeur est proche de celle de l'eau qui égale à 1. Ce résultat s'explique par la richesse de l'HD en eau. Aucun résultat dans la littérature, concernant la densité relative de l'HD du lentisque pistachier, n'a été trouvé. C'est pourquoi, il n'a pas été possible de faire une comparaison avec le résultat obtenu.

III.2.2.3. Miscibilité à l'éthanol

Le Tableau III.2 indique que l'HE 2008 et l'HE 2020 sont non-miscibles à l'éthanol pour un volume de chaque HE et de 10 volumes d'éthanol, respectivement.

III.2.2.4. Indice de réfraction

L'indice de réfraction varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes. En effet, une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé [48].

Les indices de réfraction de l'HE 2008 et l'HE 2020 sont, respectivement, 1,4881 et 1,4778 (Tableau III.2). Ceci suppose que l'HE 2008 est plus riche en monoterpènes que l'HE 2020.

Ces résultats sont très proches de l'indice de réfraction trouvé par Beghlal et al [30] pour l'HE des feuilles du lentisque pistachier (1,43).

L'indice de réfraction de l'HD 2020 est de 1,333 (Tableau III.2). Aucun résultat concernant l'indice de réfraction des HDs du lentisque pistachier n'a été trouvé dans la littérature.

III.2.2.5. Indice d'acide

L'indice d'acide indique la susceptibilité de l'huile à subir des alternations, notamment l'oxydation, et il caractérise la pureté et la stabilité de ces huiles [49]. De plus, plus la valeur d'indice d'acide est grande, plus la teneur en acides libres est importante [48].

Dans notre étude l'indice d'acide de l'HE 2020 (3,055 mg de KOH/g d'HE) est inférieur à celui de l'HE 2008 (5,020 mg de KOH/g d'HE) (Tableau III.2). Ceci signifie que l'HE 2008 contient une plus forte quantité d'acide libres que l'HE 2020.

Les indices d'acide des HEs de feuille du lentisque pistachier trouvé par Beghlal et al [29] (2,25 mg de KOH/g d'HE) et des fruits du lentisque pistachier mesuré par Amara et al [27] (1,70 mg de KOH/g d'HE) sont inférieurs à ceux de nos HEs (HE 2008 et HE 2020).

L'indice d'acide de l'HE 2008 est supérieur à celui de l'HE 2020. L'indice d'acide de l'HE 2020 est inférieure et l'HE 2008 est supérieur au maximum admis par le CODEX STAN [50] respectivement, qui préconise des valeurs inférieures à 4 mg de KOH/g d'huile pour les huiles végétales. Ces résultats montrent une bonne conservation de l'HE 2020 est un début d'altération de l'HE 2008.

III.3. Activité antimicrobienne des huiles essentielles et de l'hydrolat

Les résultats de l'antibioaromagramme testés sur les souches d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* sont illustrés dans la Figure III.1 et récapitulés dans le Tableau III.3.

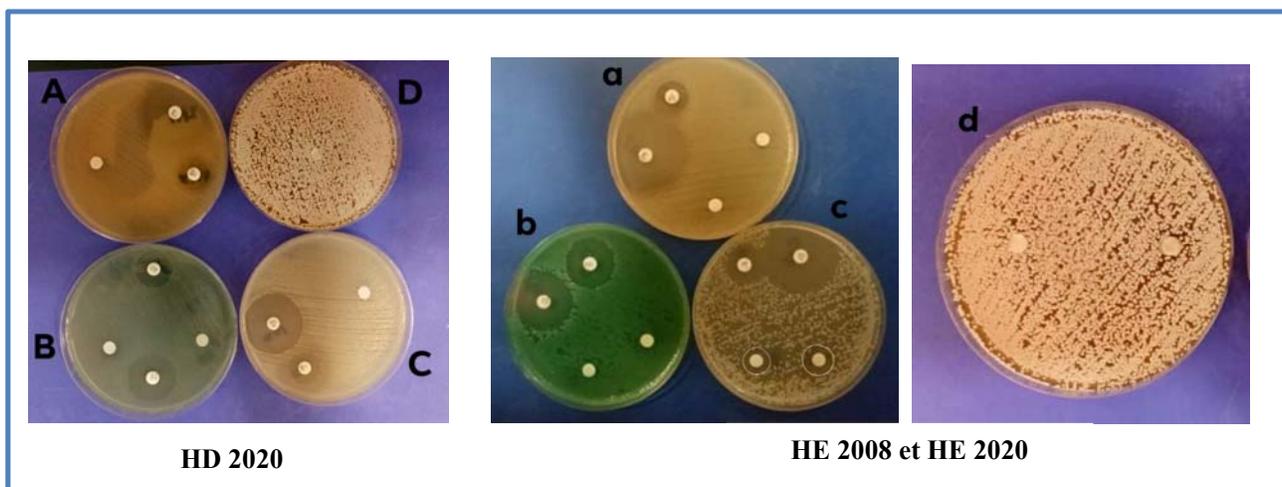


Figure III.1: Effets de HE 2008, HE 2020 et de l'HD 2020 sur les quatre souches (A,a : *Escherichia coli* ; B,b : *Pseudomonas aeruginosa* ; C,c : *Staphylococcus aureus* ; D,d : *Candida albicans*).

Tableau III.3 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) cultivées en présence de HE 2008, HE 2020 et HD 2020, respectivement.

HEs et HD du lentisque pistachier, et ATBs		Souches bactériennes (mm)			
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
HE 2008		6	13	6	0
HE 2020		6	13,33	6	0
HD 2020		6	6	6	0
Antibiotiques	IPM ₅	32	/	/	
	AMX ₂₅	16	/	/	
	OX ₅	/	17,3	/	
	GEN ₁₀	/	33,3	/	
	TCC ₇₅₋₁₀	/	/	25	
	CL ₁₀	/	/	22,3	

IPM₅ : Imipenème ; AMX₂₅ : Amoxicilline ; OX₅ : Oxacilline ; GEN₁₀ : Gentamicine ; TCC₇₅₋₁₀ : Ticarcilline + acide clavulanique ; CL₁₀ : Colistine.

Les souches à Gram (-) (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) et *Candida albicans* se sont caractérisées par une résistance selon le Tableau II.4 car les diamètres d'inhibition (D) pour HE 2008 et HE 2020 sont inférieurs à 8 mm. Par contre, la souche à Gram (+) (*Staphylococcus aureus*), selon le Tableau II.4 est sensible (D= 13 mm). Nous pouvons déduire que les souches à Gram (-) sont moins sensibles aux HEs du lentisque pistachier étudiées.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Benhammou *et* Atik Bekkara [51] qui ont noté que les bactéries Gram (+) sont plus sensibles à l'HE des feuilles du lentisque pistachier que les bactéries Gram (-). Bares et Belabiod [45] montrent aussi que l'HE des feuilles du lentisque pistachier a une activité bactériostatique, dont les zones d'inhibition sont de 0 mm, 8 mm et 11 mm pour *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, respectivement. Selon Magiatis *et al* [5], l'activité antibactérienne de l'HE du lentisque pistachier peut être attribuée aux composés majoritaires comme l' α -pinène.

Le Tableau III.3 montre que les diamètres d'inhibition pour l'HD 2020 à 6 mm pour *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, alors que le diamètre est nul (D= 0mm) pour *Candida albicans*. Donc, les quatre souches étudiées sont caractérisées par une résistance selon le Tableau II.4, vis-à-vis de l'HD 2020. Aucun travail antérieur concernant l'activité antimicrobienne de l'HD du lentisque pistachier, permettant de faire la comparaison avec nos résultats, n'a été trouvé.

D'après les résultats obtenus les HEs et l'HD du lentisque pistachier ont le même effet antimicrobien contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*.

Comparativement, l'HE 2020 a un effet un peu plus sensible que celle d'HE 2008 contre *Staphylococcus aureus*.

D'autre part, d'après le Tableau III.3, les antibiotiques utilisés comme référence sont actifs sur leurs souches respectives et ont des diamètres supérieurs à ceux des HEs et de l'HD des rameaux feuillés du lentisque pistachier étudiés.

En conclusion, les effets antibactériens les plus importants ont été enregistrés pour les huiles HE 2008 et HE 2020 sur *Staphylococcus aureus*.

III.4. Etude de stabilité des crèmes décongestionnantes formulées

Les résultats regroupés dans cette partie du travail ont été obtenus suite à un suivi des quatre formulations (F1, F2, F3 et F4) pendant 28 jours.

III.4.1. Caractères organoleptiques et observations macroscopiques

Les propriétés organoleptiques et les observations macroscopiques, au cours du temps, des quatre formulations élaborées, conservées à température ambiante et dans le réfrigérateur, sont récapitulées dans le Tableau III.4 ci-après.

Tableau III.4 : Caractéristiques organoleptiques et observations macroscopiques des 04 formulations au cours du temps.

Caractère		Apparence		Couleur		Odeur		Homogénéité		Texture		Touché		Sensation		Elimination par lavage		pH		Centrifugation	
		T° amb	T° réf	T° amb	T° réf	T° amb	T° réf	T° amb	T° réf	T° amb	T° réf	T° amb	T° réf	T° amb	T° réf	T° amb	T° réf	T° amb	T° réf	T° amb	T° réf
Fraiche	F1	SS		B		I		HM		O		D		NC		F		6			
	F2	SS		B		T		HM		O		D		NC		F		5			
	F3	SS		B		H		HM		O		D		NC		F		6			
	F4	SS		JP		H		HM		O		D		NC		F		5,5			
24h	F1	SS	SS	B	B	I	I	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	5	5	-	-
	F2	SS	SS	B	B	T	T	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	5	-	-
	F3	SS	SS	B	B	H	H	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	5	-	-
	F4	SS	SS	JP	JP	H	H	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	5	5	-	-
7 jours	F1	SS	SS	B	B	I	I	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	5,5	5	-	-
	F2	SS	SS	B	B	T	T	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	5	-	-
	F3	SS	SS	B	B	H	H	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	6	-	-
	F4	SS	SS	JP	JP	H	H	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	5,5	6	-	-
14 jours	F1	SS	SS	B	B	I	I	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	5	-	-
	F2	SS	SS	B	B	T	T	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	5	-	-
	F3	SS	SS	B	B	H	H	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	5,5	5,5	-	-
	F4	SS	SS	JP	JP	H	H	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	5	-	-

Chapitre III : Résultats et discussions

21 jours	F1	SS	SS	B	B	I	I	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	6	-	-
	F2	SS	SS	B	B	T	T	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	5,5	6	-	-
	F3	SS	SS	B	B	H	H	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	6	-	-
	F4	SS	SS	JP	JP	H	H	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	6	-	-
28 jours	F1	SS	SS	B	B	I	I	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	5	5	-	-
	F2	SS	SS	B	B	T	T	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	5	5	-	-
	F3	SS	SS	B	B	H	H	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	5,5	-	-
	F4	SS	SS	JP	JP	H	H	HM	HM	O	O	D	D	NC	NC	F	F	6	5,5	-	-

F1 : témoin ; **F2** : crème à base de l'HD ; **F3** : crème à base de HE 2020 ; **F4** : crème à base de HE 2008 ; **SS** : semi-solide ; **B** : blanche ; **JP** : jaune pâle ; **I** : inodore ; **T** : terreuse ; **H** : herbacée ; **HM** : homogène ; **O** : onctueuse ; **D** : doux ; **NC** : non-collante ; **F** : facile ; - : pas de déphasage ; **T° amb** : température ambiante ; **T° réf** : température du réfrigérateur.

Les résultats du Tableau III.4 ont montré que toutes les crèmes fraîchement formulées F1, F2, F3 et F4 étaient homogènes avec des apparences semi-solides et des textures onctueuses. Les quatre formulations avec des touchés doux et non collants lors de leurs applications sur la peau. Aussi, les crèmes étaient faciles à éliminer par lavage à l'eau. Les paramètres précédemment cités n'ont subi aucun changement au cours du temps (28 jours) et aux deux températures de conservation.

Les émulsions fraîchement préparées F1, F2 et F3 sont caractérisées par une couleur blanche alors que F4 est de couleur jaune pâle qui provient de l'HE 2008. Les crèmes F3 et F4 sont caractérisées par l'odeur du lentisque pistachier (herbacée). F2 a une odeur terreuse contrairement à F1 (témoin) qui est inodore. Ces crèmes maintiennent ces caractéristiques organoleptiques pendant toute la période d'étude et pour les deux températures (ambiante et réfrigérateur), par conséquent aucun changement n'a été détecté.

Le pH est un paramètre important en ce qui concerne l'efficacité de la crème et il peut être utilisé comme indicateur de la stabilité d'une formulation. Tous les échantillons étudiés (F1, F2, F3 et F4) au cours du temps et pour les deux conditions de température de stockage (Tableau III.4) ont des pH qui varient entre 5 et 6. Ces derniers sont proches du pH cutané.

Les tests de centrifugations subies par les quatre crèmes formulées pendant la période d'étude permettent, en effet, d'accélérer le vieillissement des échantillons et d'évaluer leurs stabilités respectives. Les résultats indiqués dans le Tableau III.4 et l'exemple illustré sur la Figure III.2 montrent que les crèmes étudiées n'ont subi aucun déphasage et sont restées stables.

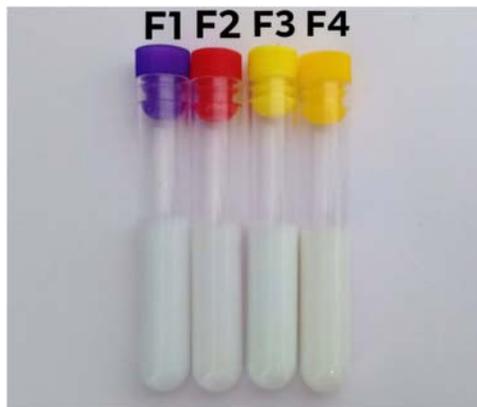


Figure III.2 : Exemple de résultats des essais de centrifugation pour les quatre crèmes formulées.

III.4.2. Sens de l'émulsion

Le test au bleu de méthylène a révélé une coloration homogène sur toute la quantité testée d'émulsions, à l'échelle macroscopique (Figure III.3). Ces observations indiquent que les quatre émulsions étudiées sont de types H/E.

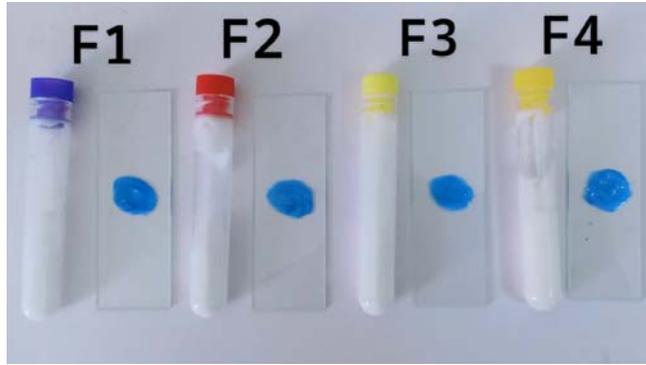


Figure III.3 : Images macroscopiques du test de bleu de méthylène de F1, F2, F3 et F4, respectivement.

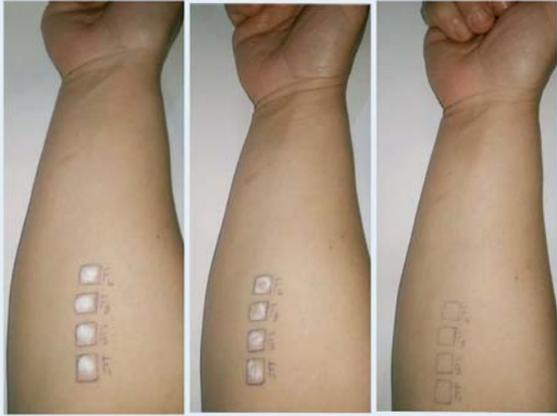
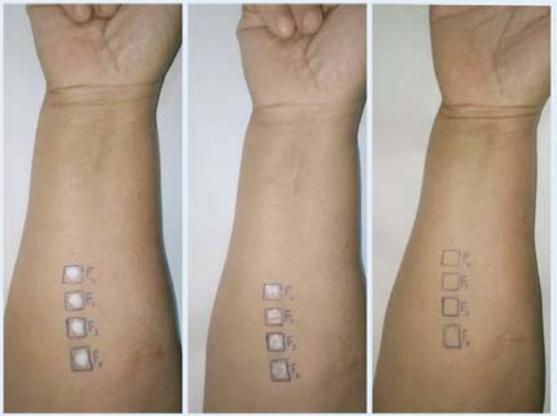
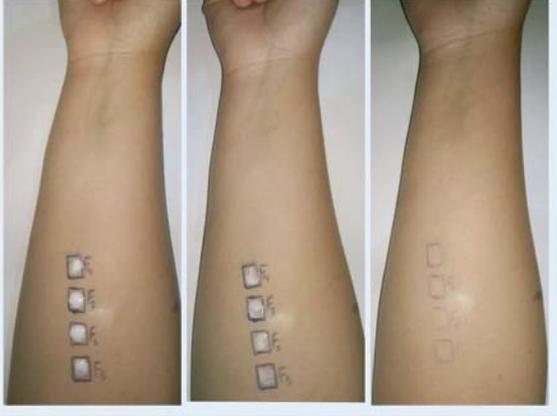
III.4.3. Test d'irritation

Le test d'irritation des quatre crèmes est appliqué sur l'avant-bras de dix (10) volontaires dont les âges sont compris entre 18 et 70 ans. Les résultats sont détaillés dans le Tableau III.5 ci-dessous.

Tableau III.5 : Résultats du test d'irritation des émulsions formulées.

Nombre de Volontaires	Application des formulations, étalement et résultats après 24h	Observation après 24h
01		Aucune irritation remarquée
02		Aucune irritation remarquée

03		Aucune irritation remarquée
04		Aucune irritation remarquée
05		Aucune irritation remarquée
06		Aucune irritation remarquée

07		Aucune irritation remarquée
08		Aucune irritation remarquée
09		Aucune irritation remarquée
10		Aucune irritation remarquée

Le test d'irritation des quatre formulations a été réalisé pour évaluer l'apparition éventuelle d'effets secondaires sur la peau. Les résultats obtenus (Tableau III.5) montrent que les formulations F1, F2, F3 et F4 n'ont provoqué aucune réaction allergique sur la peau des dix volontaires. Aucune irritation, aucun érythème ni œdème n'ont été observés. Ainsi, les résultats du test d'irritation des quatre émulsions formulées montre qu'elles sont sans danger pour la peau.

III.4.4. Activité antibactérienne des émulsions formulées

Le Tableau III.5 et la Figure III.4 résume et illustre, respectivement, les résultats obtenus après l'évaluation de l'activité antibactérienne des quatre émulsions formulées sur les souches bactériennes, aux deux températures étudiées (après 28 jours de conservation).

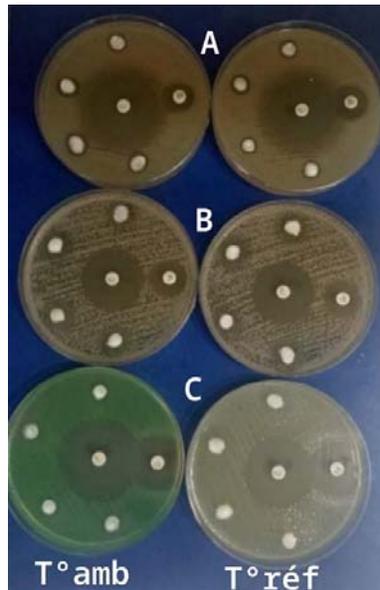


Figure III.4 : Effets des quatres formulations sur les trois bactéries (A : *Escherichia coli* ; B : *Staphylococcus aureus* ; C : *Pseudomonas aeruginosa*) aux températures ambiante (T° amb) et du réfrigérateur (T° réf).

Tableau III.6 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition des différentes bactéries (en mm) cultivées en présence des quatre formulations.

Formulations et ATBs	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	T° amb	T° réf	T° amb	T° réf	T° amb	T° réf
F1	10	9	6	6	6	10
F2	11	10	12	11	6	11
F3	12	9	6	10	6	10
F4	10	10	11	6	6	6
CIP ₅	33	33	29	29	35	37
AMX ₂₅	13	17	/	/	/	/
TCC ₇₅₋₁₀	/	/	/	/	26	24
OX ₅	/	/	18	18	/	/

F1 : témoin ; **F2** : crème à base de l'HD ; **F3** : crème à base de HE 2020 ; **F4** : crème à base de HE 2008 ; **CIP₅** : Ciprofloxacine ; **AMX₂₅** : Amoxicilline ; **OX₅** : Oxacilline ; **TCC₇₅₋₁₀** : Ticarcilline + acide clavulanique ; **T° amb** : température ambiante ; **T° réf** : température du réfrigérateur.

Le Tableau III.5 montre qu'à température ambiante F3 est le plus efficace sur *Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition de 12 mm, suivi par F2 avec un diamètre d'inhibition de 11 mm et enfin F1 et F4 avec des diamètres de 10 mm. F2 est le plus actif sur *Staphylococcus aureus* (diamètre d'inhibition 12 mm) suivi par F4 (diamètres d'inhibition 11 mm). Par contre F1 et F3 sont moins efficace sur cette bactérie avec le même diamètres d'inhibition de 6 mm. En ce qui concerne la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*, les diamètres d'inhibition sont les mêmes pour les quatre formulations (6 mm).

Les activités antibactériennes des quatre formulations stockées au réfrigérateur ne suivent pas la même tendance que celle des formulations conservées à température ambiante. En effet, le Tableau III.5 indique qu'à température basse F4 et F2 sont les plus efficaces sur *Escherichia coli* avec le même diamètre d'inhibition de 10 mm, suivi par F3 et F1 avec le diamètre d'inhibition de 9 mm pour chacune d'elles. F2 est le plus actif sur *Staphylococcus aureus* (diamètre d'inhibition 11 mm) suivi par F3 (diamètres d'inhibition 10 mm). Par contre F1 et F4 sont moins efficace sur cette bactérie avec le même diamètres d'inhibition de 6 mm. En ce qui concerne *Pseudomonas aeruginosa* le diamètre d'inhibition le plus important a été enregistré pour F2 (11 mm) suivi par F3 et F1 qui ont eu le même diamètres (10 mm) puis F4 avec un diamètres d'inhibition de 6 mm.

Le Tableau III.5 montre aussi que les antibiotiques utilisés comme référence ont des effets sur leurs souches bactériennes respectives et sont plus actifs que les quatre émulsions formulées.

En conclusion, les effets antibactériens des formulations dans lesquels l'HD 2020, l'HE 2020 et l'HE 2008 (F2, F3 et F4, respectivement) ont étaient valorisés sont supérieurs ou égales à la formulation témoin F1.

Conclusion et perspectives

Ce mémoire a pour objectif la valorisation des ressources végétales par l'extraction, la caractérisation et la valorisation d'HE et d'HD de rameaux feuillés du lentisque pistachier.

Après avoir extrait l'HE et l'HD du lentisque pistachier (i.e. HE 2020 et HD 2020), à l'échelle industrielle, plusieurs étapes ont été nécessaires pour les caractériser et comparer l'HE obtenue avec une HE ayant subi le même type d'extraction datant de 2008 (HE 2008). Nous nous sommes penchées, dans ce travail, aux propriétés organoleptiques, aux caractéristiques physico-chimiques et à l'activité antimicrobiennes des HEs et de l'HD, respectivement. Suite à cela et sous la lumière d'une étude bibliographique détaillée, nous avons valorisé chacune des deux HEs et l'HD précédemment caractérisés dans la formulation de trois crèmes dermiques décongestionnantes. Une formulation sans HE ni HD a également été élaborée pour servir de référence. L'étude de stabilité de chacune des quatre émulsions a été établie chaque semaine pendant 28 jours par le suivi des caractéristiques organoleptiques et macroscopiques, et du potentiel d'hydrogène (pH). La partie expérimentale s'est terminée par la mesure des activités antimicrobiennes des deux HEs, de l'HD et des quatre crèmes formulées.

Il ressort de notre travail un certains nombres de résultats que nous pouvons citer comme suit :

- ❖ La teneur en eau des rameaux feuillés du lentisque pistachier est de 7,98%.
- ❖ L'extraction de l'HE 2020 par entraînement à vapeur donne un rendement de 0,033% qu'est inférieur à celui de l'HE 2008 0,06%.
- ❖ L'évaluation du caractère organoleptique a révélé que l'HE 2020 est un liquide mobile limpide de couleur jaune pâle avec une odeur aromatique, très puissante et herbacée. L'HE 2008, quant à elle, est un liquide mobile à jaune moutarde avec une odeur Aromatique puissante et herbacée. L'HD 2020 expose une apparence liquide mobile limpide avec une couleur transparente et une odeur terreuse verte.
- ❖ Les résultats des analyses physico-chimiques ont indiqué, dans leur globalité, que les HE 2008 et HE 2020 sont en accord avec la littérature. Les propriétés physicochimiques de l'HD 2020 montre sa richesse en eau.
- ❖ Le suivi des quatre émulsions, qui se sont révélées de type H/E, au cours du temps a relevé une stabilité globale des formulations à l'échelle macroscopique et physico-chimique.
- ❖ Le test d'irritation des formulations préparées montre qu'elles sont sans danger pour la peau.
- ❖ Selon l'antibiogramme, qui a été mis au point dans le but de comparer l'effet des antibiotiques par rapport à celui de l'HE 2020, l'HE 2008, l'HD et les quatre émulsions, il a été remarqué que les souches utilisées sont plus sensibles à l'ATB qu'aux HEs, HD et émulsions formulées. Les effets antibactériens les plus importants ont été enregistrés pour les huiles HE 2008 et HE 2020 sur *Staphylococcus aureus*. Les activités antibactériennes des quatre formulations stockées au réfrigérateur ne suivent pas la même tendance que celle des formulations conservées à température ambiante. Les effets antibactériens des formulations dans lesquels l'HD 2020, l'HE 2020 et l'HE 2008 ont été valorisés sont supérieurs ou égaux à la formulation témoin.

Les travaux que nous avons menés ont abouti aux résultats que nous venons de discuter. Ainsi nous insisterons sur certains points qui nous paraissent importants à poursuivre :

- Déterminer les compositions chimiques de l'HE 2008, l'HE 2020 et de l'HD 2020 par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) et ce afin de comparer leurs compositions chimiques respectives.
- Etudier les activités antioxydantes des HEs, de l'HD et des quatre émulsions formulées.
- Elargir la gamme d'espèces bactérienne testées aussi bien sur les HEs et l'HD que sur les formulations.

Références bibliographiques

- [1] Festy D., Ma bible des huiles essentielles, Ed. Leduc.s, Paris, 2008.
- [2] Folliard T., La bible Larousse des huiles essentielles, Ed. Larousse, Paris, 2016.
- [3] Möller K., La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Ed. UNICOBRES, France, 2008.
- [4] Pibiri M. C., Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse de doctorat, université de Lausanne, 2005.
- [5] France AgriMer, Eléments de conjoncture : marchés des plantes aromatiques et médicinales. Conseil spécialisé PPAM, séance du 19 juin 2012. <http://www.franceagrimer.fr/fam/content/download/16517/126294/file/4.1%20%20March%C3%A9%20des%20PAM.pdf>
- [6] Ilbert H., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A., Chailan C., Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie, Montpellier : CIHEAM / FranceAgriMer, 2016.
- [7] Buronzo A., Schnebelen J. C., Grand guide des huiles essentielles, Ed. Hachette pratique, France, 2008.
- [8] Commission de la Pharmacopée européenne, 2008 https://www.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0f01c414859e60791527bd4de3ae2a67.pdf
- [9] AFNOR NF T 75-006 : février 1998 : Matières premières aromatiques d'origine naturelle –Vocabulaire. Aromatic natural raw materials. Vocabulary. (Indice de classement : T75-006).
- [10] Bruneton J., Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, Brigitte Peyrot (5^e Ed), Paris, 2016.
- [11] Miles E., Les huiles essentielles pour les nuls, première Ed. France, 2013.
- [12] Modzelewska A., Sur S., Kumar K. S., Khan S. R., Sesquiterpenes : Natural products that decrease cancer growth. Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents, 5, 477-499. 2005.
- [13] Djeddi S., Les mystérieux des huiles essentielles, Ed. Presses Académiques Francophones, Allemagne, 2012.
- [14] Bessah R., Benyoussef E. H., La filière des huiles essentielles : Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. Revue des Energies Renouvelables, 18, P513-528,2015.
- [15] Lawrance B. M., A preliminary report on the world production of some selected essential oils and countries, Perfumer and Flavorist, P38-47, January 2009.

- [16] Jacob M., Pellecier. J, Tomei R. Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique. Rivista Italiana, EPPOS 11, P26-30, 1979.
- [17] Razakarivony A. A., Andriamihaja B. ,Razanamahefa B., Etude chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Callistemon rigidum*. Actes du symposium biomad. Université d'Antananarivo,P 28,2009.
- [18] Fernandez X., André C., Casale A., Hydrolat et eaux florales : vertus et applications, Ed. Vuibert, Paris, 2014.
- [19] Fontaine I., Le pouvoir subtil des hydrolats, Plantes & Santé, P1-5 2017. <https://www.naturellementsimples.com/media/images/upload/article%20hydrolats%20Plantes%20et%20Sant%C3%A9.pdf>
- [20] Govil JN., Bhattacharya S., Recent Progress In Medicinal Plants, Volume 36 : Essential Oils, Studium Press, India, P 151-212, 2013.
- [21] Nam-Sun K., Dong-Sun L., Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography-mass spectrometry, J. Chrom. A, 2002.
- [22] Sánchez G, Les techniques de distillation de l'eau de rose à al-Andalus (France), parfum d'orient, Res orientales,11, P 125-139,1998.
- [23] Bensebia O., Extraction Supercritique des Huiles Essentielles : Détermination Expérimentale et Modélisation, Thèse de Doctorat, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, 2009.
- [24] Ait hallal A., Haderbache K., Les techniques d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes, Edition universitaire européenne, 2011.
- [25] Bellakhdar J., Le Maghreb à travers ses plantes : plantes, productions végétales et traditions au Maghreb. Ed. Le fennec, 2003.
- [26] Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine E.H., Ibjibjen J., Nassiri I., Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus L.* » : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien, Journal of Applied Biosciences 86, P 7966 – 7975, 2015.
- [27] Amara N., Benrima A, Anba C., Belkhir H., Activité Antimicrobienne De L'huile Essentielle Des Fruits Du Pistachier Lentisque (*Pistacia Lentiscus L.*), Revue Agrobiologia, 9(2), P 1669-1676, 2019.
- [28] Arabi A., Djibaoui R., Malihac C., Sisbane I., Lattab A., Bechelaghem. Dahah H., Reziga C., Ettalhi M., Taleb F., Ouar Korichi M., Dahloum L., Chemical composition and

antibacterial activity of essential oil from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus* growing in Mostaganem Province (Algeria), *International Journal of Biosciences*, 10 (5), P 146-158, 2017.

[29] Beghlal D., El Bairi K., Marmouzi I., Haddar L., Boukili M., Phytochemical, organoleptic and ferric reducing properties of essential oil and ethanolic extract from *Pistacia lentiscus L.*, *Asian Pac J Trop Dis* 6 (4), P 305-310, 2016.

[30] Kıvçak B., Akay S., Demirci B., Baser K.H.C, Chemical Composition of Essential Oils from Leaves and Twigs of *Pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var. *chia*, and *Pistacia terebinthus* from Turkey, *Pharmaceutical Biology*, 42, P 360-366, 2004.

[31] Théophane de la charie, *Se soigner par les huiles essentielles. Pourquoi et comment ça marche?*, Ed Rocher, Monaco, 2019.

[32] Bozorgi M., Memariani Z., Masumeh Mobli, Surmaghi M. H. S, Shams-Ardekani M.R., Rahimi R., Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*) : A Review of Their Traditional Uses, *Phytochemistry*, and *Pharmacology*, *The Scientific World Journal*, P 1-33, 2013.

[33] Duru M.E., Cakir A., Kordali V., Zengin H., Harmandar M., Izumi S., Hirata T., Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species, *Fitoterapia* 74, P 170–176, 2003.

[34] Maxia A, Cinzia S., Frau M.A., Piras A, Singh Karchuli M., Kasture V., Anti-inflammatory Activity of *Pistacia lentiscus* Essential Oil : Involvement of IL-6 and TNF- α , *Natural product communication*, 6 (10), P 1543-1544, 2011.

[35] Bechlaghem M., Derras M.I, *Essais de mise au point de formulation d'une crème cosmétique hydratante anti âge*, Mémoire de Master, Université de Tlemcen, 2017.

[36] Doumeix O., *Opérations unitaires en génie biologique. Tom 1 : les émulsions*, Ed Bio TECH, Paris ,2011.

<https://cdn.reseau-canope.fr/archivage/valid/156606/156606-23234-29410.pdf>

[37] AFNOR : 2000 : Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. Monographies relatives aux huiles essentielles.

[38] NF ISO 279 : 1999 (T 75-111) : Huiles essentielles -- Détermination de la densité relative à 20 degrés C -- Méthode de référence.

[39] ISO 875:1999 : Huiles essentielles. Évaluation de la miscibilité des huiles essentielles à l'éthanol.

- [40] NF ISO 280 : 1999 (T 75-112) : Huiles essentielles -- Détermination de l'indice de réfraction.
- [41] NF ISO 1242 :1999 (T 75-103) : Huiles essentielles -- Détermination de l'indice d'acide.
- [42] Guerrouf A., Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique cas d'un cabinet dentaire, Mémoire de Master, Université de Ouargla, 2017.
- [43] Marmouzi I., Saidi N., Meddah B., Bouksaim M., Gharby S., El Karbane M., Nutritional characteristics, biochemical composition and antioxidant activities of Moroccan Oat varieties. *J Food Meas Charact*,10. P 156-165, 2016.
- [44] Taleb-Toudert K., Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur le bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae), Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 2015.
- [45] Bares A., Belabiod M., Détermination de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*, Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 de Guelma, 2014.
- [46] Bazizi M., Extraction d'huile essentielle de l'espece vegetale *salvia officinalis* l. Par hydrodistillation : Caracterisation physicochimique et modelisation parametrique, Mémoire de Master, Université Badji Mokhtar d'Annaba, 2017.
- [47] Zabeirou H., Étude comparative entre les huiles essentielles de la menthe verte (*Mentha Spicta L*) et de la menthe Poivrée (*Mentha Piperita L*) dans la région d'Ouargla. Mémoire de DES Biochimie, Université de Kasdi Merbbah d'Ouargla, 2005.
- [48] Kanko C., Sawaliho B.E., Kone S., Koukoua G., N'guessan YT., Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*, *Comptes rendus Chimie* 7, P 1039-1042, 2004.
- [49] Seddik M, analyse physico-chimique et spectroscopique de l'huile essentielle d'ammoides verticillata de la région d'Adrar. Etude de son activité biologique et antioxydante, Mémoire de Magistère, Université d'Oran Es-senia, 2010.
- [50] CODEX STAN 210-1999 Normes pour les huiles végétales portant à un nom spécifique, Codex Alimentarius, 1999.
- [51] Benhammou N., Atik Bekkara F., Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L* de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie), Recherches sur les

plantes aromatiques et médicinales. Actes du congrès international des 22-24 mars 2007, Mezraoua (Taounate) & Fès, Maroc, 2007.

[52] Magiatis P., Melliou E., Skaltsounid AL., Chinou IB., Mitaku S., Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. *chia*. Plant Med, 65, P 749-752, 1999.

Résumé

Notre étude s'inscrit dans un cadre de contribution à la valorisation d'une plante aromatique et médicinale, le lentisque pistachier (*Pistacia lentiscus L*) qui est cultivé à Bouderbala (Wilaya de Bouira), via l'extraction et la caractérisation de son huile essentielle et hydrolat ainsi que la valorisation de ces extraits dans la formulation de crèmes décongestionnantes avec étude de leurs stabilités, dans un premier temps. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles, de l'hydrolat et des formulations a également été évaluée dans un second temps. Une huile essentielle du lentisque pistachier datant de 2008 a été caractérisés et valorisée afin de la comparer avec celle extraite.

Les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles ont été similaires dans leur globalité et en accord avec la littérature cependant l'hydrolat du lentisque pistachier a été peu étudié. Les formulations élaborées se sont révélées stables tout au long de la période d'étude.

L'activité antimicrobiennes des huiles essentielles et hydrolat sur quatre souches bactériennes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*), par la technique d'antibioaromatogramme, s'est révélée non négligeable et s'est caractérisée par une action bactériostatique contre les bactéries gram positives. Les activités antibactériennes, des formulations dans lesquelles les huiles essentielles et l'hydrolat ont étaient valorisés, sont supérieures ou égales à la formulation témoin.

Mots clés : Huile essentielle, hydrolat, lentisque pistachier, rameaux feuillés, extraction, caractérisation, valorisation, crème décongestionnante, étude de stabilité, activité antimicrobienne.

Abstract

Our study is part of a contribution to the valorisation of an aromatic and medicinal plant, pistachio lentisk (*Pistacia lentiscus L*) which is cultivated in Bouderbala (Wilaya of Bouira), via the extraction and characterization of its essential oil and hydrosol, in one hand, and the valorisation of these extracts in the formulation of decongestant creams with studying their stability, on the other hand. The antimicrobial activity of essential oils, hydrosol and formulations was also evaluated. Essential oil of pistachio lentisk dating from 2008 has been also characterised and valorised in order to compare it with essential oil extracted.

The organoleptic properties and the physicochemical characteristics of essential oils were generally similar and in agreement with the literature. However, pistachio lentisk hydrosol has been little studied. The formulations developed were found to be stable throughout the study period.

The antimicrobial activity of essential oils and hydrosol on four pathogenic microbial strains (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*), evaluated by the antibioaromatogram technique, has been shown to be significant and characterized by a bacteriostatic action against gram positive bacteria. The antibacterial activities of the formulations in which essential oils and hydrosol were valorised, were greater than or equal to the control formulations.

Keywords: Essential oil, hydrosol, pistachio lentisk, leafy twigs, extraction, characterisation, valorisation, decongestant cream, stability study, antimicrobial activity.

ملخص

تساهم دراستنا في تعزيز نبات عطري وطبي، وهو الضرو (*Pistacia lentiscus L*) الذي يُزرع في بودربالة (ولاية البويرة). تتمثل هذه الدراسة في استخراج زيتة الأساسي والهيدروسول وتوصيفهما، لتثمين هذه المستخلصات في صياغة كريمات مزيلة للاحتقان مع دراسة ثباتها. بعدها تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية، الهيدروسول وكذا الكريمات. إضافة للزيت الأساسي لضرو يعود تاريخه إلى عام 2008 تم كذلك توصيفه وتثمينه لمقارنته بالزيت المستخرجة. الخواص الحسية والخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية متشابهة بشكل عام بالتوافق مع الدراسات السابقة، بينما لا توجد دراسات سابقة للهيدروسول. الكريمات التي تم حافظت على استقرارها طوال فترة الدراسة.

دراسة فعالية الزيوت الأساسية والهيدروسول ضد الميكروبات على أربع سلالات بكتيرية ممرضة (*Staphylococcus aureus*)، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Candida albicans*)، بواسطة تقنية antibioaromatogramme، أثبت أنها معتبرة وتتميز بعمل كايح للجراثيم ضد البكتيريا جرام موجبة. الأنشطة المضادة للبكتيريا للكريمات التي تم فيها تثمين الزيوت الأساسية والهيدروسول أكبر من أو تساوي كريمه الشاهد.

كلمات البحث: زيت أساسي، هيدروسول، ضرو، أغصان مورقة، استخلاص، توصيف، تثمين، كريم احتقان، دراسة استقرار، نشاط مضادات الميكروبات.