

N° d'ordre :FS / UMBB / 2019

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث 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

HAMMOUD Imane

CHIKH Nassima

18 Juillet 2019

Thème

**Valorisation et étude de l'activité de deux huiles
essentielles extraites de deux plantes médicinales**

M ^{me} DEHAK Karima	Maitre de conférences A FS-UMBB	Présidente
M ^{me} BOUSSAK Hassina	Maitre de conférences B FS-UMBB	Promotrice
M ^{me} AKROUM née AMROUCHE Dahbia	Maitre de conférences B FS-UMBB	Examinatrice
M ^{me} HAMMADOU Souad	Maitre de conférences B FS-UMBB	Examinatrice
M ^r ALLILICHE Mourad	Ingénieur Géochimiste/ Sonatrach	Invité

Remerciement

En tout premier lieu, nous remercions le bon « Allah » tout puissant de nous avoir donné courage, volonté et patience pour accomplir ce modeste travail.

*On commence par exprimer nos vifs remerciements à notre encadreur **Mme BOUSSAK Hassina** qui nous a honorées en acceptant de diriger ce travail, pour tous les efforts qu'elle a consenti tout au long de l'élaboration de ce travail. Ses encouragements, et ses précieux conseils.*

*Nous remercions très sincèrement à notre Co-Encadreur **Mr. ALLILCHE Mourad** pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils. Merci de nous avoir guidées avec patience et pour avoir mis à notre disposition le matériel et les moyens nécessaires pour la réalisation de ce travail, on exprime notre respect et notre gratitude.*

*Nos chaleureux remerciements vont aux membres de jury : **M^{me} DEHAK Karima** qui nous a fait l'honneur de présider le jury, **Mme HAMMADOU Souad** et **Mme AKROUM née AMROUCHE Dahbia** d'avoir accepté d'examiner notre travail. Ce travail rentre dans le cadre d'une collaboration entre Mme D. AKROUM-AMROUCHE et Mme H. BOUSSAK, pour cette raison nous remercions encore Mme D. AKROUM-AMROUCHE de nous avoir donné une occasion de faire une application de nos huiles sur des bactéries urinaires au laboratoire de bactériologie, département de biologie, Faculté des sciences, UMBB et qui nous a donné de meilleurs résultats.*

.Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études.

Nous tenons également à remercier toute l'équipe de département Géo-Chimie organique de CRD et à tous les collègues stagiaires pour tous les très bons moments partagés ensemble qui ont rendu ce stage particulièrement agréable.

On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.





Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*Aux deux être le plus chers au monde,
qui ont souffert nuit et jour pour nous couvrir de
leur amour, mes parents.*

*A mon père "**Mouloud**" pour son patient avec moi et son
encouragement.*

*A ma source de bonheur, ma mère "**Fatima**" pour sa patience, sa
compréhension, sa disponibilité, son écoute et son soutien sans
égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.*

*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers parents
que je le dois.*

Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé.

*A mes très chères sœurs et mes chers frères qui m'ont toujours
soutenu et encouragé.*

*A ma source d'énergie Nabila qui m'ont encouragé et aidé durant toutes
mes années d'étude.*

À mes chères petits neveux et nièces.

*A mon binôme Nassima pour les moments que nous avons passés
ensemble.*

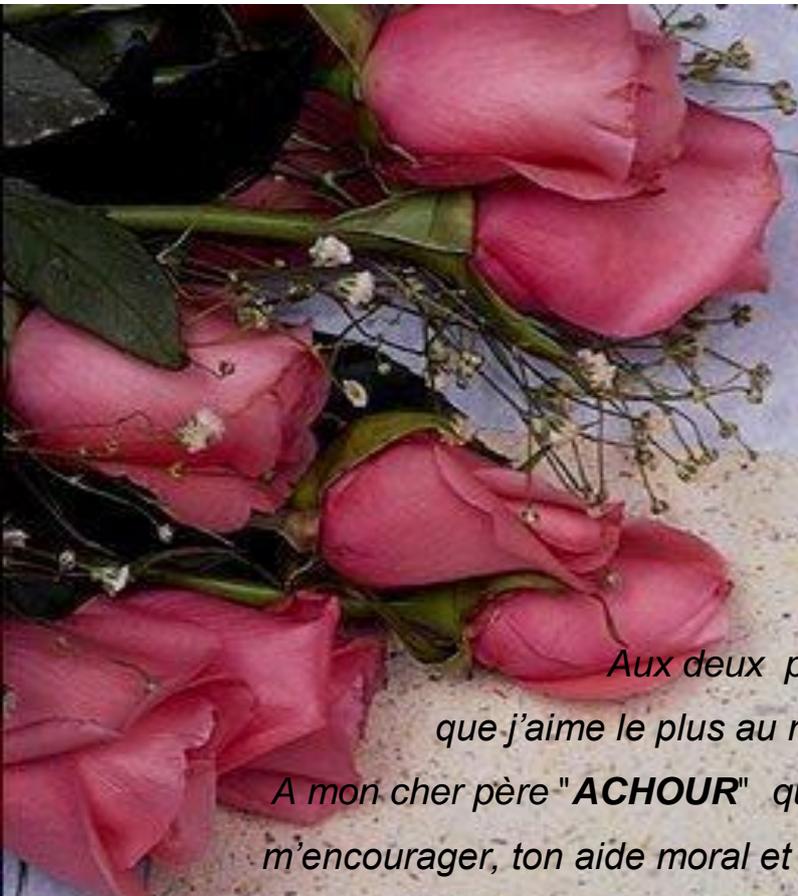
*A mon amie Rahim, qui a toujours été à mes côtés surtout dans
les moments les plus difficiles.*

A toute promotion chimie organique 2019.

A tous ceux que j'aime et que je respecte



IMANE



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*Aux deux plus chères personnes de ma vie
que j'aime le plus au monde, mes parents.*

*A mon cher père "**ACHOUR**" qui été toujours à mes cotés pour
m'encourager, ton aide moral et affectif durant toutes les années
de mes études, pour me voir attendre ce but.*

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de
ma vie ma mère "**BAYA**" qui ma apporté son appui durant toutes
mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné
confiance, courage et sécurité*

Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé

*. A mes adorables sœurs et, mes très chers frères pour
leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*

A mes chères petits neveux et nièces

*A ma très chère Tante "**ALDJIA**" qui est toujours été à mes cotés*

*A mon binôme IMANE qui j'ai partagé les bons et les **durs**
moments*

A mes très chère Amis

*A Tous les membres de groupe de Chimie organique Que la paix
d'ALLAH*

A tous ceux que j'aime et que je respecte



Abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale.....1

Chapitre I : Partie bibliographie

I.1. Introduction.....3

I.2. Les plantes aromatiques..... 3

I.3. Les plantes médicinales 3

I.4. Classification des plantes médicinales et aromatiques 3

I.5. Généralités sur Huiles essentielles..... 3

 I.5.1. Définition 4

 I.5.2. Les composés chimiques des huiles essentielles..... 4

 I.5.3. Les terpénoïdes..... 4

 I.5.4. Les composés aromatiques..... 6

 I.5.5. Localisation des huiles essentielles dans les tissus de la plante..... 6

 I.5.6. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....6

 I.5.7. Le pouvoir thérapeutiques des huiles essentielles.....7

I.6. Mode d'extraction..... 8

 I.6.1. Distillation par entraînement à la vapeur..... 8

 I.6.2. Hydrodistillation 9

 I.6.3. Extraction par solvant 10

 I.6.3.1. Soxhlet..... 10

I.7. Conservation des huiles essentielles 12

I.8. Le myrte..... 12

 I.8.1. Description botanique 13

 I.8.2. L'huile essentielle de myrte 13

 I.8.2.1. Principaux composants chimiques..... 13

 I.8.3. Usages du myrte..... 15

I.9. La lavande..... 15

 I.9.1. Description botanique 16

 I.9.2. L'huile essentielle de lavande 17

 I.9.2.1. Principaux composants chimiques..... 17

 I.9.3. Usage de la lavande.....18

I.10. Définition des principes actifs..... 19

I.11. Conclusion.....20

Références

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Introduction.....	21
II.2. Matériels et méthodes.....	23
II.2.1. Matériels végétales	23
II.2.2. Matériels de laboratoire et produits utilisant	23
II.3. Préparation de l'échantillon solide pour l'extraction	24
II.4. Extraction des huiles essentielles	25
II.4.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	25
II.4.2. Extraction des huiles essentielles par soxhlet	27
II.5. Calcul du rendement.....	29
II.6. Caractéristiques des huiles essentielles	29
II.6.1. Caractéristiques organoleptiques	29
II.6.2. Identification des propriétés physico-chimiques	29
II.7. Analyse des huiles essentielles.....	31
II.7.1. Le couplage chromatographie - spectrométrie de masse (CPG/SM).....	32
II.7.2. Spectroscopie infrarouge	36
II.8. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile de lavande et l'huile de myrte	38

Références

CHAPITRE III : Résultats et discussions

III.1. Rendement en huiles essentielles.....	39
III.2. Propriétés organoleptiques.....	40
III.3. Paramètres physico-chimiques.....	42
III.4. Les méthodes d'identification chimique des huiles essentielles.....	45
III.4.1. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse.....	45
III.4.2. La spectroscopie infrarouge.....	58
III. 5. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	63
III. 5.1. L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile de Lavande et l'huile de Myrte.....	64
Conclusion Générale.....	65

Références

Annexes

ABREVIATIONS

AFNOR	Association Française de Normalisation
CG	Chromatographie en phase gazeuse
CG/SM	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HE	Huile essentielle
HD	Hydrodistillation
HE– HD	Huile essentielle extrait par hydro-distillation
IR	Infra-rouge
Kg	kilogramme
M H	Monoterpène hydrocarbonés
m /z	Masse sur charge
mg	Milligramme
min	Minute
mL	Millilitre
mm	Millimètre
M O	Monoterpène oxygéné
pH	Potentiel d'hydrogène
Rdt	Rendement
SM	Spectrométrie de masse
TA	Température ambiante
TR	Temps de rétention
Tr	Trace
S H	sesquiterpène hydrocarbonés
S O	sesquiterpène oxygéné
μ	Micro
μ L	Microlitre

Chapitre I	Page
-------------------	-------------

Tableau I.1: Les avantages et les inconvénients des différentes méthodes d'extraction.....11

Tableau I.2: Composition de l'huile essentielle de Myrte.....14

Chapitre III	Page
---------------------	-------------

Tableau III.1: Rendements en huiles essentielles des plantes étudiées.....39

Tableau III.2 Propriétés organoleptique des huiles selon AFNOR.....40

Tableau III.3 : Propriétés organoleptiques des HEs de Lavande extraites par HD et par Soxhlet.....41

Tableau III.4 : Propriétés organoleptiques des HEs de myrte extraites par HD et par Soxhlet.....41

Tableau III.5 : Propriétés physico-chimiques des HEs extraites par HD et par Soxhlet.....43

Tableau III.6 : Résultats d'analyse de l'HE de Lavande.....46

Tableau III.7 : Résultats d'analyse de l'HE de Lavande Soxhlet.....48

Tableau III.8 : Résultats d'analyse de l'HE de myrte HD.....52

Tableau III.9 : Résultats d'analyse de l'HE de myrte Soxhlet.....55

Tableau III.10 : Groupements fonctionnelles de l'HE de Lavande-HD de spectre IR.....59

Tableau III.11: Groupements fonctionnelles de l'HE de Lavande-Soxhlet de spectre IR....59

Tableau III.12 : Groupements fonctionnelles de l'HE de Myrte-HD de spectre IR.....61

Tableau III.13 : Groupements fonctionnelles de l'HE de Myrte-Soxhlet de spectre IR62

Chapitre I	Page
Figure I.1 : Structure de l'isoprène (C ₅ H ₈).....	04
Figure I.2 : Structures de quelques monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles.....	05
Figure I.3 : Structures de quelques sesquiterpènes.....	05
Figure I.4 : Structures de quelques composés aromatiques.....	06
Figure I.5 : Extraction par distillation à la vapeur.....	09
Figure I.6 : Extraction par hydrodistillation.....	10
Figure I.7 :schéma d'un extracteur de Soxhlet.....	11
Figure I.8 : Planche de <i>Myrtus communis</i>	12
Figure I.9 : <i>Myrtus communis</i> : feuillage, fleurs et baies.....	13
Figure I.10 : Planche de <i>Lavandula officinalis</i>	16
Figure I.11 :Les principaux espèces de lavandula 01-Lavandula angustifolia,02-Lavandulalatifolia,03-Lavandulastoechas,04-lavandin.....	17

Chapitre II	Page
Figure II.1 : Organigramme général du plan de travail.....	22
Figure II.2 : Les échantillons avant broyage.....	24
Figure II.3 : Les échantillons après broyage.....	24
Figure II.4 : Montage d'hydrodistillation.....	25
Figure II.5 : Dispositif de décantation.....	26
Figure II.6 : Rotavapeur.....	27
Figure II.7 : Montage Soxhlet.....	28
Figure II.8 :Réfractomètre.....	30
FigureII.9 : Densimètre.....	30
Figure II.10 :pH-mètre.....	31
Figure II.11 : Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse -spectrométrie de masse....	34
Figure II.12 : Appareil d'un chromatographe en phase gazeuse -spectrométrie de masse...36	36
Figure II.13 : Représentation schématique du dispositif d'irradiation en analyse IR-ATR..37	37
Figure II.14 : Appareil d'analyse Infrarouge.....	37

Chapitre III	Page
Figure III.1: Comparaison des rendements des deux procédés d'extraction.....	39
Figure III.2 : (1) HE-Soxhlet, (2) HE-HD.....	41
Figure III.3 : (1) HE-Soxhlet, (2) HE-HD.....	42
Figure III.4 : Chromatogramme de l'HE de Lavande HD.....	45
Figure III.5 : Chromatogramme de l'HE de Lavande Soxhlet.....	47
Figure III.6 : Répartition en % des principaux composés de l'HE de lavande-HD.....	49
Figure III.7: Répartition en % des principaux composés de l'HE de lavande-Soxhlet.....	50
Figure III.8 : Chromatogramme de l'HE de Myrte HD.....	51
Figure III.9: Chromatogramme de l'HE de Myrte Soxhlet.....	54
Figure III.10: Répartition en % des principaux composés de l'HE de Myrte-HD.....	56
Figure III.11: Répartition en % des principaux composés de l'HE de Myrte-Soxhlet.....	57
Figure III. 12: Spectre IR d'huile essentielle de lavande-HD.....	58
Figure III. 13: Spectre IR d'huile essentielle de lavande-Soxhlet.....	59
Figure III. 14: Spectre IR d'huile essentielle de myrte-HD.....	61
Figure III. 15: Spectre IR d'huile essentielle de myrte-Soxhlet.....	62
Figure III. 16 : L'activité antimicrobienne de l'Huile de Lavande et l'Huile de Myrte....	64

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large éventail d'activité biologique ^[1]. Les plantes aromatiques sources de ces substances sont largement répandues dans la nature. L'Algérie abrite un ensemble d'espèces importantes et variées et témoigne de ce fait d'une richesse floristique incontestable ^[2]. Les infections en générale posent un véritable problème de santé publique du fait de leur fréquence, leur gravité et leur coût socioéconomique. Leurs traitements par les antibiotiques restent le moyen de choix, mais l'émergence de bactéries résistantes pose un problème d'inefficacité de ces molécules anti-infectieuses.

Depuis leur découverte, les antibiotiques ont été le principal moyen de défense dans le traitement des infections bactériennes. Cependant, leurs effets sont désormais menacés parce que leur utilisation aveugle a déclenché un phénomène de résistance aux antibiotiques ^[3], et dans de nombreux cas, ceux-ci n'agissent simplement plus. La résistance aux antibiotiques est un mécanisme naturel et prévisible qui se réfère à une situation où un antibiotique qui aurait normalement dû arrêter le développement d'un certain type de bactéries n'est plus capable de le faire ^[4]. La lavande est l'une des plantes médicinales la plus utilisée au Maroc pour ses vertus thérapeutiques, elle existe à l'état naturel dans le Rif, le Moyen Atlas et le Haut Atlas. La Lavande est un sous-arbrisseau de la famille des Labiées, Le genre se compose d'environ 28 espèces, qui sont dans la plupart d'origine méditerranéenne. Ce sous-arbrisseau est à tige et feuilles persistantes, il peut atteindre une longueur de 1 mètre, étroit vert pâle, s'étend du gris bleuâtre profond au vert à brun pâle, fleurs de couleur bleu – violet. D'autres variétés sont à fleurs blanches et roses ^[5, 6]. L'ensemble de la plante est très aromatique comprenant fleurs et feuilles La Lavande est employée comme expectorant, antispasmodique, désinfectant des plaies, contre les problèmes dermiques, possède des propriétés antimicrobiennes et anti-carcinogènes, sédatif, antidépresseur, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticide ^[5].

Myrtus, communément appelé Myrte, est un arbuste aromatique de la famille des *Myrtacées*, répandu tout autour du bassin méditerranéen. En Algérie, il pousse de façon spontanée à travers l'Atlas tellien, les régions côtières d'Alger et de Constantine, où il est connu sous les noms de «Rihan» ou «mersin» [5]. En médecine traditionnelle, le myrte est souvent consommé en infusion et décoction. Une infusion des feuilles et jeunes branches est stimulante, antiseptique, astringente et hypoglycémiant et a été considérée comme un remède de santé pour l'eczéma, le psoriasis, l'asthme, les troubles gastro-intestinaux, les infections urinaires et la diarrhée [5].

Des études antérieures faites sur les parties aériennes de *Myrtus* ont révélé la présence de plusieurs composés chimiques susceptibles d'exercer ses effets biologiques très intéressants. Les feuilles et les fleurs contiennent des huiles essentielles, des tanins, des acides phénoliques et flavonoïdes. Les fruits sont principalement composés de matières volatiles, de tanins, de sucres, d'anthocyanes, d'acides gras et d'acides organiques tels que l'acide citrique et l'acide malique [5].

Notre objectif dans ce travail est réaliser une étude comparative de l'HE des feuilles du *Myrtus* et fleurs du lavandula extraite par HD (hydro-distillation) et par Soxhlet, en termes de rendement, de propriétés physico-chimiques, de composition chimique,... et d'activités antimicrobienne sur la croissance des souches bactériennes qui sont à l'origine de plusieurs infections (urinaire, intestinale, respiratoire, etc...).

Le travail est structuré de la façon suivante :

- La première partie est une synthèse bibliographique sur les huiles essentielles et les méthodes d'extraction.
- La deuxième partie consiste à la présentation du matériel et les méthodes utilisés dans ce travail.
- Et enfin, la troisième partie, sera consacrée à la présentation des résultats et à leurs discussions.

Chapitre I

Partie bibliographie

I.1.Introduction :

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ces rites religieux ^[6]. Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très diversifiées. Elles accumulent des métabolites dits secondaires parmi lesquels, les huiles essentielles très utilisées par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire ^[7].

I.2.Les plantes aromatiques :

Les plantes aromatiques sont constituées par des organes apportant une odeur et une saveur destinées à améliorer un bien-être lors de la dégustation. Il peut s'agir soit d'une plante entière ou d'un organe particulier (feuilles, fleurs, fruits, bourgeons, grains, rhizomes ou bulbes ^[8].

I.3.Les plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des utilisations thérapeutiques, grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain ^[9].

I.4.Classification des plantes médicinales et aromatiques :

La classification des plantes peut se faire en fonction de nombreux intérêts ^[10] :

- Classification botanique (systématique) ^[11].
- Classification thérapeutique (action physiologique).
- Classification chimique (nature du principe actif).
- Classification commerciale (intérêt commercial).

I.5.Généralités sur les huiles essentielles :

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, ou même se soigner ^[12].

Une huile essentielle ou « essence végétale » est l'essence volatile extraite de la plante par distillation.

Il s'agit d'une substance complexe qui contient des molécules aromatiques dont l'action bénéfique sur la santé est étudiée et mise en pratique par l'aromathérapie.

Les HE combinent des molécules très variées (en moyenne une centaine de molécules différentes pour une seule essence : terpènes, cétones, alcools, esters, aldéhydes...) ^[13].

I.5.1. Définition :

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de PA Elle concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs ^[14].

Selon **AFNOR** « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe 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 » ^[15].

I.5.2. Les composés chimiques des huiles essentielles :

La composition d'une huile essentielle (HE) est souvent très complexe. La plupart du temps, une HE comporte un ou deux composants majoritaires qui vont jouer un rôle central dans ses propriétés thérapeutiques. Les constituants des HE peuvent être classés en 3 groupes provenant de trois voies de biosynthèse bien distinctes :

I.5.3. Les terpénoïdes :

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte ^[16]. C'est le groupe le plus important et le plus volatils, Les terpènes sont des molécules organiques constituées par un multiple de cinq atomes de carbone de formule générale $[C_5H_8]_n$. La molécule de base est l'isoprène ou 2-méthylbuta-1,3-diène ^[17].

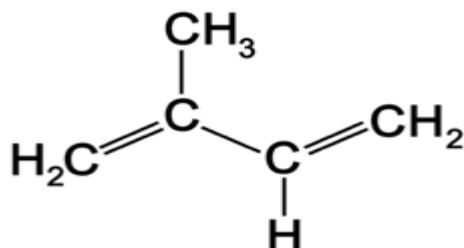


Figure I. 1 : Structure de l'isoprène (C₅H₈)

Selon le nombre d'entités isopréniques les terpènes sont classés en :

- monoterpène à 10 atomes de carbone.

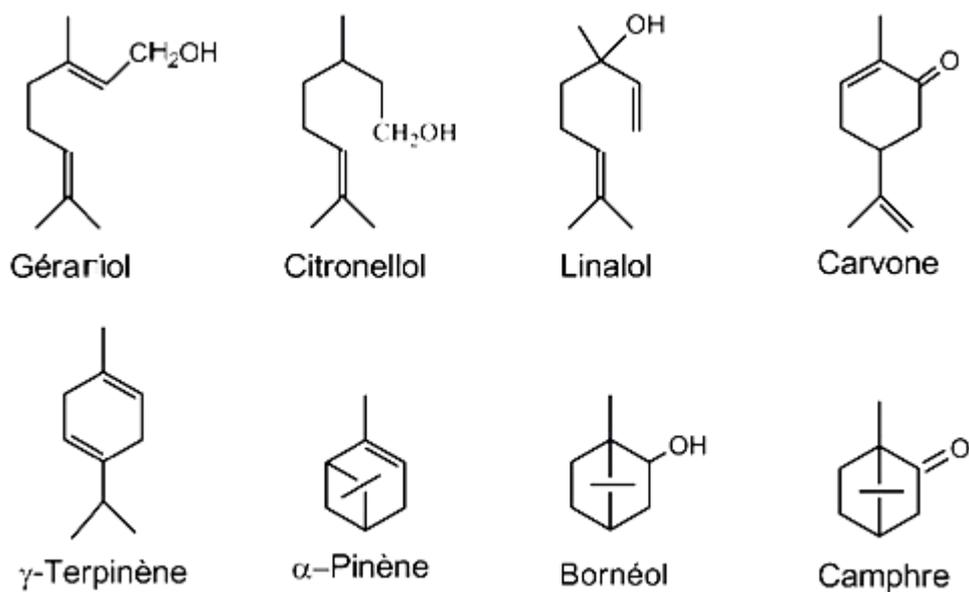


Figure I.2 : Structures de quelques monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles.

- sesquiterpène à 15 atomes de carbone.

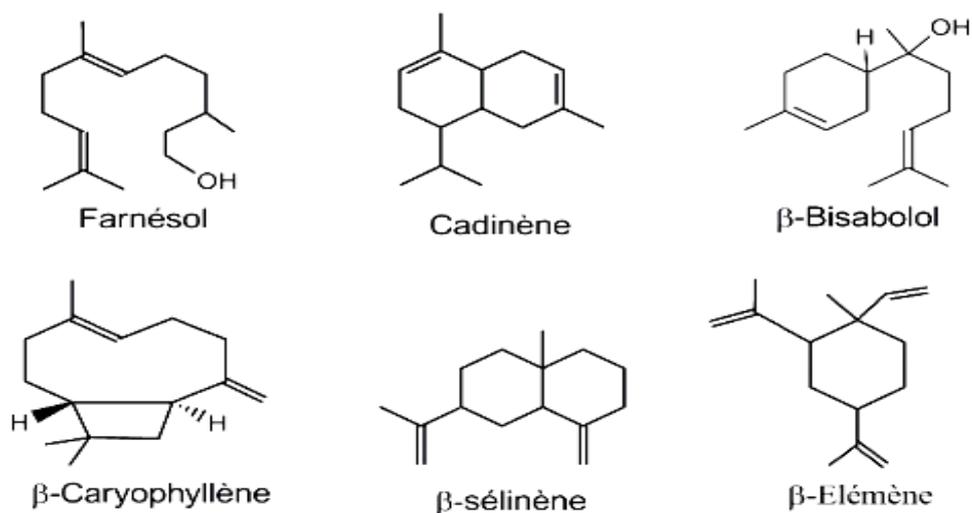


Figure I.3 : Structures de quelques sesquiterpènes ^[18]

I.5.4. Les composés aromatiques :

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles ^[19].

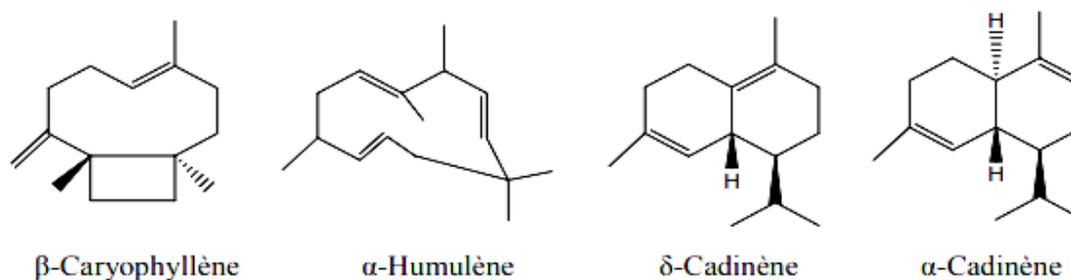


Figure I. 4 : Structures de quelques composés aromatiques

I.5.5. Localisation des huiles essentielles dans les tissus de la plante :

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de certaines cellules végétales spécialisées. Elles peuvent être stockées et emmagasinées dans diverses structures de la plante telles que les poils sécréteurs ou les trichomes, les cellules épidermiques, les cellules sécrétrices internes, les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs. On peut dire alors que toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle :

- Les fleurs (oranger, rose, lavande....)
- Les feuilles (romarin, menthe, thym, sauge...)
- Les organes souterrains, (racines, rhizomes ...).

I.5.6. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

➤ Propriétés physiques :

On peut résumer les propriétés physiques des HE en leurs indices, viscosité, densité, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation. Ces HE sont souvent incolores ou jaune pâle, liquides à une T° ambiante et insolubles dans l'eau grâce à leur nature huileuse qui les rend liposolubles. Toutefois elles le sont dans des solvants

organiques apolaires, les alcools et les huiles grasses. Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et sensibles à l'oxydation et ont un indice de réfraction élevé.

➤ **Propriétés chimiques :**

Les HE sont souvent constitués d'une centaine de composés organiques de fonctions et de structures chimiques différentes. Ces composés sont généralement classés en deux groupes d'origines biogénétiques spécifiques : Les dérivés du phenylpropane (composés aromatiques) et les hydrocarbures terpéniques ^[20].

I.5.7. Le pouvoir thérapeutiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles opèrent de manière préventive en stimulant le système immunitaire afin que votre organisme lutte plus efficacement contre les infections bactériennes.

Parmi les propriétés les plus connues, on citera :

✓ **Le pouvoir antiseptique**

Elles détruisent les microbes ou empêchent leur développement (thym, eucalyptus...).

✓ **Le pouvoir antibactérien**

Les phénols possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénoles, aldéhydes etc.

✓ **Le pouvoir antivirale**

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles. Aujourd'hui, les HE constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques.

✓ **Le pouvoir antiparasitaire**

Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites.

✓ **Activité antioxydante**

L'activité antioxydante des extraits végétaux permet de contribuer à la fabrication de produits plus écologiques dans le domaine de l'extraction pour l'agro-alimentaire.

I.6. Mode d'extraction :

Les composés aromatiques doivent être extraits de leur matrice avant de pouvoir les utiliser. Plusieurs méthodes d'extraction sont mises au point. La distillation est le procédé le plus anciennement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles ^[21]. Plusieurs méthodes d'extraction innovantes aient été mises au point, seules la distillation et l'expression à froid permettent d'obtenir des huiles essentielles conformes à la pharmacopée européenne. Même si les procédés innovants n'aboutissent pas à des huiles essentielles au sens réglementaire, ils permettent l'obtention de plusieurs constituants des HE et des principes aromatiques intéressants. Ainsi les principes des techniques traditionnelles et des procédés innovants d'extraction sont décrits ci-dessous.

I.6.1. Distillation par entraînement à la vapeur :

La distillation par entraînement à la vapeur est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles (**Figure I.5**). Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est placé dans l'alambic sur une plaque perforée située à une certaine distance au dessus du fond rempli d'eau. Le végétal est en contact avec la vapeur d'eau saturée mais pas avec l'eau bouillante. La vapeur provoque la rupture d'un grand nombre de glandes qui libèrent leurs composés aromatiques. Les huiles essentielles diffusent donc à travers le végétal pour entrer en contact avec la vapeur d'eau circulant à l'extérieur. Les vapeurs chargées en composés volatils sont ensuite condensées avant d'être décantées. Du fait de leur différence de densité, les HE et l'eau sont séparées en deux phases et les HE sont ensuite récupérés ^[22]. Cette technique permet d'éviter des réactions lors du contact des constituants des huiles essentielles avec l'eau conduisant à des changements dans la composition finale de l'extrait. En outre, elle agit mieux avec les huiles essentielles contenues dans les glandes situées à la surface du végétal. La distillation à la vapeur des huiles essentielles non superficielles est plus longue et exige plus de vapeur que celle des HE superficielles.

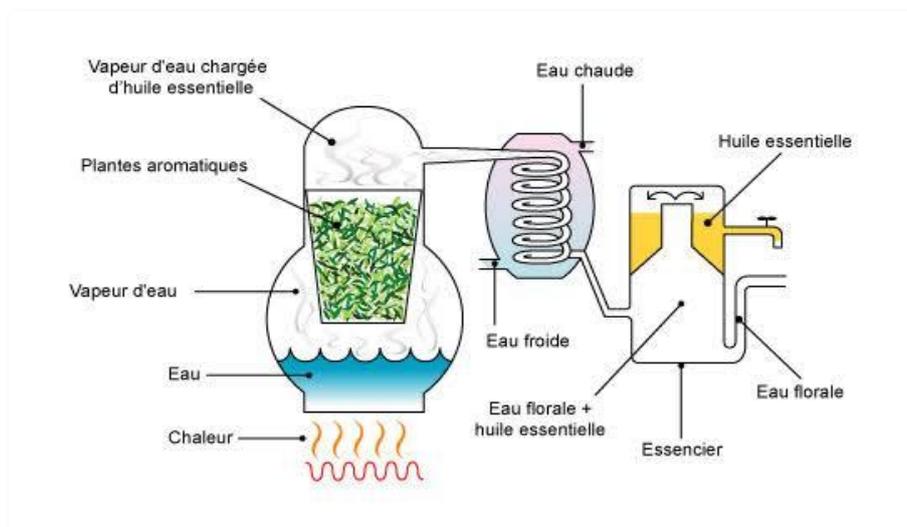


Figure I. 5: Extraction par distillation à la vapeur.

I.6.2. Hydrodistillation :

La méthode d'extraction des huiles essentielles la plus simple est l'hydrodistillation (**Figure I.6**). Son principe consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à ébullition sous pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Durant l'hydrodistillation, l'eau bouillante pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'huile essentielle contenue dans les cellules de la plante. La solution aqueuse chargée de composés volatils, diffuse ensuite à travers le tissu de l'organe végétale vers la surface extérieure où l'huile essentielle sera vaporisée. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique. À la température d'ébullition, les pressions de vapeurs combinées sont égales à la pression d'évaporation. Ainsi, les huiles essentielles, dont les points d'ébullition varient normalement de 200 à 300 °C, s'évaporent à une température proche de celle de l'eau. Le mélange est ensuite refroidi. L'eau et les HE, une fois condensées, se séparent en deux phases ^[23]. Le contact du matériel végétal avec l'eau dans cette technique engendre notamment des phénomènes d'hydrolyse. Bien que la distillation (l'hydrodistillation ou la distillation à la vapeur) soit la méthode normalisée pour l'extraction des huiles essentielles, l'effet de la chaleur peut causer des modifications chimiques et des dégradations des composants thermosensibles. Par conséquent, l'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère de l'essence originelle, d'autant plus que la durée de distillation est longue (3 heures).

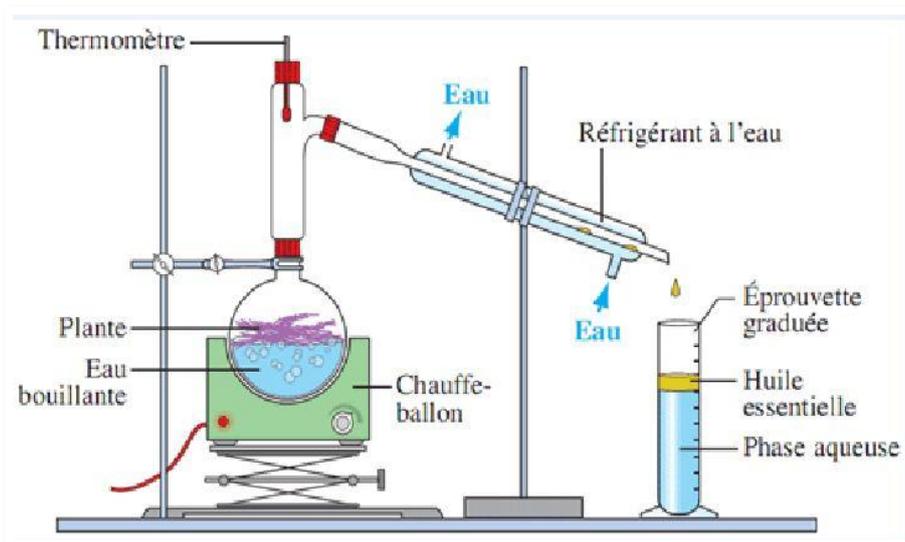


Figure I. 6: Extraction par hydrodistillation.

I.6.3. Extraction par solvant :

Ce procédé permet d'extraire les métabolites secondaires non volatiles de la plante (les extraits bruts). Elle permet de récupérer des familles chimiques variées telle que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tannins. Selon la polarité du solvant utilisé, on aura les composés apolaires, peu polaires, moyennement polaires ou polaires.

Le choix du solvant obéit à trois critères :

- ✓ Le solvant doit être liquide à la température et à la pression où l'on réalise l'extraction.
- ✓ Il doit être non miscible à la phase qui contient initialement le composé à extraire.
- ✓ Le composé à extraire doit être très soluble dans le solvant.

Les méthodes d'extraction par solvant :

I.6.3.1. Soxhlet :

C'est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion de solvant pur, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. De plus, elle ne nécessite pas de filtration après extraction et peut être utilisée quel que soit la matrice végétale. Ses inconvénients les plus significatifs sont la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée (devant être ultérieurement évaporé), et aussi L'extraction à chaud peut dégrader certaines substances chimiques, ce qui limite sa rentabilité économique et la rend peu écologique.

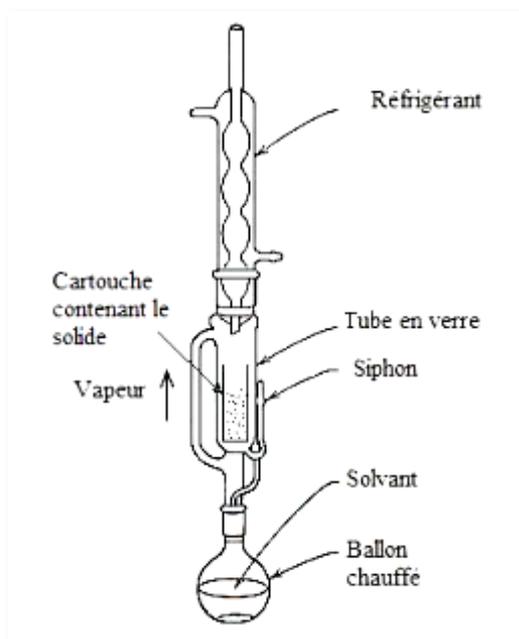


Figure I. 7:schéma d'un extracteur de Soxhlet

Tableau I. 1:Les avantages et les inconvénients des différentes méthodes d'extraction.

Méthodes	Avantages	Inconvénients
L'hydrodistillation	Rendement plus grand.	-le temps d'extraction plus long. -Plus grand quantité d'eau. -Hydrolyse des composés non saturé. -Pertes de quelques composés volatils.
L'entraînement à la vapeur d'eau	-Rendement acceptable. -Pas des réactions d'hydrolyse	
L'extraction par des solvants organique	-Rendement plus important par rapport aux autres méthodes.	-Grand volume de solvant. -Long temps de l'opération a exigé (plusieurs heures). -Reste des solvants toxique dans l'extrait. -Dégradation les composés non saturé.

I.7. Conservation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, Les huiles essentielles sont volatiles, A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, Les huiles essentielles se conservent bien à condition de ne pas les exposer à la lumière, c'est pourquoi il est recommandé de les stocker dans des flacons en aluminium ou en verre teinté et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante [24, 25, 26, 27, 28].

I.8. Le myrte :

Le myrte commun (*Myrtus communis* L) appartient à la famille des myrtacées, est une plante annuelle couvrant plusieurs aires des forêts et maquis méditerranéens, cet arbuste est très utilisé pour ses vertus médicinales et culinaires. Dans la médecine traditionnelle, les feuilles et les fruits ont été utilisés comme agent antiseptique et pour la cicatrisation des plaies ainsi que dans le traitement des maladies urinaires [29].



Figure I. 8: Planche de *Myrtus communis*.

I.8.1. Description botanique

Le myrte commun est un arbrisseau à tige ligneuse qui reste vert tout au long de l'année. De la famille des Myrtaceae qui regroupe plus de 5650 espèces, il est appelé Achelmûn en berbère et Ar-Raihan en arabe ^[30]. Il mesure de 1 à 3 mètres de haut, à tiges très ramifiées, dès la base. Ses buissons touffus et aromatiques portent des feuilles ovales, coriaces et persistantes, opposées par deux ou quelque fois par trois, ^[31]. Les fleurs blanches, fortement odorantes, sont disposées à l'aisselle des feuilles. Le fruit, noir bleuâtre à maturité, est ovoïde et charnu. Toutes les parties de la plante contiennent des poches schizogènes à huile essentielle, responsables de son odeur suave ^[32, 33, 34] (**Figure I. 9**).

Cette plante vit dans les sols humides, bien drainés, neutres à alcalins, sols limoneux, elle est tolérante à la sécheresse et peut supporter le gel jusqu'à -5°C.



Figure I. 9 : *Myrtus communis*: feuillage, fleurs et baies.

I.8.2. L'huile essentielle de myrte :

I.8.2.1. Principaux composants chimiques :

L'huile essentielle est constituée de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle. Ces molécules sont différentes selon la nature de la plante et le sol dans lequel la plante va croître, le temps de récolte, la partie de la plante, la préparation de l'échantillon, ainsi que la méthode d'extraction.

Les molécules sont formées à partir de divers atomes puisés par la plante via le sol et via sa synthèse organique. L'ensemble constitue des réactions chimiques donnant naissance aux molécules aromatiques, constituant l'huile essentielle ^[34]. La composition chimique des extraits dépend largement de l'influence des conditions du mode d'extraction sur l'essence contenue dans la plante. Les extraits ainsi que de nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont constitués principalement de composés terpéniques. Les terpènes sont très répandus dans la nature et surtout dans les plantes comme constituants des huiles essentielles (tableau I. 2).

Tableau I .2: Composition de l'huile essentielle de Myrte ^[35]

Monoterpènes	Acycliques	Myrcène Linalol Géranol
	Monocycliques	Terpinolène Terpinéol-4 α -terpinéol 1-8 cinéole Limonène
	Aromatiques	P-cymène
	Bicycliques	α -pinène β - pinène δ -3-carène α - thujène Camphène Camphre Bornéole
Sesquiterpènes		Caryophyllène α -humulène

➤ **Caractères organoleptiques :** ^[36]

- **Aspect :** liquide mobile limpide
- **Couleur :** jaune pâle à jaune orangé au vert
- **Odeur :** Montante, agreste et cinéolée

I.8.3. Usages du myrte :

➤ **Médecine traditionnelle**

Les différentes parties de la plante (Feuilles, fruits, fleurs et racines) ont été utilisées depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle pour soigner diverses maladies infectieuses. En Algérie, l'infusion des feuilles est utilisée comme remède contre les infections des voies respiratoires et des voies urinaires. Les préparations à base de cette plante sont également préconisées contre les bronchites, les sinusites, les otites, les diarrhées et les hémorroïdes. Les fruits consommés naturellement ou préparés sous forme d'infusion, constituent un remède contre la dysenterie ^[37, 38, 39, 40].

De nombreux auteurs ont signalé que le myrte et ses huiles essentielles possèdent un grand potentiel comme plante médicinale, avec des propriétés digestives et antispasmodiques, antiseptiques et pour la cicatrisation, antimicrobiennes, astringentes et tonifiantes, ainsi que ses propriétés antiparasitaires. Le myrte est très connu aussi pour ses propriétés anti-génotoxiques, en plus de son pouvoir anti-hyperglycémiant, et anti-inflammatoire ^[40].

I.9. La lavande :

La lavande appartient à la famille des Lamiacées. Ces arbustes sont célèbres pour leurs fleurs très parfumées et pour leur feuillage aromatique et persistant. On compte 39 espèces de lavandes, toutes originaires des régions sèches, ensoleillées et rocailleuses du monde ^[41]. Selon les espèces, les lavandes fleurissent en épis blancs, roses, bleus ou violets. Elles sont agréablement parfumées de mars à septembre. La lavande est une plante mellifère. Le nectar de sa fleur attire les abeilles qui en font un miel très doux, excellent pour la santé ! En fin de floraison, les épis secs restent décoratifs et parfumés et durent encore de longs mois ^[42].

Les lavandes s'intègrent à merveille dans tous les jardins et balcons dès qu'elles profitent du plein soleil. Elles sont faciles à cultiver. Leur forme arrondie et leur feuillage argenté illuminent le jardin même en plein hiver ^[43].

I.9.1. Description botanique :

A l'état sauvage, il en existe plus d'une centaine de variétés et de chémotypes différents [44]. Suivant les espèces, ce sous-arbrisseau vivace mesure de 30 à 70 cm de haut et porte des fleurs bleues, pourpres ou violettes, groupées en épis. Certains cultivars arborent des fleurs roses ou blanches. La floraison s'épanouit de Juillet à Aout, en dégageant un parfum agréable, frais, léger et fleuri [45]. Les feuilles sont étroites, sans pétiole ni dents, de couleur vert bleuté, disposées en paires opposées. Les jeunes feuilles sont souvent blanchâtres, ce qui donne à la plante sa teinte gris argenté caractéristique. Les feuilles peuvent mesurer jusqu'à 5 cm de longueur et sont à la fois amères et aromatiques. Les tiges sont courtes, dressées, très ramifiées, ligneuses à la base.



Figure I. 10: Planche de *Lavandula officinalis*

Le lavandin : Dans les lieux où les aires de répartition du lavande aspic et de lavande vraie se chevauchent on assiste souvent à des croisements de deux espèces en conséquence à l'apparition d'hybrides qui produisent une huile essentielle très appréciée dans la parfumerie industrielle [43].



Figure I. 11 : Les principales espèces de *Lavandula*:01-*Lavandula angustifolia*, 2-*Lavandula latifolia* , 03-*Lavandula stoechas* , 04- *lavandin* ^[44]

I.9.2. L'huile essentielle de lavande :

L'extraction de l'huile essentielle de lavande se fait par distillation à la vapeur d'eau. Ce processus demande patience et douceur et passe par un appareil bien connu sous le nom d'alambic. C'est à la sortie de cet alambic que se trouve un essencier qui permet d'obtenir deux produits en même temps : l'huile essentielle concentrée à la surface, et en dessous l'hydrolat (appelé aussi eau florale de lavande ou eau de lavande), qui correspond à l'eau de distillation ^[46].

L'huile essentielle qui en est extraite par distillation est jaune très claire, presque incolore et il faut 100 Kg de fleurs de lavande pour obtenir de litre d'huile essentielle.

I.9.2.1. Principaux composants chimiques :

Les huiles essentielles contenant principalement des monoterpènes, dont les constituants majeurs : acétate de linalyle (30-55%), linalol (20-35%), β -ocimène, α -terpinéol (0,3 à 1,0%), limonène (0,1 à 0,5%), cinéole (0,3 à 1,5%), camphre (0,2 à 0,3%), et sesquiterpènes (époxyde de caryophyllée). Autres constituants tel que : tanins (5 -10%), dérivés coumariniques, flavonoïdes, phytosterols, triterpènes et dérivés de l'acide rosmarinique ^[47].

➤ **Caractères organoleptiques :**

- **Aspect :** liquide limpide
- **Couleur :** transparent à jaune pâle
- **Odeur :** suave et herbacée parfois un peu âcre ^[45].

I.9.3. Usage de la lavande :

➤ **Usage cosmétique :**

En cosmétique, elle était à l'honneur chez les Romains et reprend aujourd'hui du galon, portée par l'engouement retrouvé pour les produits naturels ^[48]. L'huile essentielle de Lavande est largement employée dans l'industrie du parfum (savons, eaux de Cologne, lotions pour la peau, vernis, démaquillants...).

En parfumerie, la Lavande fixe et stabilise toutes les essences de fleurs entre elles pour éviter que le parfum ne vire. De plus, la Lavande fine est indispensable pour la tenue des parfums puis qu'elle sert de note de cœur, apparaissant entre deux et quatre heures après la pose du parfum ^[46].

➤ **Usage thérapeutique :**

En aromathérapie, c'est une panacée à elle toute seule, tant elle traite les maux les plus courants et les plus variés, même les plus incommodes ^[49]. La lavande tonifie les nerfs, calme et fait dormir ; Elle résout aussi les crampes, combat les syncopes, est vivifiante. Elle dirige dans de bonnes voies le sang qui monte à la tête, elle excite les activités métaboliques. Elle est précieuse, sous forme d'adjonction aux bains, dans la sciatique, la goutte et le rhumatisme.

➤ **Usage culinaire :**

La lavande aromatique n'est pas uniquement utilisée et cultivée à grande échelle pour la fabrication de parfums et de cosmétique, elle peut aussi servir à aromatiser des sauces, des soupes, des poissons, de la viande hachée et des ragoûts. On lui prête en outre des propriétés antiseptiques, sédatives, antidépressives et antispasmodiques ^[50, 51]. En alimentaire, la Lavande fine est la seule consommable : boissons (sirop, liqueur, limonade...), glaces, sucreries, viennoiseries et chewing-gums. Elle agrmente différentes préparations culinaires (miel, yaourts, thés, crème brûlée, confiture...).

I.10. Définition des principes actifs :

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments ^[47]. Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines ^[48].

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...) ^[49]. Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes.

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qu'on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils subdivisent en sous classe principales; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins... ^[51]. Comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes, elles ont un rôle principale à la vie de plante, à la défense contre les pathogènes; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et la protection contre les rayonnements UV; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires ^[49].

I.11. Conclusion

Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés biologiques différentes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques. Cependant, les travaux de recherche sur les propriétés antioxydante, antibactérienne et antifongique de certaines plantes sont rares. Par conséquent, l'évaluation de telles propriétés demeure une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver de nouvelles sources d'agents antimicrobiens naturels. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* des activités antibactériennes de l'huile essentielle extraite des fleurs de la Lavande et le myrte.

Références bibliographiques :

- [1] Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi Ch et Fernandez X. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *cupressus sempervirens*. *Medicinal Plant Research*. 4(10) : 959-964 (2010).
- [2] Aouadhi. S., Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. Étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Mémoire de master en toxicologie. Faculté de Médecine de Tunis (2010).
- [3] Lozniewski A., Rabaud C., Résistance aux antibiotiques, CCLIN Sud-Est juillet (2010).
- [4]. Acar J.F., Moulin G., *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 25, 775-792 (2006).
- [5] Quézel P. et Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed CNRS, Paris, France, p. 636, (1962).
- [6] Mebarki, N.; Extraction des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne »; thèse de magistère ; Boumerdes ; (2010).
- [7] Haddouchi, F et Benmansour. A., Huiles essentielles, applications et activités biologiques, application à deux plantes aromatiques, Laboratoire des Produits Naturels ; thèse de magister, Tlemcen ; (2008).
- [8] Mostafa, S. F., Extraction et caractérisation de l'huile essentielle et de quelques métabolites secondaires actifs d'une plante à caractères thérapeutiques, *Thymus vulgaris* L., et étude de quelques activités pharmacologiques; thèse de magistère ; Blida ; (2011).
- [9] Babulka, P., Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales ; La médecine traditionnelle à la Phytothérapie ; *Phytothérapie*. 5, pp 137-145, (2007).
- [10] Kateb, J., Le travail sur la culture des plantes médicinales. Edition Masson ; Paris, pp14, (1989).
- [11] Al-Saimary I.E., Bakr S.S., Jaffar T., Al-Saimary A.E., Salim H. et Al-Muosawi R. Effects of some plant extracts and antibiotics on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from various burn cases. *Saudi Med J*, 23 (7) : 802–5, (2002).
- [12] Mebarki, N.; Extraction des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne »; thèse de magistère; Boumerdes ; (2010).
- [13] Baçer, K. H. C., & Buchbauer, G. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis (2010).

- [14] Leila Lakhdar. Évaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* ; thèse de doctorat. Faculté de médecine dentaire de Rabat (Maroc); le 24 février 2015.
- [15] Laurent Julia .Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine, thèse de doctorat. Faculté de pharmacie de Marseille, 15 décembre 2017.
- [16] Burt., S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253, (2004).
- [17] Soković, M., Marin, P. D., rkić, D., & Van Griensven, L. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of ten aromatic plants against human pathogenic bacteria. *Food*, 1(2), 220–226, (2007).
- [18] Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21(9), 1199-1218, (2010).
- [19] Benkeblia, N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT - Food Science and Technology*, 37(2), 263–268, (2004).
- [20] Singh, R., Shushni, M. A. M., & Belkheir, A. Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*. DOI: 10.1016/j.arabjc.2011.01.019, (2011).
- [21] Gonthier, R., Heritier, P.h. Néphro-Urologie. Editions Collection Prép'internat, Lyon, 285 p, (1998).
- [22] Leroy, H.,Tattevin P. Infections urinaires », EMC - Traité Médecine AKO. 7, (2), 1- 6, (2012).
- [23] Vildé, J.L.,Byl, B.,Pothier, P.,Mangin, P.H .,Coloby., Davin, J.L. Infections urinaires nosocomiales de l'adulte, (2002).
- [24] Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. T. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 123-140, (2004).
- [25] Lobril., J. R. Réévaluation du modèle de croissance de Monod : effets des antibiotiques sur l'énergie de maintenance. Thèse Université de Lyon I, France. 42, 77, (1998).
- [26] Raynaud J. Prescription et conseil en aromathérapie. Editions Lavoisier. In 2006.
- [27] Baudoux D. L'Aromatherapie. Se soigner par les huiles essentielles (Amyris, Bruxelles ed.). In 2002.

- [28] Bonacorsi, S., Mariani-Kurkdjian, P., Desmarest M., Doit, C. Les entérobactéries productrices de bêtalactamase à spectre étendu en pédiatrie : Elsevier Masson SAS. Archives de Pédiatrie.21:181-182, (2014).
- [29] Baytop., T.. Le traitement par les plantes médicinales en Turquie (Past and Present) Nobel Astuce Kitapevleri Press, Istanbul (1999).
- [30] Adams, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, fourth ed., Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, USA (2007).
- [31] Botineau., M. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs; Edition Lavoisier ; pp 1025-1026,1028, (2010).
- [32] Bidet, P., Bonarcorsi, S., Bingen, E. Facteurs de pathogénicité et physiopathologie des Escherichia coli extra- intestinaux. Elsevier Masson ; Archives de pédiatrie .19 : S80-S92, (2012).
- [33] Zeghad., N, Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne, thèse de magistère, université de Mentouri ; Constantine ; (2009).
- [34] Bousbia., N ; Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, thèse de doctorat ; université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique ; (2011).
- [35] Fernandez X., Chemat F. La chimie des huiles essentielles. Editions Vuibert. 288p (2012).
- [36] AFNOR, « Recueil des normes, les huiles essentielles tome 02, (Afnor paris 2000, 661-663).
- [37] Aboutabl E.A., Meselhy K.M., Elkhreisy E.M., Nassar M.I. et Fawzi R. Composition and bioactivity of essential oils from leaves and fruits of Myrtus communis and Eugenia supraxillaris (Myrtaceae) Grown in Egypt. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 14: 2, 192-200, (2011).
- [38] Aidi Wannes W., B. Mhamdi et B. Marzouk. GC comparative analysis of leaf essential oils from two myrtle varieties at different phenological stages. *Chromatographia*, 69, No. 1/2, 145–150, (2009).
- [39] Akin M., Aktumsek A. et Nostro A. Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 9 (4), 531-535 (2010).

- [40] Aleksic V. et Knezevic P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169, 240-254, (2014).
- [41] Couplan F., 2012, Lettre d'information n°12, Rencontre avec la lavande.
- [42] Wichtl M. et Anton R., 1999, Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinales,
- [43] Saadatian M., Aghaei M., Sarahpour M. et Balouchi Z., *Global Journal of Medicinal Plant Research*, 1(2) "Chemical composition of lavender (*Lavandula officinalis* L.) Extraction extracted by two solvent concentrations", p. 214-217, (2013).
- [44] Philippe Jean-Marie, 1993, *Le guide de l'apiculture*, La Calade: Edisud.
sciences et thérapeutique, Ed. Tec et Doc.
- [45] Vialard N., 2008, *Remèdes et recettes à la lavande*, Ed. Rustica.
- [46] Kothe H.W., 2007, *1000 plantes aromatiques et médicinales*, Terres Editions.
- [47] Couplan F., 2012, Lettre d'information n°12, Rencontre avec la lavande.
- [48] Festy D. et Dupin C., 2012, *La lavande, c'est malin : Huile essentielle, fraîche ou séchée, découvrez les incroyables vertus de cette fleur, pour la beauté, la sante, la maison,...*, Ed. Leduc's.
- [49] Schauenberg P., Ferdinand P., 2006, *Guide des plantes médicinales*, Ed : Detachaux et Niestlé, p. 8.
- [50] Pelt., J. M., 1980. *Les drogues, leur histoire et leurs effets*. Édition Doin, Paris: 221.
- [51]. Benghanou., M. *La phytothérapie entre la confiance et mefiance*. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56, (2012).
- [52] SARNI-MANCHADO., P, VERONIQUE C., 2006. *Les polyphénols en agroalimentaires*. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France): 398.

Chapitre II

Matériels et méthodes

II.1. Introduction :

Ce chapitre est consacré à la caractérisation physico-chimique de deux plantes médicinales *Myrtus communis* et du *Lavandula officinalis*. Cette étude a été réalisée pendant notre stage qui s'est déroulé au niveau de département géochimie-organique à la division laboratoires de la société Sonatrach durant trois mois.

La chaîne d'analyse est commencée par une extraction des huiles essentielles des espèces végétales *Myrtus communis* et du *Lavandula officinalis*. En effet deux techniques différentes ont été utilisées à savoir l'hydro distillation et l'extraction par Soxhlet. Suivie par des mesures des propriétés physiques ; ainsi qu'une caractérisation par une méthode chromatographique et spectrométrique dont l'objectif de savoir la composition chimique des huiles extraites afin d'évaluer l'influence de chaque méthode d'extraction sur la répartition des molécules.

Dans ce chapitre on va présenter :

- Les différentes étapes de préparation de matières végétales.
- Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles
- Les différentes techniques analytiques utilisées pendant notre stage à savoir l'analyse par infrarouge ATR, la chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de la masse GCMS.
- Une étude de la propriété antibactérienne a fait également l'objet de notre travail

Le plan général adopté est décrit dans l'organigramme ci-dessous :

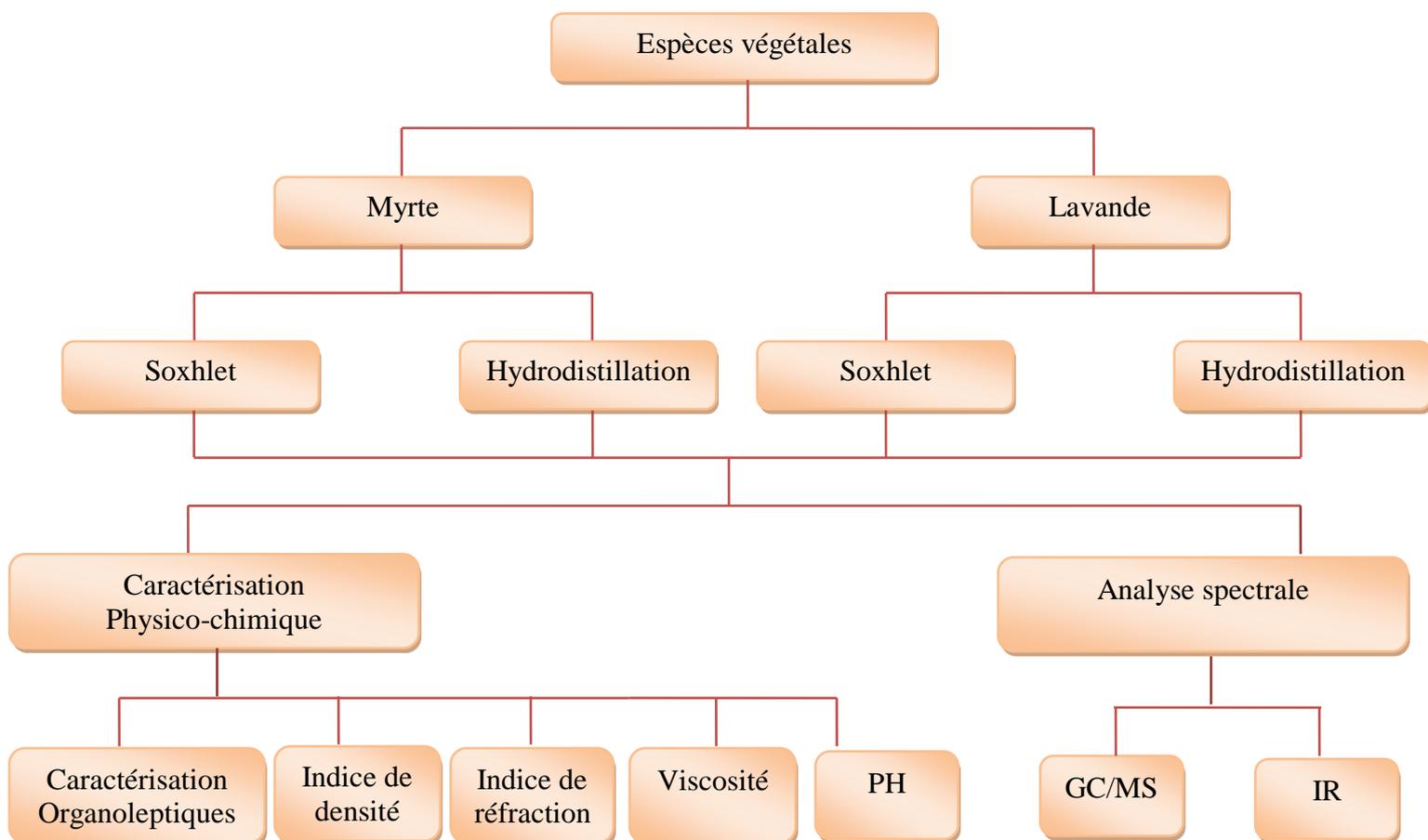


Figure II.1 : Organigramme général du plan de travail

II.2. Matériels et méthodes :**II.2. 1. Matériels végétales :**

Dans notre étude on s'est intéressé aux parties aériennes des deux plantes aromatiques d'Algérie qui sont :

- Les sommets des fleurs de la lavande, ont été récoltées au mois de mai dans la wilaya d'Alger (Ben Aknoun).
- Les feuilles du myrte, ont été récoltées au mois de juin dans la wilaya de Boumerdès (keddara).

II.2. 2. Les outils de laboratoire :

- La balance de précision
- Broyeur électrique de type FRISTSCH
- Les tamis moléculaire
- Etuve
- Agitateur magnétique
- Soxhlet
- Evaporateur rotatif
- Système Clevenger
- Une ampoule à décanter
- Dispositif de filtration
- Densimètre
- Réfractomètre
- pH-mètre
- Chromatographie en phase gazeuse couplé par spectromètre de masse (GC/MS).
- Appareil d'analyse Infrarouge

II.2. 3. Produits :

- Cyclohexane
- Hexane
- Sulfate de sodium anhydre
- Chlorure de sodium
- Eau distillé

II.3. Préparation de l'échantillon solide pour l'extraction :

❖ Séchage

Les feuilles de Myrte et les fleurs sèches de Lavande sont lavées afin d'éliminer la poussière et toutes sorte d'impuretés ; Elles sont ensuite séchées dans une étuve à température de 45°C pendant 3 jours pour le myrte, et de 60°C pendant 24h pour la lavande afin d'éliminer toute trace d'eau. (Figure II.2)



Feuilles de Myrte sèche



Fleurs de Lavande sèche

Figure II.2 : Les échantillons avant broyage.

❖ Broyage :

Les plantes sèches ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique, tamisées par un tamiseur de 0.5mm de diamètre afin d'obtenir des poudres fines homogènes. (Figure II. 3)



Poudre de myrte



Poudre de lavande

Figure II.3 : Les échantillons après broyage.

II.4. Extraction des huiles essentielles :

Il existe plusieurs procédures d'extractions des huiles essentielles, parmi elles : l'entraînement à la vapeur d'eau, l'enfleurage, l'hydro distillation, l'extraction par solvant organique et le chauffage aux micro-ondes, etc.

Dans le but d'évaluer l'influence de la technique d'extraction sur les propriétés des huiles essentielles, deux méthode ont été utilisées à savoir : L'hydro distillation et l'autre par un solvant organique utilisant un système Soxhlet.

II.4. 1.Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation :

Les extractions ont été effectuées sur la matière sèche broyée à l'aide d'un dispositif d'hydrodistillation, L'opération a eu lieu dans le laboratoire de Chimie organique de faculté de science « INIM », (**Figure II.4**)



Figure II.4 : Montage d'hydrodistillation.

Une quantité de 30g de la matière végétale sèche (feuilles de myrte et fleurs de lavande) a été introduite dans un ballon de 1L, suivi d'un ajout d'une quantité d'eau distillée. Le ballon a été ensuite déposé sur un chauffe ballon, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs d'eau chargées d'HE, ont traversé le réfrigérant, se condensent et chutent dans un erlenmeyer. Le distillat obtenu est introduit dans une ampoule à décanter afin de subir les traitements suivants :^[1]

❖ Relargage :

Nous avons ajouté 5g de NaCl et soumis le distillat à une agitation pendant deux minutes.

❖ Extraction liquide-liquide (par solvant) :

20 ml de cyclohexane a été également rajouté au distillat dans une ampoule à décanter. Ensuite, on agite, laissé stabiliser pendant 5 min, deux phase sont apparues, la phase aqueuse est éliminée tandis qu'une phase organique est récupérée comme illustré en dessous. (**Figure II.5**)



Figure II.5 : Dispositif de décantation.

❖ Séchage et Filtration :

Afin d'éliminer les traces d'eau susceptible d'être retenue dans la phase organique, un agent déshydratant (sulfate de cuivre) est rajouté. Le mélange est filtré dans un dispositif de filtration utilisant un papier Wattman 0.45 μm .

❖ Elimination de solvant :

La phase organique récupérée dans un ballon est passée dans un évaporateur rotatif afin d'éliminer le solvant utilisé (**Figure II.6**); Ce dernier est mes sous une basse pression (environ 0.5 atmosphère) pour réduire le point d'ébullition du solvant et évidemment préserver la phase organique de toutes transformation thermique.

La phase organique ainsi obtenue qui représente pratiquement l'huile essentielle de la plante est conservé dans des flacons en verre opaques fermés à une température de 4 à 6°C.



Figure II.6 : Rotavapeur.

II.4.2.Extraction des huiles essentielles par Soxhlet :

Les extractions ont été réalisées sur une matière sèche broyée au niveau du laboratoire de la Géochimie-organique C.R.D.

L'extracteur Soxhlet est un dispositif spécialement conçu pour l'extraction continue solide liquide (solvant). Cependant, une cartouche en cellulose remplie de matière végétal est placée dans un réservoir à siphon surmonté d'un réfrigérant. Le solvant (5 à 10 fois la quantité de l'échantillon solide à extraire) versé préalablement dans un ballon porté à la température d'ébullition est vaporisé puis se condensé formant des gouttelettes.

Les gouttelettes s'accumulent dans le réservoir tout en restant en contact avec le matériel végétal. Le niveau de la solution augment jusqu'à atteindre le siphon où il sera déverser dans le ballon. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en solutés à chaque cycle d'extraction et le matériel végétal est toujours en contact avec le solvant.

L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair. ^[1]
(Figure II.7)



Figure II.7 : Montage Soxhlet

Mode opératoire

Nous avons versé dans des ballons de 500 mL à fond arrondi, portées à des températures 82°C et 70 °C respectivement ; 400 ml de cyclohexane (lavande) et l'hexane (myrte) servent comme solvants. D'autre part, nous avons pesé 30g de matière végétale sèche de feuilles de myrte et de fleurs de lavande dans des cartouches en cellulose. Elles sont ensuite introduites dans le dispositif Soxhlet.

La durée d'extraction de Lavande est en moyenne de 72 heures et le myrte jusqu'à 6 heures. L'extraction s'est terminée lorsque le solvant est apparu incolore dans le Soxhlet, Le mélange est filtré puis concentré dans l'évaporateur rotatif par l'élimination du solvant. En revanche les extraits restants qui représentent les huiles essentielles de deux plantes sont conservés dans des flacons stériles.

II.5. Calcul du rendement :

Le rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse de la matière végétale utilisée.

$$R_{HE} = (M_{HE} / M_{MV}) \times 100$$

- R_{HE} : Rendement en huile essentielle (%)
- M_{HE} : Masse de l'huile essentielle (g)
- M_{MV} : Masse de la matière végétale (g)

II.6. Caractéristiques des huiles essentielles :

Afin d'évaluer la qualité et la composition des huiles essentielles extraites lors de cette étude, des analyses ont été menées pour déterminer leurs propriétés organoleptiques et physico-chimiques, ces propriétés constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE.

II.6.1. Caractéristiques organoleptiques :

L'évaluation des propriétés organoleptiques constitue généralement une partie des études visant à analyser les facteurs qui affectent la qualité de l'HE ^[2]. Dans cette étude, trois critères sont considérés pour évaluer la qualité organoleptique :

- L'odeur.
- La couleur.
- L'aspect.

II.6.2. Identification des propriétés physico-chimiques :

Les propriétés physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle.

II.6.2.1. Propriétés physiques :

❖ Indice de réfraction :

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante ^[3].

L'indice de réfraction n'a pas d'unité puisque c'est un rapport de deux vitesses. Cependant, Plus la lumière n'est pas ralentie, plus l'huile aura un indice de réfraction élevé. L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. Il est supérieur à celui de l'eau à 20°C d'une valeur de 1.3356, Ceci peut s'expliquer par leur richesse en composants qui devient polarisées lors d'un passage de la lumière.

Après une calibration du réfractomètre (comme illustré en dessous **Figure II.8**)



Figure II.8 : Réfractomètre.

❖ **Densité relative :**

La densité de l'huile essentielle correspond au rapport de la masse d'un certain volume de l'huile et la masse du même volume d'eau prises à la même température. Ce paramètre a été mesuré à l'aide d'un densimètre. (**Figure II.9**)



Figure II.9 : Densimètre.

❖ Viscosité :

La viscosité d'un fluide est la résistance à l'écoulement uniforme ^[3]. Elle se mesure avec un viscosimètre capillaire.

II.6.2.2. Propriétés chimiques :**❖ pH (potentiel hydrogène) :**

Le pH mesure l'activité chimique des ions H^+ en solution, plus couramment, le pH mesure aussi l'acidité ou la basicité d'une solution, ce paramètre est très important pour déterminer la qualité de notre huile ^[4].

Son principe consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans l'échantillon après le réglage de la température d'étalonnage. La lecture se fait directement sur le pH-mètre (**Figure II.10**).



Figure II.10 : pH-mètre.

II.7. Analyse des huiles essentielles :

Une fois l'huile essentielle est extraite, L'analyse chimique des HE permet de caractériser les molécules qui les composent. Les deux techniques qui ont été utilisées sont : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de la masse CGSM et la spectroscopie d'infrarouge. Ces analyses ont été réalisées au laboratoire de département de la Géochimie –organique et de l'environnement au C.R.D.

II.7.1. Le couplage chromatographie - spectrométrie de masse (CPG/SM) :

C'est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM [5].

Le couplage GC/SM en mode impact électronique (SM-IE) est la technique la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Il permet de séparer les composants de l'échantillon et d'identifier chaque composant, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation [6].

Principe :

❖ Chromatographe en phase gazeuse :

La CPG s'est montrée d'être la méthode appropriée pour la séparation et l'identification des composants d'un soluté, elle réalise à la fois une analyse qualitative et quantitative. Elle est basée sur le principe de la chromatographie de partage ou d'adsorption. Le chromatographe est constitué de quatre modules principaux : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur.

L'injecteur est une zone chauffée portée à une température supérieure à celle d'ébullition d'un échantillon qui est introduit en solution au moyen d'une micro-seringue soit manuellement, ou bien automatiquement qui permet d'obtenir une meilleure reproductibilité. Le soluté est donc vaporisé et entraîné par un gaz vecteur (dans notre cas l'Hélium) sert une phase dite mobile. Elle assure le transport des constituants de l'échantillon depuis l'injecteur jusqu'au détecteur à travers une colonne capillaire.

Il existe des familles d'injecteurs, le premier regroupe les injecteurs dits à fuite. Le mode d'injection le plus répandu est l'injection en **split** ou injection avec division de flux, il est utilisé pour l'analyse de solutions concentrées [7].

La seconde famille regroupe les injections sans fuite. L'injection **splitless**, ou sans division de flux, elle est utilisée quand le soluté est peu concentré.

Les constituants sortent de l'injecteur traversant un tube en quartz appelé LINER, son rôle est la filtration de soluté grâce à une couche de laine de verre, et l'acheminement de ce dernier pour s'assurer son déplacement jusqu'à l'entrée de la colonne.

Il existe deux types de colonne : les colonnes capillaires et les colonnes remplies. Le choix de la colonne est un critère très important ; en effet la colonne doit avoir une phase stationnaire d'une polarité de même nature que de soluté afin de le retenir. Les dimensions de la colonne ont également une influence majeure sur la séparation des molécules.

La colonne est placée dans un four à une température programmable. Une augmentation suivant les températures d'ébullition de substances qui constitués le soluté améliore la séparation. En effet chaque substance volatilisée pourra être traversé la colonne entraînée par le gaz vecteur. Les constituants se séparent selon leur affinité envers la phase stationnaire.

A la sortie de la colonne, les constituants traversent un compartiment appelé la ligne de transfert avant d'être introduits dans le détecteur

Le détecteur donne un signal au passage de chaque constituant, sans interaction avec le gaz vecteur. Le gaz pénètre dans une flamme obtenue par combustion d'hydrogène et d'air.

❖ **Détecteur de la spectrométrie de masse :**

Lorsqu'un composé moléculaire est soumis à l'analyse par spectrométrie de masse, un processus à plusieurs étapes est initié. Les étapes ainsi distinguées sont résumées comme suit :

- **Ionisation :** Les molécules présentes dans l'échantillon à l'état gazeux sont ionisées sous l'impact d'un faisceau d'électron le plus souvent d'une énergie de 70 eV. Sous l'action de l'énergie qui leur a été fournie, les ions se fragmentent, c'est à dire que les molécules se coupent en plus petits morceaux.
- **Accélération :** Les fragments ionisés ainsi formés, sont évacués vers le détecteur passant par le quadripôle ; poussés par le vide crée a l'aide de turbo pompe et la pompe sous vide.
- **Séparation :** les ions sont alors triés suivant leur rapport leur masse/charge dans le quadripôle qui présente un phénomène d'attraction sous l'action d'un champ magnétique.
- **Détection :** Après séparation, les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées.

- **Traitement du signal** : le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leur rapport masse/charge.

L'appareillage de spectrométrie de masse comprend donc trois parties principales (**Figure II.11**) :

- Une chambre d'ionisation ;
- Un système analyseur pour la séparation des ions (le quadripôle).
- Un ensemble de détection, d'amplification et d'enregistrement.

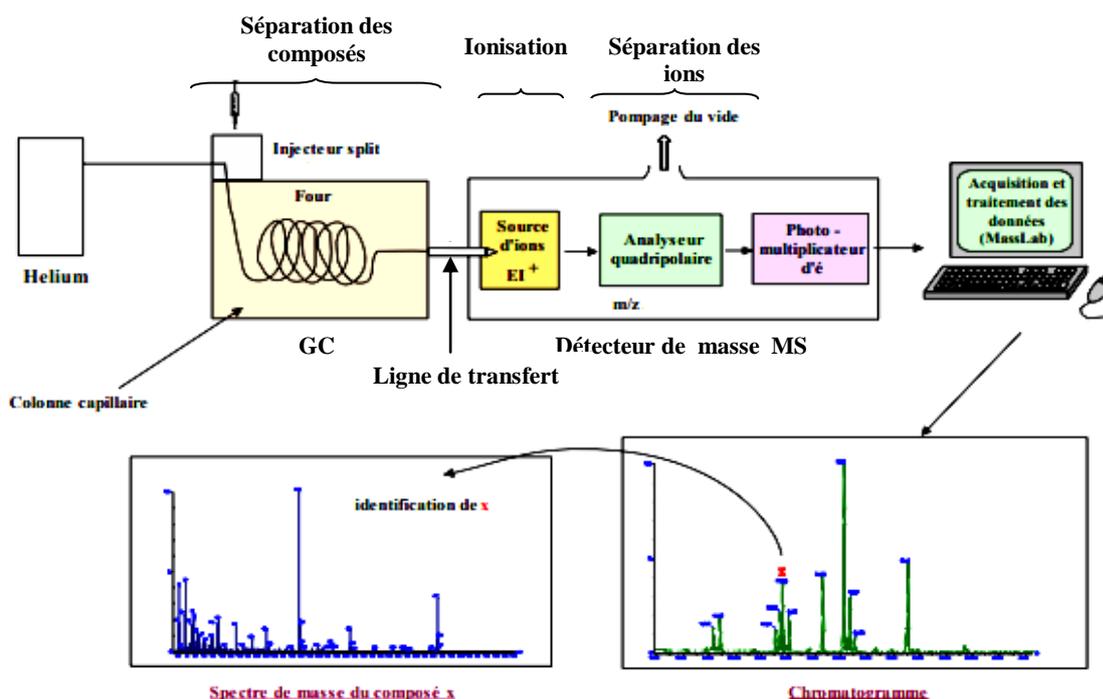


Figure II.11 : Schéma d'un chromatographe en phase gazeuse - spectrométrie de masse.

➤ L'huile de lavande :

La séparation et l'identification des différents composés chimiques des huiles essentielles extraites des fleurs de lavande ont été réalisées par la chromatographie en phase gazeuse Agilent Technologies 7890 B, couplée à un spectromètre de masse de type Agilent Technologies 5977 A (**Figure II.12**).

Une colonne capillaire utilisée greffée d'une phase stationnaire HP-5 (crosslinked 5% phenyl 95 % méthyl sicloxane) de 30 m de longueur ; 0,25µm d'épaisseur de film ; 250µm diamètre intérieur.

La température de la colonne est montée de 60 °C à raison de 2 °C/min jusqu'à 250 °C,

elle est maintenue pendant 5 mn La température de l'injecteur est fixée à 250 °C.

Le débit du gaz vecteur (Hélium) est fixé à 1ml/min. Le volume de l'échantillon injecté est de 1µl avec un rapport de division 1:200 .La température de la ligne de transfert est fixé à 280°C. La température de la source d'ions et celle du quadripôle ont été fixé à 230 et 150 °C respectivement d'mode impact électronique (EI) avec une énergie d'ionisations de 70 eV. Les constituants de l'huile essentielle ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux répertoriés dans une bibliothèque de type (NIST-MS).

➤ **L'huile de Myrte**

La séparation et l'identification des différents composés chimiques des huiles essentielles extraites des feuilles de Myrte ont été réalisée par un chromatographe en phase gazeuse (gazeuse Agilent Technologies7890 B) couplé à un modèle MS Agilent Technologies 5977 A. La séparation de l'huile essentielle constituants chimiques a été effectuée avec une colonne équipée HP-5 MS capillaire silice fondue (30 m x 0,25 mm, l'épaisseur de film 0,25 µm).

Le 5% -phényl-méthylpolysiloxane a été utilisé pour l'analyse de l'huile essentielle. La température de la colonne a été programmée à chauffer de 70 à 280°C avec une augmentation de 3°C/min. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit de 3ml/min. La température de l'injecteur a été fixée à 250°C. Un volume d'échantillon de 1 µl a été injecté dans la colonne en utilisant le mode de partage (rapport de division de 1 :96.9). La détection GC / MS a été effectuée par un système d'ionisation des électrons avec une énergie d'ionisation de 70 eV. La quantité relative des composants individuels de l'huile totale a été exprimée en pourcentage d'aire du pic par rapport à la somme de pic totale.

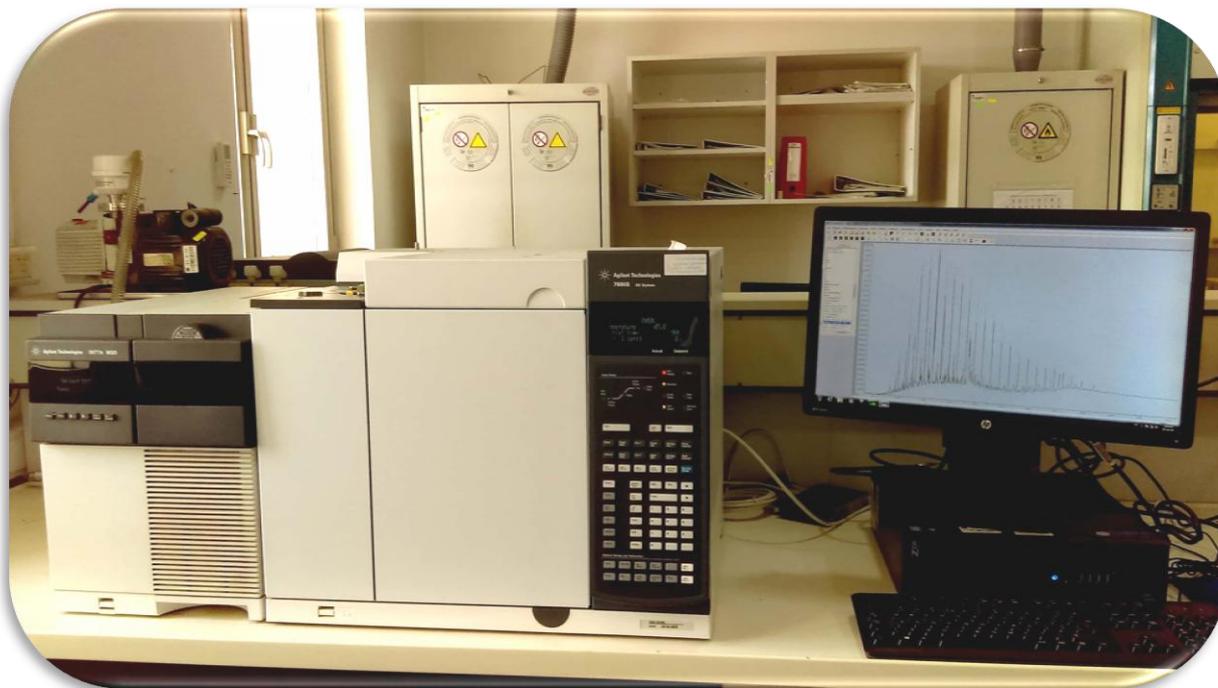


Figure II.12 : Appareil d'un chromatographe en phase gazeuse -spectrométrie de masse

II.7.2. Spectroscopie infrarouge :

La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse précisée, et couramment utilisée par les chimistes, elle permet de déterminer et identifier les groupements fonctionnels présents dans un échantillon. L'échantillon est traversé par une lumière complexe et on détermine quelle radiation manque à la sortie. C'est-à-dire quelles fréquences ont été sélectivement absorbées par l'échantillon.

L'absorption de transition infrarouge IR d'une certaine longueur d'onde indique la présence d'un groupe donné d'atome dans une molécule de structure inconnue. Dans l'IR l'observation d'une bande d'absorption à une longueur d'onde spécifique provoque l'identité d'une liaison ou d'un groupe de liaison particulière dans une molécule^[5].

Le domaine infrarouge entre 4000 et 400 cm^{-1} correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules^[5].

Principe ATR :

Lorsqu'on irradie un cristal (Ge, ZnSe, CaF_2 ...) d'indice de réfraction supérieure à celui de la source d'irradiation, on crée une onde à la surface de ce dernier. Si on place un liquide sur la surface de ce cristal, ce dernier peut absorber une partie de, car le champ électrique de l'onde créée passe à travers une petite partie de la surface du liquide, ce qui

provoque des absorptions partielles des radiations puis dirigé vers le détecteur, Afin que le détecteur reçoive un signal^[9]

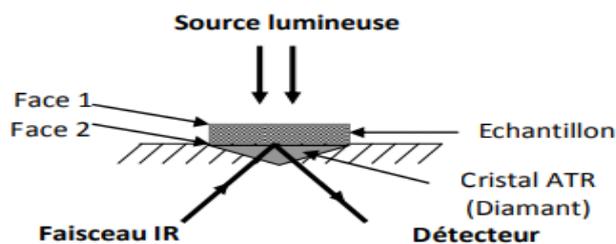


Figure II.13 : Schéma du dispositif d'irradiation en analyse IR-ATR.

Mode opératoire

Les analyses par spectroscopie IR-ATR ont été réalisées sur un spectromètre de marque Shimadzu, assisté par un ordinateur, muni d'un logiciel.



Figure II.14 : Appareil d'analyse Infrarouge.

L'équipement a été calibré, après le nettoyage de la zone de dépôt par le méthanol afin d'éliminer les traces de l'échantillon précédent, une quantité de celui-ci a été mise dans le diamant cellulaire d'infrarouge afin de l'analyser.

II.8. Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile de lavande et l'huile de myrte :

Quelques colonies microbiennes ont été enrichies sur un milieu de culture gélosé (GN), des disques d'huiles essentielles ont été déposés. Après une incubation des boîtes à 37°C pendant 24h, la présence d'halo translucide autour du disque confirme la présence de l'activité antimicrobienne. Une réponse n'est positive que si le diamètre d'inhibition est $\text{Ø} > 8$ mm.

Références bibliographiques :

- [1] Willem JP., 2004. Les huiles essentielles, Médecine d'avenir. Ed, Dauphin, Paris. P: 311.
- [2] J., M., Lardry., V. Haberkorn. L'aromathérapie et les huiles essentielles, Kinesither Rev,(61):14-7, (2007).
- [3] M., Werner. Les huiles essentielles : réveil du corps et de l'esprit. Éditions Vigot, collection Santé Bien-être, 95 pages, (2002).
- [4] T., Telphon.. ABC des huiles essentielles. Éditions Grancher, 2003. 358 pages.
- [5] J., V., Johnson; R. A. Yost; P. E. Kelley; D. C. Bradford. Anal. Chem. 1990, 62, 2162-2172.
- [6] R., L., White; C., L., Wilkins. Anal. Chem. 1982, 54, 2211-2215.
- [7] J., N., Louris; R., G., Cooks; J., E., P., Syka; P., E., Kelley. Anal. Chem. 1987, 59, 1677-1685.
- [8] J., V., Johnson; R., A., Yost. Anal. Chem. 1985, 57, 758A-768A.

Chapitre III

Résultats et discussions

Ce chapitre est consacré à la discussion des résultats obtenus au cours de notre étude. On s'est intéressé en premier lieu à évaluer l'influence des méthodes d'extraction à savoir l'hydrodistillation et celle par soxhlet ; sur le rendement des huiles essentielles. On est passé par la suite à la caractérisation physico-chimique et spectroscopique des huiles extraites.

III.1.Rendement en huiles essentielles:

Les résultats du calcul exprimés en pourcentage de rendement d'extraction en huiles essentielles de Lavande et de Myrte sont présentés dans le (**Tableau III.1**).

Tableau III.1: Rendements en huiles essentielles des plantes étudiées

	Méthodes d'extraction	
	HE-HD	HE-Soxhlet
Rendements %		
Lavande	13.63%	16.66 %
Myrte	10.06 %	13.33 %

Le rendement moyen en huiles essentielles a été calculé par rapport à la matière végétale sèche. Les plantes étudiées *Lavandula vraie* et *Myrtus commin* ont des rendements différents, ces différences peuvent être influencées par de nombreux facteurs y compris la teneur en huile extractible, la technique d'extraction, les caractéristiques physiques, et la composition chimique des huiles essentielles ^[1].

Référant aux résultats obtenus, il a été remarqué que le rendement de la lavande soxhlet (16,66 %) est supérieur à celui de lavande HD (13,63 %), et myrte soxhlet (13.33%) est supérieur à celui de myrte HD (10.06), il a été constaté donc, que le rendement obtenu par soxhlet est plus important que celui obtenu par hydrodistillation.

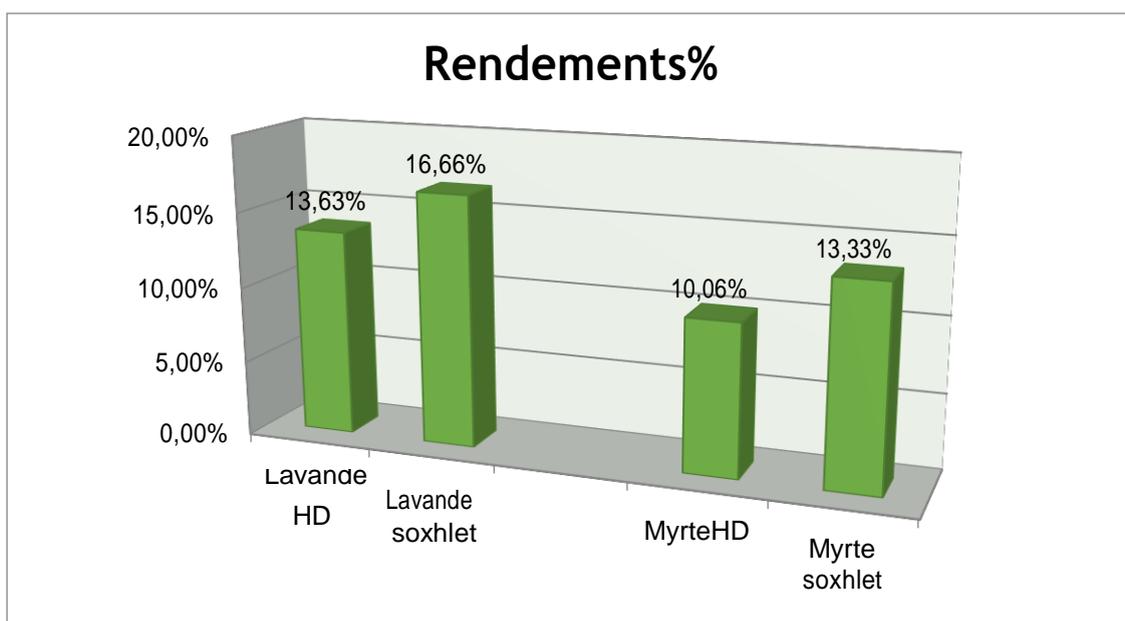


Figure III.1: Comparaison des rendements des deux procédés d'extraction.

III.2. Propriétés organoleptiques :

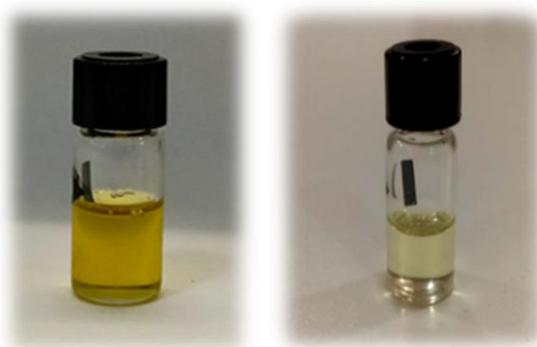
Les résultats des Propriétés organoleptiques sont regroupés dans les tableaux **III.2** et **III.3** :

Tableau III.2 : Propriétés organoleptiques des huiles selon AFNOR

	HE de lavande	HE de myrte
Propriétés organoleptiques		
Couleur	Jaune pâle-incolore	Jaune orangé au vert
Odeur	Herbacée, florale, sauve	Herbacée caractéristique
Aspect	Liquide mobile limpide	Liquide mobile limpide

Tableau III.3 : Propriétés organoleptiques des HEs de Lavande extraites par HD et par Soxhlet.

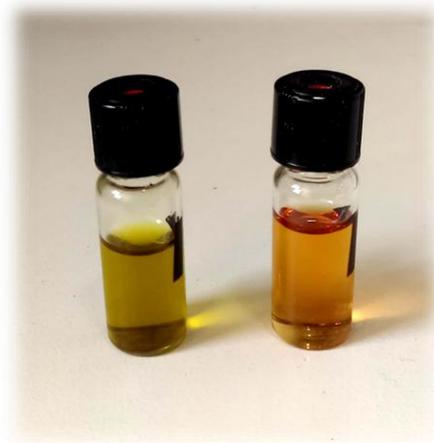
	Méthode d'extraction	
	HE-HD	HE-Soxhlet
Propriétés organoleptiques		
Couleur	Jaune pâle	Jaune verdâtre
Odeur	Florale, fraîche, sauve	Herbacé caractéristique
Aspect	Liquide mobile	Liquide limpide



(1) (2)
Figure III.2 :(1) HE-Soxhlet, (2) HE-HD

Tableau III.4 : Propriétés organoleptiques des HEs de myrte extraites par HD et par Soxhlet.

	Méthode d'extraction	
	HE-HD	HE-Soxhlet
Propriétés organoleptiques		
Couleur	Jaune orangé	Vert
Odeur	Herbacé	Herbacé
Aspect	Liquide mobile	Liquide limpide



(1) (2)

Figure III. 3 :(1) HE-Soxhlet, (2) HE-HD

Discussion

Une observation visuelle des huiles obtenues par les deux différents procédés d'extraction nous a permis de remarquer que la couleur se différencie d'une technique à l'autre. En outre les huiles essentielles ont une forte et persistante odeur.

- L'huile essentielle de lavande est un liquide mobile, limpide de couleur jaune pâle (HD) au jaune verdâtre (Soxhlet) d'odeur caractéristique lavandée fraîche.
- L'huile essentielle de myrte est un liquide, limpide de couleur jaune orangé (HD) au vert (Soxhlet) d'odeur herbacée caractéristique.

III.3.Paramètres physico-chimiques :

Les constantes physico-chimiques des huiles essentielles extraites par HD et Soxhlet, ont été déterminées selon les normes AFNOR. Les valeurs suggérées sont décrites dans le tableau (**Annexe**).

Les résultats de la mesure des constantes physico-chimiques sont compilés dans le tableau suivant :

Tableau III.5 : Propriétés physico-chimiques des HEs extraites par HD et par Soxhlet.

Propriétés physico-chimiques	Méthode d'extraction	
	HE-HD	HE-Soxhlet
Densité (20 °C)		
Lavande	0.8820	0.8795
Myrte	0.8829	0.8895
Indice de réfraction (20 °C)		
Lavande	1.4577	1.4514
Myrte	1.4692	1.4684
Viscosité(Pa.s× 10-3)		
Lavande	4.502	4.617
Myrte	3.469	3.501
pH		
Lavande	5.82	5.74
Myrte	4.08	3.5

Les résultats obtenus des propriétés physicochimiques indiquent que les huiles analysées sont conformes aux normes AFNOR.

❖ La densité.

La détermination de la densité d'une huile peut nous renseigner sur sa pureté. La mesure de la densité à une température de 20°C enregistre une valeur de 0.8820 d'HE de la lavande extraite par HD et de 0.8795 pour celle de Soxhlet.

D'après ces résultats, il a été déduit que l'HE de lavande extraite par hydrodistillation est plus dense que celles obtenue par Soxhlet, néanmoins l'HE de myrte obtenu par hydrodistillation est moins dense.

❖ L'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 [2].

L'huile essentielle de lavande extraite par HD donne une valeur de 1.4577 d'indice de réfraction ; elle est plus forte que celle obtenue par soxhlet qui est de 1.4514. De même l'HE de myrte a donnée des valeurs de 1.4692 et 1.4684 respectivement. Ceci montre la richesse en monoterpènes des huiles extraites par l'hydrodistillation.

❖ Viscosité

La viscosité d'un liquide, est un paramètre très important à déterminer, elle représente la capacité d'écoulement sur une surface uniforme.

❖ pH

La mesure de pH a mené de déduire que les huiles de lavande et de myrte obtenus par hydrodistillation et soxhlet sont presque acide (**pH= 7**). Cette acidité probablement due à la composition chimique des HEs, qui se sont considèrent comme donneur des H⁺.

Discussion

Les résultats d'analyses physicochimiques indiquant la conformité des échantillons aux normes AFNOR. Les paramètres physico-chimiques des l'huiles essentielle lavande et de myrte se différent suivant la technique d'extraction utilisée. Les valeurs obtenues, témoignent l'influence de la technique d'extraction sur les caractéristiques des huiles essentielles, ces paramètres étant influencées aussi par les conditions édaphiques et climatiques ainsi que les conditions de cultures des plantes, il est logique que leurs valeurs diffèrent d'un endroit à l'autre. Les résultats indiquent que les paramètres physico-chimiques des échantillons analysés se retrouvent dans les fourchettes de références établies par les normes.

III.4. Les méthodes d'identification chimique des huiles essentielles

Les propriétés physico-chimiques précédemment déterminées restent toujours non suffisantes pour établir l'identité des huiles, il a été donc nécessaire d'en faire des analyses plus précises et plus fiables tels que les méthodes chromatographiques et spectroscopiques. Ces méthodes recommandées permettent la séparation et l'identification des constituants des huiles essentielles.

III.4.1. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CG/SM)

Les huiles essentielles récupérées selon les deux procédés d'extraction HD et Soxhlet ont été analysées par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM). Les chromatogrammes obtenus ont permis d'identifier et quantifier les différents constituants des huiles essentielles de lavande et de myrtes.

❖ Composition chimique l'huile essentielle de lavande HD

Le chromatogramme obtenu par l'analyse GCMS ainsi que les résultats des différents composés chimiques regroupés dans le tableau III.7 sont présentés en dessous.

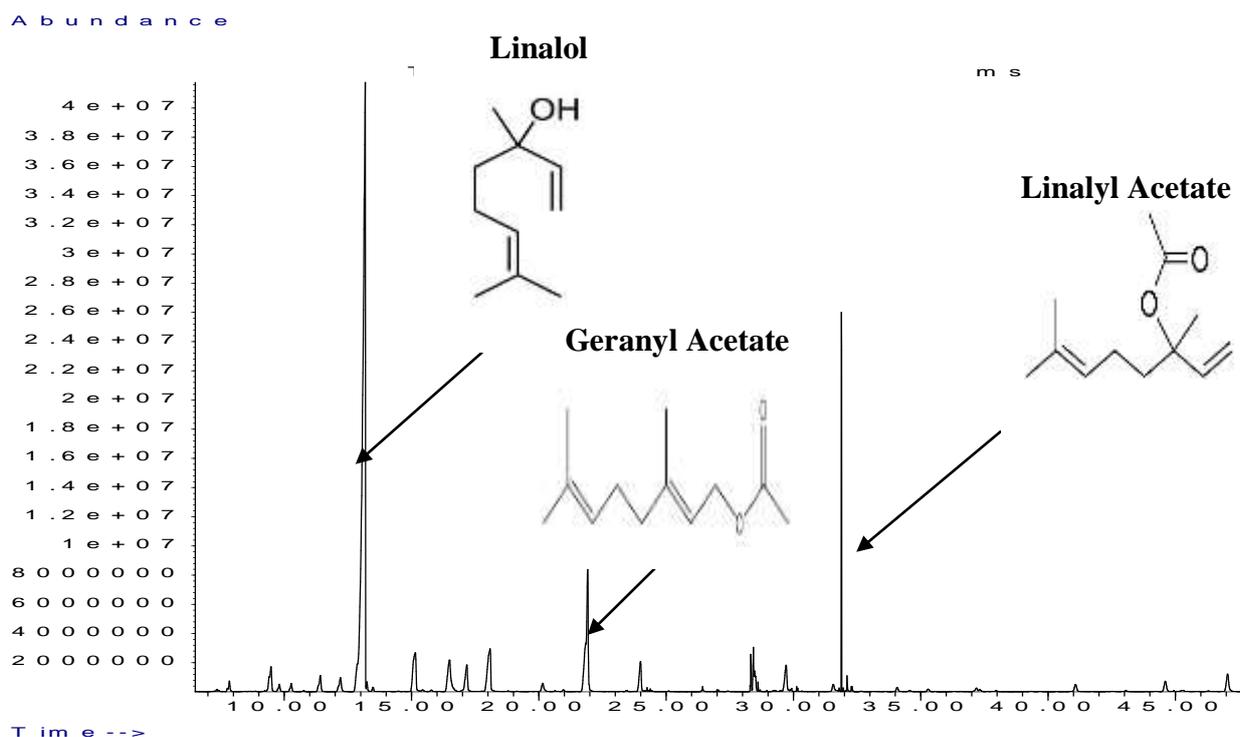


Figure III. 4 : Chromatogramme de l'HE de Lavande HD

Tableau III.6 : Résultats d'analyse de l'HE de Lavande

Pic	Temps de rétention	Composés	Type	Pourcentage (%)
1	7.842	β -Myrcene	M H	0.585
2	9.477	Z- β -ocimène	M H	1.938
3	9.805	α -Pinene	M H	0.422
4	10.275	γ -terpinene	M H	0.468
5	11.415	trans-Linalooloxide	M O	1.133
6	12.204	Cis-Linalooloxide	M O	1.123
7	13.176	Linalool	M O	57.240
8	13.246	E-Limoneneoxide	M O	0.232
9	15.149	Camphor	M O	3.968
10	16.488	endo- Borneol	M O	3.522
11	17.169	4-Terpineol	M O	1.856
12	18.082	Camphene	M H	4.499
13	20.150	Geraniol	M O	0.650
14	21.916	GeranylAcetate	autre	9.454
15	23.992	LavandulylAcetate	autre	1.957
16	28.425	Lavandulol	M O	0.732
17	29.710	β -caryophyllene	S H	1.838
18	31.885	LinalylAcetate	autre	5.404
19	37.187	β -Pinene	M H	0.207
20	41.078	α -Caryophyllene	S H	0.528
21	44.604	t-Cadinol	S O	0.816
22	47.054	β -Bisabolene	S H	1.426
Monoterpènes	Monoterpènes hydrocarbonés (%)		8.119	78.575
	Monoterpènes oxygénés (%)		70.456	
Sesquiterpènes	Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)		3.792	4.608
	Sesquiterpènes oxygénés (%)		0.816	
Autre composés			16.815	16.815
Total (%)			99.998	

L'analyse par GC/MS de l'huile essentielle extraite à partir des fleurs de lavande a permis d'identifier 22 composés qui représentent 99.998 %. Il a été remarqué que l'huile est nettement dominée par les monoterpènes qui constituent 78.575% notamment monoterpènes oxygénés avec un taux de 70.456%. Le Linalool est présent Parmi les composés majoritaires avec une abondance de 57.24%, le Camphor et le endo-Borneol en 3.522%. 3.968% respectivement.

Les monoterpènes hydrocarbonés ne représentent que 8.119% possèdent comme composé majoritaire le Camphène à 4.499%.

Les sesquiterpènes sont faiblement concentrés avec une teneur de 4.608% divisés entre sesquiterpènes oxygénés à 0.816%, et les sesquiterpènes hydrocarbonés 3.792%.

Le reste des composés représente un pourcentage de 16.815% par rapport à l'ensemble des constituants comporte des monoterpéniques tel que le gernayl acétate avec un taux de 9.454%, suivi par le linalyl acétate de 5.404%.

❖ Composition chimique l'huile essentielle de lavande Soxhlet

Le chromatogramme obtenu par l'analyse GCMS ainsi que les résultats des différents composés chimiques regroupés dans le tableau III.8 sont affichés en dessous.

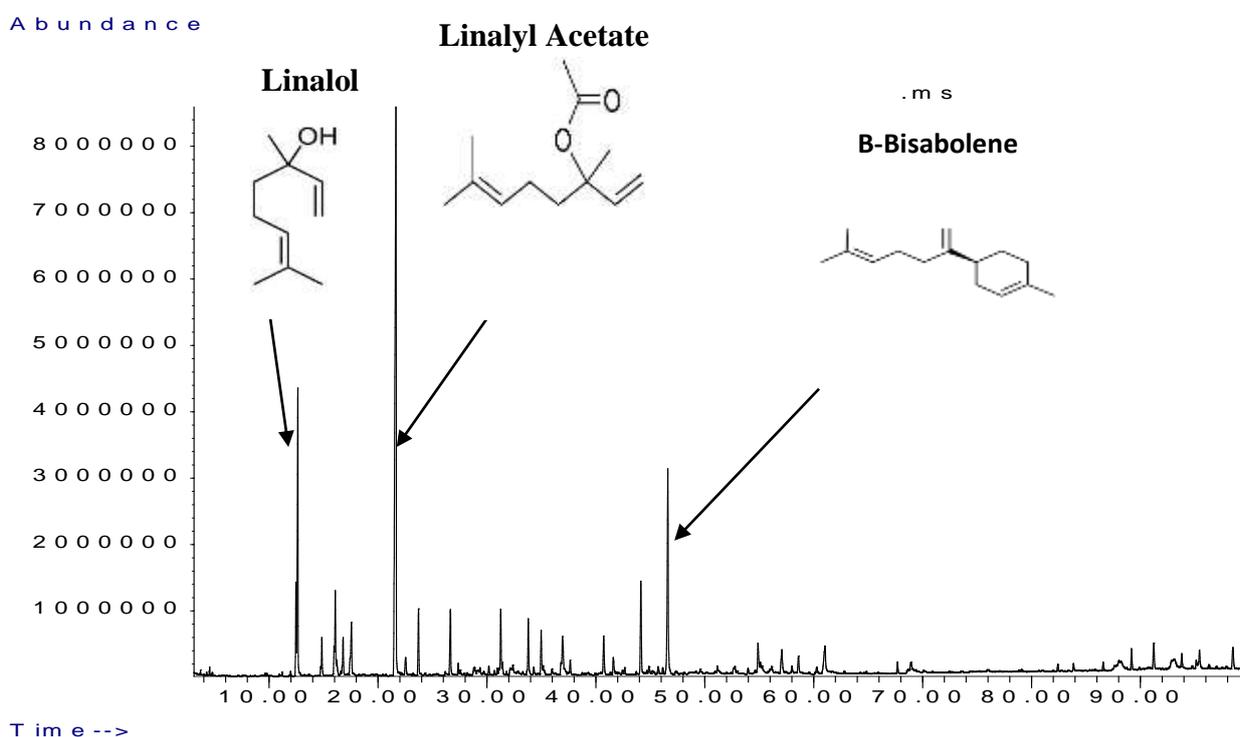


Figure III. 5 : Chromatogramme de l'HE de Lavande Soxhlet

Tableau III.7 : Résultats d'analyse de l'HE de Lavande Soxhlet

Pic	Temps de rétention	Composés	Type	Pourcentage (%)
1	12.461	β -Linalol	M O	2.137
2	12.635	Linalol	M O	9.951
3	14.839	Camphor	M O	1.113
4	15.962	Borneol	M O	0.252
5	16.073	Endo-Borneol	M O	2.171
6	16.213	Lavandulol	S O	0.244
7	16.792	4-Terpineol	M O	1.556
8	17.554	Limonène	M H	2.911
9	21.641	LinalylAcetate	autre	35.794
10	23.711	LavandulylAcetate	autre	4.697
11	26.646	E-Limoneneoxide	M O	3.068
12	31.264	β -caryophyllene	S H	2.527
13	33.793	E- β -Farnesene	S H	2.434
14	34.974	Germacrene D	SH	1.675
15	36.938	Naphthalene	autre	1.081
16	37.641	β -Pinene	M H	0.507
17	40.720	CaryophylleneOxide	SO	1.962
18	41.601	α -Caryophyllene	S H	0.914
19	44.130	t-Cadinol	SO	4.323
20	46.607	β-Bisabolene	SH	10.950
21	54.882	α -humulène	S H	1.257
22	57.075	Bornylacetate	autre	1.719
23	58.600	Z- β -Farnesene	SH	0.903
24	61.038	Cis- α -Bergamontene	SH	2.505
25	67.692	Trans- α -Bergamontene	SH	0.545
26	91.212	GeraniolAcetate	autre	1.545
27	95.427	Trans-GeranylGeraniol	autre	0.957
Monoterpènes	Monoterpènes hydrocarbonés (%)		3.418	23.836
	Monoterpènes oxygénés (%)		20.248	
Sesquiterpènes	Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)		23.71	30.239
	Sesquiterpènes oxygénés (%)		6.529	
Autre composés			48.093	48.093
Total (%)			99.865	

L'analyse par GCMS a permis d'identifier 27 composés représentant 99.865% de l'huile. Elle est constituée de 23.836% de monoterpènes dont les monoterpènes oxygénés représentent 20.248% de la totalité, dominées par le Linalool avec un pourcentage de 9.951% ; le E-Limoneneoxide de 3.068%, et de endo-Borneol à 2.171%.

Les sesquiterpènes sont trouvés avec une quantité de 30.239%. Les sesquiterpènes oxygénés n'excèdent pas 6.529% constitués principalement du T-Cadinol de 4.323%. Les sesquiterpènes hydrocarbonés sont plus concentrés représentant 23.71%, contenant essentiellement le β -Bisabolene à 10.950 %, et le Limonène à 2.911%.

D'autres composés ont été détectés représentant 16.815% appartenant à la famille des esters monoterpéniques composés majoritairement de Linalyl acétate avec un pourcentage de 35.794%, le lavandulyl acétate de 4.697 %, et le gernayl acétate 1.545%.

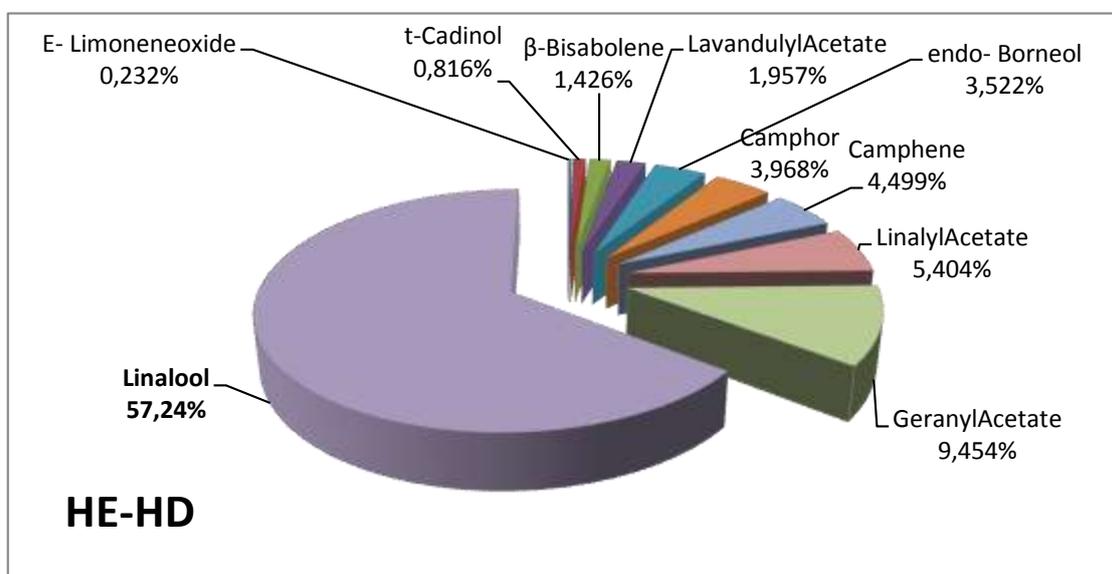


Figure III.6: Répartition en % des principaux composés de l'HE de lavande-HD.

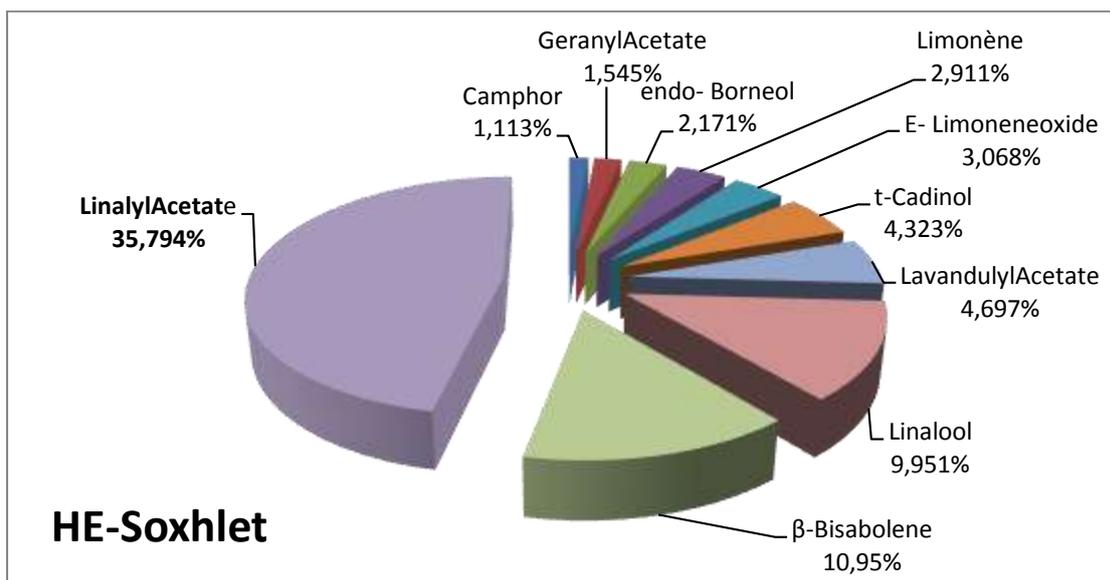


Figure III.7: Répartition en % des principaux composés de l'HE de lavande-Soxhlet.

Pour chacune des huiles essentielles HD et Soxhlet étudiées, 22 et 27 composés représentant ont été identifiés respectivement.

L'huile essentielle HD se compose principalement de linalool qui représente 57.24 % suivi par le geranyl acetate de 9.454%. En revanche des faibles pourcentages de ces substances ont été enregistrés pour l'HE-Soxhlet avec des valeurs de 9.951 et 1.545% respectivement.

Les résultats d'analyses de l'HE Soxhlet montrent une présence majoritaire du linalyl acetate 35.794%, et du β -Bisabolene 10.950 %. En contrepartie ces substances sont apparues moins abondantes dans l'huile HD avec des valeurs de 5.404 et 1.426 % respectivement.

Le Camphene est présent seulement dans l'HE-HD, tandis que le limonène est particulièrement trouvé dans l'HE-Soxhlet.

❖ Composition chimique l'huile essentielle de Myrte HD

Le chromatogramme obtenu de l'analyse par GCMS ainsi que les résultats des différents constituants d'HE regroupés dans les tableaux III.9 sont illustrés Ci-dessous.

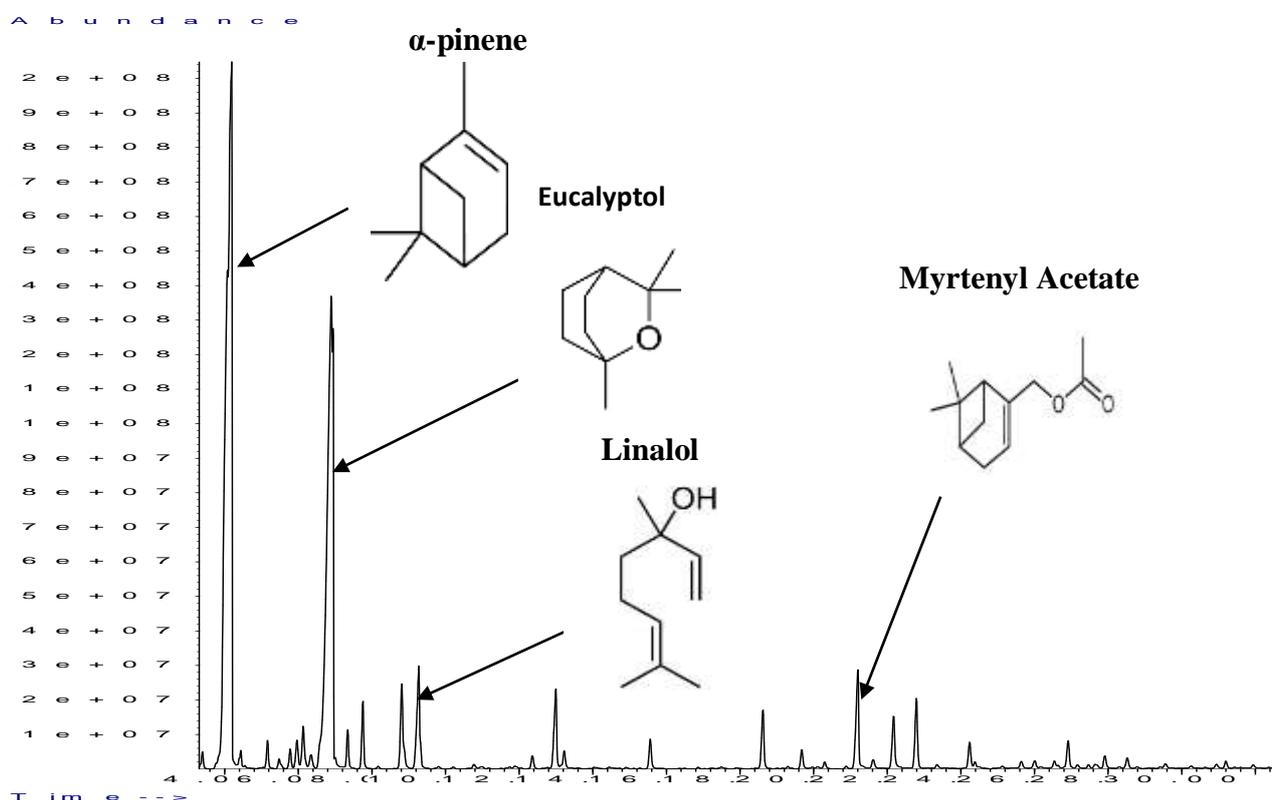


Figure III. 8 : Chromatogramme de l'HE de Myrte HD

Tableau III.8 : Résultats d'analyse de l'HE de myrte HD

Pic	Temps de rétention	Composés	Type	Pourcentage (%)
1	4.188	α-pinene	M H	43.725
2	4.438	camphene	M H	0.293
3	5.164	β .pinene	M H	0.537
4	5.480	β - myrcene	M H	0.263
5	5.964	α -phellandrene	M H	0.636
6	6.134	3- Carene	M H	0.961
7	6.346	2- Carene	M H	0.359
8	6.896	Eucalyptol	M O	30.046
9	7.343	β -ocimene	M H	0.739
10	7.754	γ -terpinene	M H	1.411
11	8.812	Terpinolene	M H	2.397
12	9.273	Linalool	M O	3.181
13	9.805	<i>exo</i> -fenchol	M O	0.067
14	10.213	α -campholenal	M O	0.040
15	10.771	Isopinocarvéol	M O	0.101
16	11.885	Borneol	M O	0.071
17	12.360	Terpinen-4-ol	M O	0.331
18	12.996	α -Terpineol	M O	2.128
19	13.223	Estragol	M O	0.331
20	15.561	Geraniol	M O	0.728
21	16.862	Bornylacetate	autre	0.034
22	17.496	Cis-Pinocarveol	M O	0.044
23	17.908	Thymol	M O	0.025
24	18.622	GeranylAcetate	autre	1.519
25	19.676	α - TerpinylAcetate	autre	0.483
26	21.201	MyrtenylAcetate	autre	2.887
27	22.173	Methyleugenol	autre	1.494
28	22.792	Caryophyllene	S H	1.881
29	24.238	Humulene	S H	0.633
30	25.641	β -Selinene	S H	0.188
31	26.005	α -Selinene	S H	0.208
32	26.541	β -Bisabolene	S H	0.120
33	26.916	β -thujone	S O	0.755
34	27.165	δ -Cadinene	S H	0.092
35	27.465	δ - Bisabolene	S H	0.079
36	27.644	β -Maaliene	S H	0.152
37	27.911	Viridiflorol	S O	0.336
38	28.519	δ -Elemene	S O	0.290
39	29.556	Caryophylleneoxide	S O	0.117
40	30.943	Isoleptospermone	S O	0.133
41	31.194	6-Methoxythymyl isobutyrate	S O	0.184

Monoterpènes	Monoterpènes hydrocarbonés (%)	51.321	88.414
	Monoterpènes oxygénés (%)	37.093	
Sesquiterpènes	Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)	3.353	5.168
	Sesquiterpènes oxygénés (%)	1.815	
Autre composés		6.417	6.417
Total (%)		99.999	

L'HE extraite des feuilles du myrte commun permis d'identifier 41 composés correspondant au pourcentage de 99,999 % de l'ensemble des constituants.

En observant les valeurs obtenues, il a été remarqué une forte prédominance des monoterpènes d'une teneur de 88.414% % de l'HE par rapport les composés sesquiterpènes de 5.168 %.

Les monoterpènes sont constitués principalement de α -pinène à un pourcentage de 43.725%, l'Eucalyptol de 30.046%, le linalool de 3.181%, le myrtenyl acetate de 2.887% ,Terpinolene de 2.397%, Caryophyllene de 1.881%, la geranyl acetate de 1.519% , et α -Terpineol de 2.128% .

❖ Composition chimique l'huile essentielle de Myrte Soxhlet

Le chromatogramme obtenu de l'analyse par GCMS ainsi que les résultats des différents constituants d'HE regroupés dans le tableau III.10 sont affichés Ci-dessous.

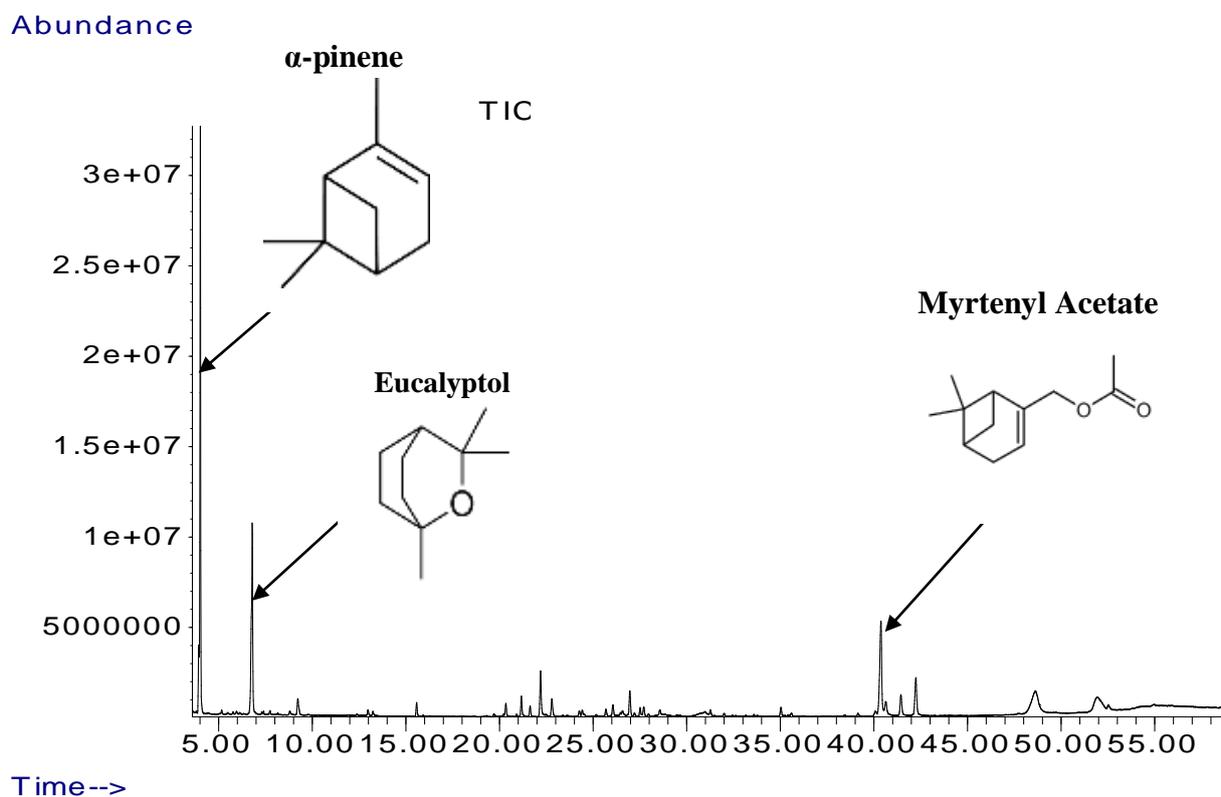


Figure III. 9 : Chromatogramme de l'HE de Myrte Soxhlet

Tableau III.9 : Résultats d'analyse de l'HE de myrte Soxhlet

Pic	Temps de rétention	Composés	Type	Pourcentage (%)
1	4.019	α-pinene	M H	28.673
2	5.159	β .pinene	M H	0.134
3	6.120	3- Carene	M H	0.011
4	6.795	Eucalyptol	M O	15.774
5	7.743	γ -terpinene	M H	0.210
6	8.805	2- Carene	M H	0.279
7	9.227	Linalool	M O	1.498
8	12.976	α -Terpineol	M O	0.393
9	13.239	Estragol	M O	0.295
10	15.573	LinalylAcetate	autre	0.924
11	19.705	α - TerpinylAcetate	autre	0.287
12	20.341	Curdione	S O	1.034
13	20.907	α -Copaene	S H	0.143
14	21.171	Geraniol	M O	1.628
15	21.635	γ -Elemene	S H	0.788
16	22.196	GeranylAcetate	autre	4.038
17	22.796	Caryophyllene	S H	1.624
18	24.261	Humulene	S H	0.370
19	24.421	Globulol	S O	0.550
20	25.157	β -Selinene	SH	0.102
21	25.684	α -Selinene	S H	0.571
22	26.062	α -Bulnesene	S H	0.913
23	26.576	β -Bisabolene	SH	0.773
24	26.856	β -thujon	S O	0.037
25	26.962	Viridiflorol	S O	2.033
26	27.211	α -Cadinol	S O	0.259
27	27.512	α -Famesene	S H	0.554
28	27.709	β -Maaliene	S H	0.675
29	27.957	Methyleugenol	Autre	0.143
30	28.574	δ -Elemene	S H	0.352
31	29.480	Caryophylleneoxide	S O	0.089
32	31.269	Jasmololone	autre	0.400
33	35.032	Thymol	M O	0.736
34	40.377	Acétate de Myrtényl	autre	11.170
35	41.442	Verbenol	S O	2.323
36	42.243	MenthylAcetate	autre	4.305
37	48.624	Neocurdione	S O	9.809
38	51.907	Limonène	M H	6.101

Monoterpènes	Monoterpènes hydrocarbonés (%)	35.408	54.104
	Monoterpènes oxygénés (%)	18.696	
Sesquiterpènes	Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)	6.865	22.999
	Sesquiterpènes oxygénés (%)	16.134	
Autre composés		22.895	22.895
Total (%)			99.998

Les composés identifiés de l'huile représentent 99.998 % de l'huile totale extraite de la plante. Il est remarquable que l'huile est nettement dominée par les monoterpènes hydrocarbonés et de dérivés oxygénés représentant une teneur 54.104% de l'HE contre 22.999 % pour les composés sesquiterpènes.

Neuf composés majoritaires sont identifiés à savoir le α -pinène d'une teneur de 28.673%, Eucalyptol de 15.774%, le linalol de 1.489 %, le myrtenyl acetate de 11.170%, Menthyl acetate de 4.305%, le neocurdione de 9.809%, le limonène de 6.101%, le geranyl acetate de 4.038 %, et le caryophyllène de 1.624% .

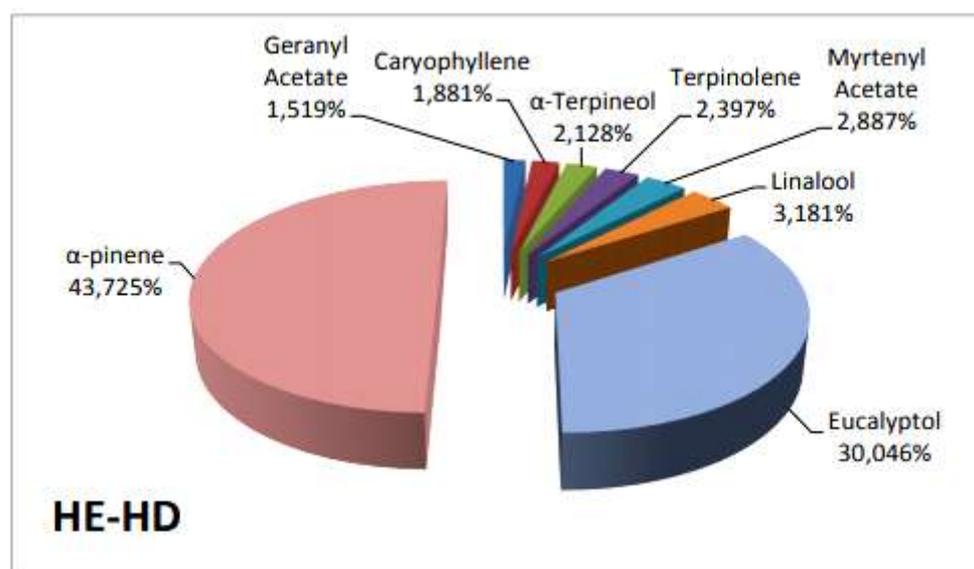


Figure III.10 : Répartition en % des principaux composés de l'HE de Myrte-HD

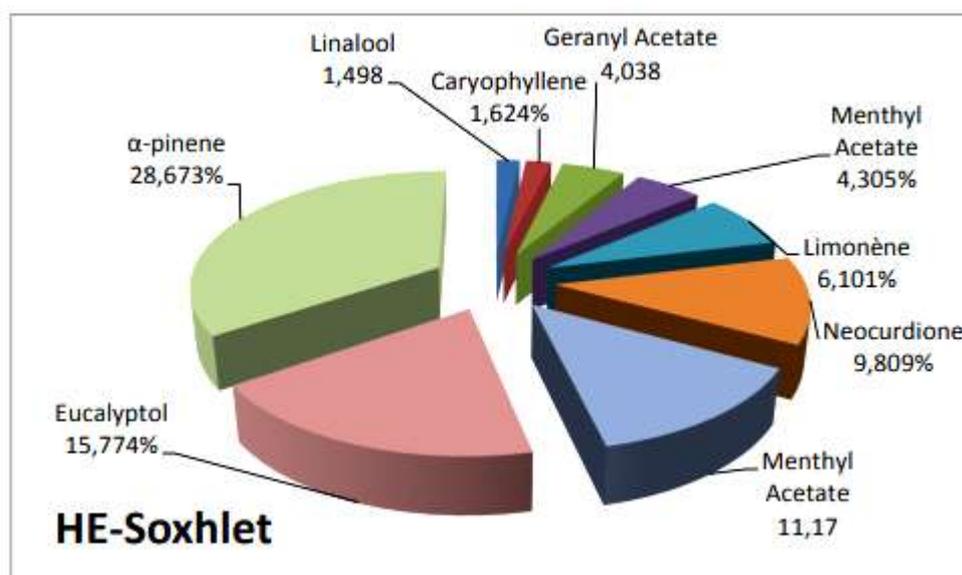


Figure III.11: Répartition en % des principaux composés de l'HE de Myrte-Soxhlet.

La différence en nombre de molécules aromatiques constituant l'huile essentielle est engendrée essentiellement par l'absence ou la diminution de certains composés selon le mode d'extraction effectué.

Du point de vue quantitatif, des différences sont observées au niveau de la teneur des constituants identifiés. L' α -pinène et l'Eucalyptol sont fortement abondants dans l'huile essentielle de myrte. L' α -pinène dans les deux modes est le constituant majoritaire avec des teneurs de 43.725 % en HD et 28.673% en soxhlet. Cependant ; l'Eucalyptol n'est présent qu'avec un taux de 30.046% en HD et 15.774 en soxhlet.

L'extrait le plus riche en composé sesquiterpène a été obtenu par soxhlet. Alors

que la concentration la plus élevée en monoterpène a été obtenue par Hydrodistillation.

Le terpinolène et le α -terpinéol qui représentent 2.397 % et 2.128% de l'huile essentielle de myrte hydrodistillée ne constituent pas celle extraite par soxhlet. Le linalool est présent à un taux de 3.181 % dans l'huile essentielle extraite par l'hydrodistillation contre un taux de 1.498 % dans celle obtenue par soxhlet.

Le limonène, le menthyl acétate et le neocurdione qui représentent des pourcentages de 6.101%, 4.305 %, et 9.809 % respectivement de l'huile essentielle récupérée par soxhlet ne sont pas trouvés en l'huile HD.

Le myrtenyl acetate a constitué seulement 2.887% d'HE-HD tandis qu'il a atteint un pourcentage de 11.170 en HE soxhlet. La teneur en caryophyllene été presque équivalente avec 1.881% en HE-HD et 1.624 en soxhlet. Le geranyl a représenté 1.519% d'HE-HD et 4.038 % celle d'HE-Soxhlet.

III.4.2. La spectroscopie infrarouge :

Nous avons utilisé pour notre analyse infrarouge un spectrophotomètre ATR, les résultats obtenus sont rassemblés dans les figures (III. 12, 13, 14, 15) et dans les tableaux (III. 10, 11, 12, 13).

❖ L'huile essentielle de Lavande

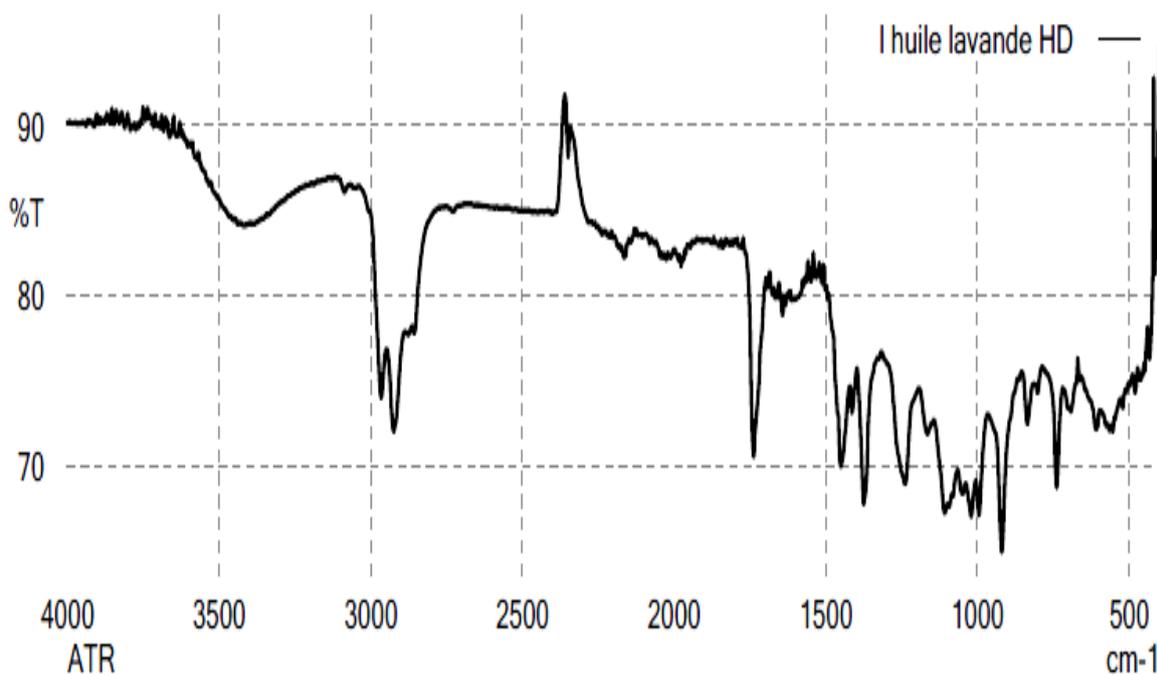


Figure III. 12: Spectre IR d'huile essentielle de lavande-HD.

Les différents groupements observés sont regroupés dans le tableau III.10

Tableau III.10 : Groupements fonctionnelles de l'HE de Lavande-HD de spectre IR

Fréquence (cm-1)	Groupement correspondant	Intensité	Fonctions ou liaisons
3734	O-H liée	Large bande	Alcool
2923	C _{tet} -H(élongation)	intense	Alcane
2852	C _{tet} -H(élongation)	intense	Alcane
1739	C=O(élongation)	faible	Aldéhyde, Cétone
1653	C=O(élongation)	faible	Aldéhyde conjugué, Cétone
1020	C-O(élongation)	faible	Alcool/ Ether

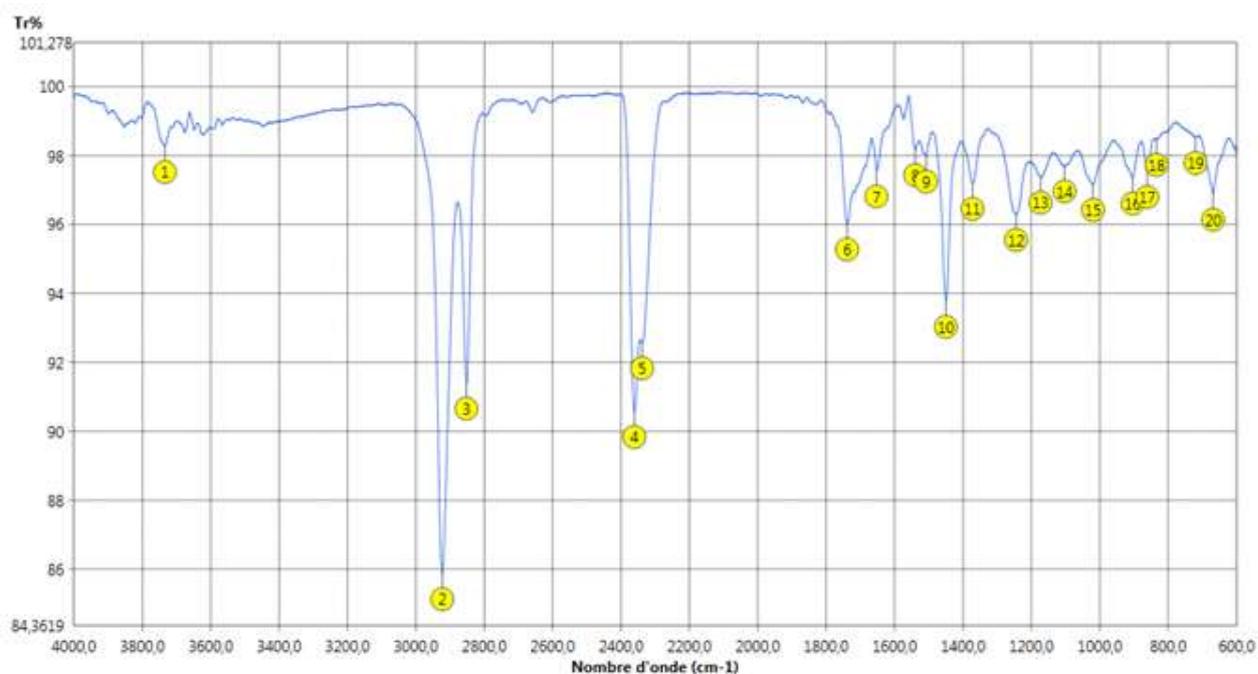


Figure III. 13: Spectre IR d'huile essentielle de lavande-Soxhlet.

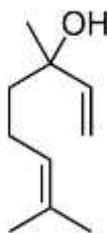
Les différents groupements observés sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau III. 11: Groupements fonctionnelles de l'HE de Lavande-Soxhlet de spectre IR

Fréquence (cm-1)	Groupement correspondant	Intensité	Fonction ou liaisons
3347	OH liée	Large bande	Alcool
2966	C _{trigonale} -H	intense	Aldéhyde
2924	C _{trigonale} -H	intense	Alcane
1737	C=O(élongation)	intense	aldéhyde, cétone
1450	C=C(élongation)		Aromatique
1020	C-O(élongation)	faible	Alcool/ Ether

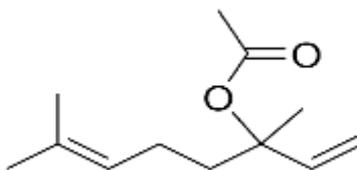
Il ressort des résultats de l'analyse des spectres Infrarouge que :

Il n'y a pas de différences entre les spectres des huiles essentielles extraites par les différents procédés d'extraction, les groupements fonctionnels sont presque les mêmes, sauf l'intensité des pics qui change, la différence dans le pourcentage de transmittance, peut être expliqué par la différence de concentration entre les huiles, il est manifeste dans notre cas que l'huile essentielle extraite par la méthode soxhlet est plus concentrée que les extraits obtenus par les autres procédés (hydrodistillation) .Dans la plupart de nos spectres, nous remarquons la présence d'une bande large et intense vers $3800 - 3600 \text{ cm}^{-1}$, qui correspond à la fonction alcool ou phénol. Dans notre cas nous pouvons proposer un composé qui correspond à ces spectres :



Linalol

Le pic à $1800-1600 \text{ cm}^{-1}$ correspond à un groupement carbonyle « aldéhyde, cétone, éther »



Acétate de Linalyle

❖ L'huile essentielle de Myrte

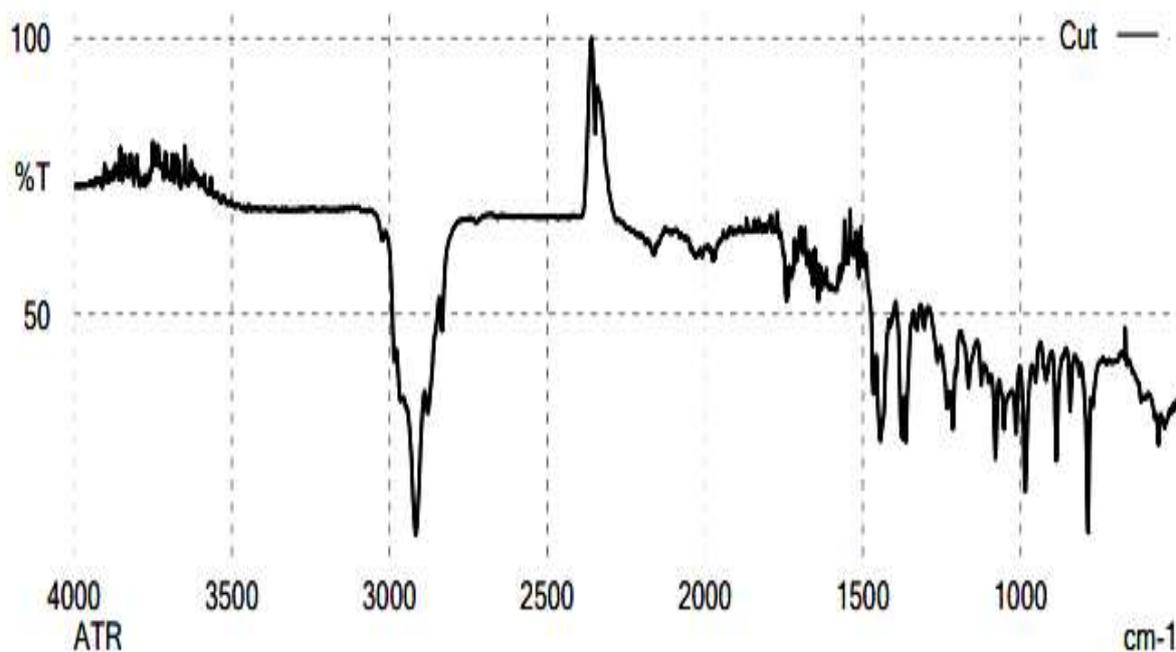


Figure III. 14: Spectre IR d'huile essentielle de myrte-HD.

Les différents groupements observés sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau III. 12 : Groupements fonctionnelles de l'HE de Myrte-HD de spectre IR

Fréquence (cm-1)	Groupement correspondant	Intensité	Fonctions ou liaisons
2900	C _{trigonale} -H	intense	Aldéhyde
2100	C-C(élongation)	intense	/
1700	C=O(élongation)	intense	Amide
1800	C=O(élongation)	intense	Anhydride,
1520	C-NO ₂ (élongation)	faible	Aromatique
1400	C-F(élongation)	faible	Fluoré
1000	C-C(élongation)	faible	/
900	=C-H	faible	Hors du plan
800	=C-H	forte	Hors du plan

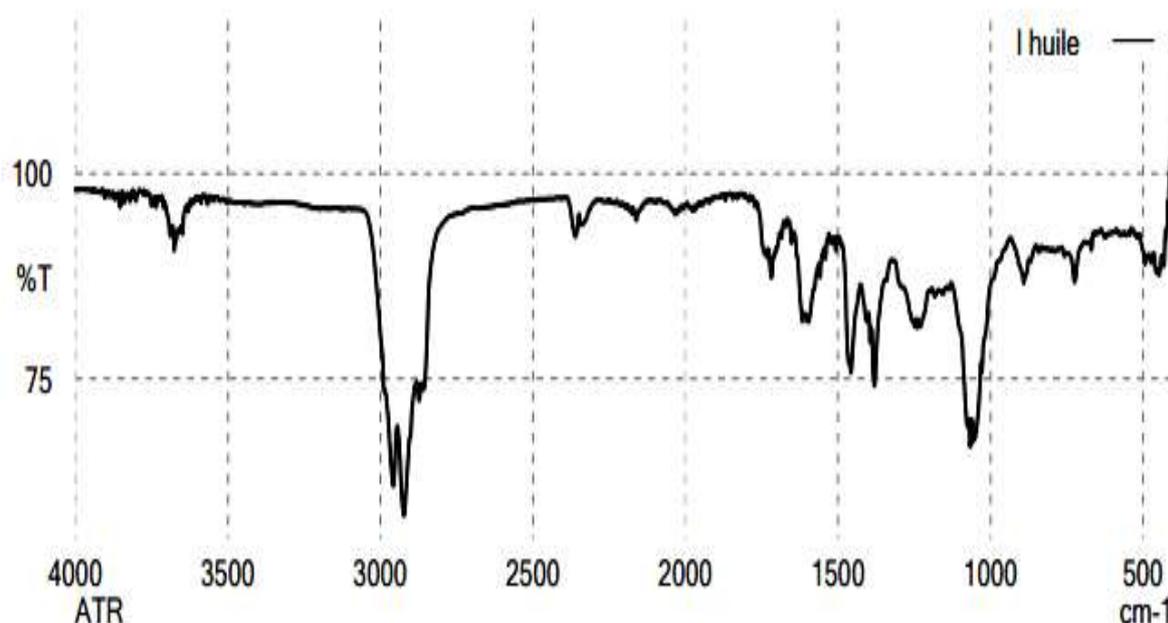


Figure III. 15: Spectre IR d'huile essentielle de myrte-Soxhlet.

Les différents groupements observés sont regroupés dans le tableau **III. 15**

Tableau III. 13 : Groupements fonctionnelles de l'HE de Myrte-soxhlet de spectre IR

Fréquence (cm-1)	Groupement correspondant	Intensité	Fonctions ou liaisons
2858	C _{trigonale} -H	intense	Aldéhyde
1734	C=O(élongation)	intense	Aldéhyde et cétone
1458	C _{tet} -H(déformation dans le plan)	faible	De CH ₃
1197	C _{tet} -OH(élongation)	faible	Alcools
1182	C _{tet} -OH(élongation)	faible	Alcools
1156	C _{tet} -OH(élongation)	faible	Alcools
1136	C _{tet} -OH(élongation)	faible	Alcools
1074	C _{tet} -OH(élongation)	faible	Alcools
1056	C _{tet} -OH(élongation)	faible	Alcools
891	=C-H	forte	Hors du plan

Il y a une différence entre les spectres des huiles essentielles extraites par les différents procédés d'extraction, les groupements fonctionnels ne sont pas les mêmes à 100%, même les intensités des pics elles sont différentes, il est manifesté dans notre cas que l'huile essentielle extraite par la méthode soxhlet est plus concentrée que les extraits obtenus par les autres procédés (hydrodistillation). Dans la plupart de nos spectres, nous remarquons la présence des pics faibles entre 1200 -1000 cm⁻¹, qui correspondent à la fonction alcool. Les

résultats par analyse IR par la méthode soxhlet sont plus proche aux résultats de l'analyse CG/CM par la même méthode.

III. 5. Evaluation de l'activité antimicrobienne :

Le pouvoir antimicrobien de cette huile essentielle est obtenu par la mesure du diamètre de zone d'inhibition en mm

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par ^[3]. Ils ont classé les diamètres de zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne en 5 classes :

Extrêmement sensible +++ : plus de 20mm.

Très sensibles ++ : de 15mm à 19mm.

Sensibles + : 8 mm à 14mm

Nom sensibles - : moins de 8 mm

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antimicrobienne de la lavande et de Myrte.

Pour cela notre travail a porté sur :

- ❖ L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation et soxhlet.
- ❖ L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles dans des souches bactérienne.

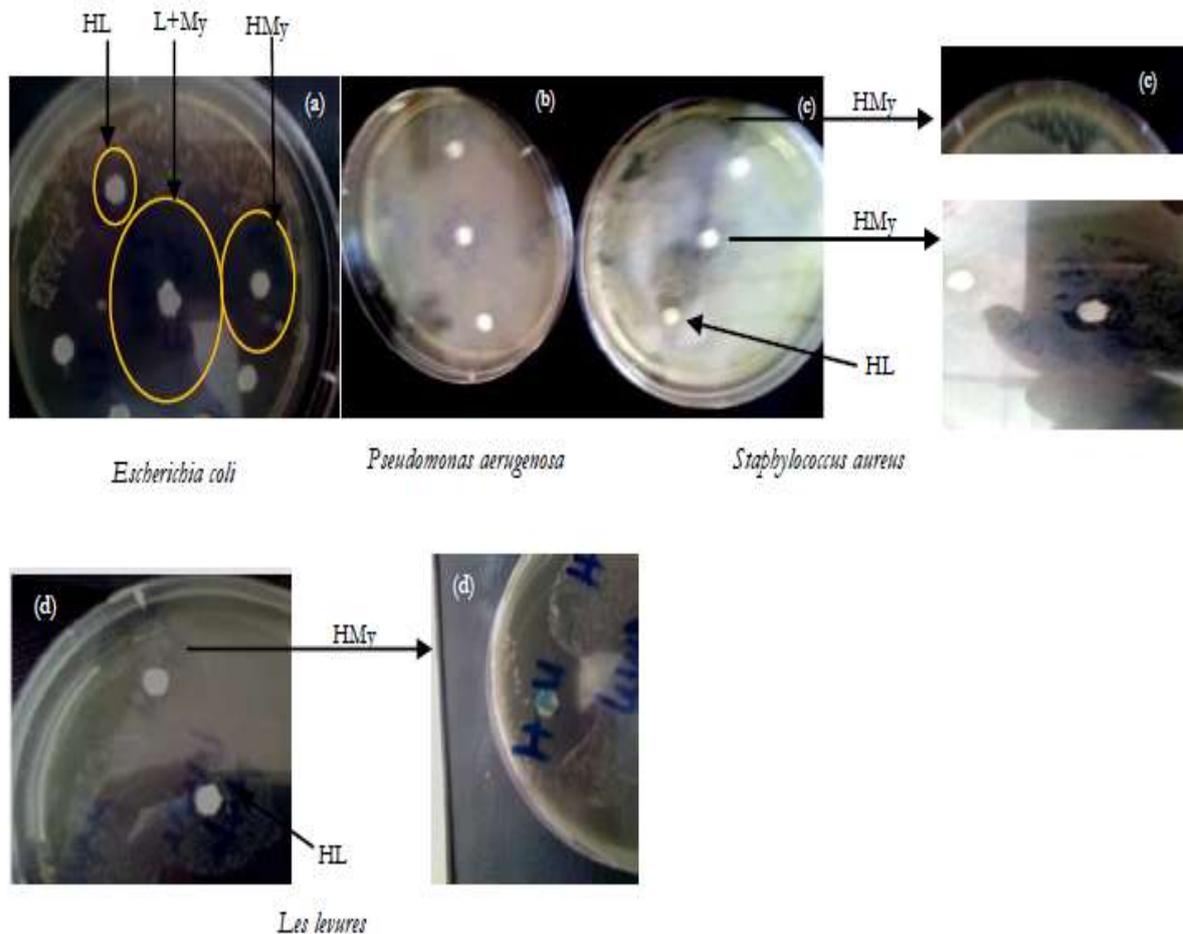


Figure III. 16 : L'activité antimicrobienne de l'Huile de Lavande et l'Huile de Myrte

III.5.1.L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile de Lavande et l'huile de Myrte :

D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'huile de Lavande a montré une l'activité antimicrobienne plus faible par rapport à l'huile de Myrte qui inhibe la croissance des microorganismes étudiés avec des degrés de sensibilité différents. L'activité antibactérienne de l'huile de Lavande et l'huile de Myrte vis-à-vis d'*Escherichia coli* était remarquable avec des diamètres d'inhibitions supérieurs à 20 mm. Le mélange des deux huiles était le plus puissant avec une inhibition de 100% (effet synergique), suivi par l'huile de Myrte et enfin l'huile de Lavande (**Figure III.16 a**). Alors que pour *Pseudomonas aeruginosa*, ces huiles n'avaient aucun effet inhibiteur (**Figure III. 16 b**).

L'huile de Lavande n'inhibe pas la croissance des levures et des *Staphylococcus aureus*, par contre l'huile de Myrte inhibe la croissance des levures et affaibli la croissance des *Staphylococcus aureus* dont on parle d'un effet bactériostatique (**Figure III.16 c et d**).

Conclusion générale

Les huiles essentielles contenues dans les fleurs et les feuilles ont été extraites par hydrodistillation et soxhlet. Le rendement en HE des feuilles de lavande et le myrte récoltées pendant la période de floraison par soxhlet a permis de récupérer une quantité aussi importante dans un temps plus court, 16.66 % et 13.33 % respectivement. L'extraction par hydrodistillation qui révèle des valeurs moyennes 13.63 et 10.06 % pour l'huile essentielle de lavande et de myrte, donc l'extraction par soxhlet est plus efficace en termes de rendement massique en huile essentielle.

Plusieurs résultats ont été recueillis au cours de cette étude, et sont résumés comme suit :

- La détermination des propriétés physico-chimique (densité, indice de réfraction, pH et viscosité) et organoleptiques (aspect, odeur et couleur) des deux HEs issues des deux méthodes d'extraction HD et soxhlet a fourni des valeurs conformes aux normes AFNOR des HEs.
- La composition chimique des HEs, ont été établie à l'aide des méthodes spectroscopique IR et chromatographique GC/MS. L'HE de myrte est constituée par un nombre des composés aromatique identique (41 composés par HD et 38 par soxhlet). Le α -pinène et l'Eucalyptol sont les deux composés majoritaires de l'huile essentielle quel que soit la méthode d'extraction HD ou soxhlet. Le composé majoritaire principal de l'huile essentielle de *Myrte* reste toujours l' **α -pinène** qui est présent en quantité moindre dans l'HE- soxhlet (28.673%) par rapport à celles de l'HE-HD avec une teneur de (43.725 %). L'Eucalyptol n'est présent qu'à un taux de 30.046% en HD et 15.774 en soxhlet.
- L'analyse par GC/MS de l'huile essentielle extraite à partir des fleurs de lavande a permis d'identifier (22 composés par HD et 27 composés par soxhlet). Il a été remarqué que l'huile est nettement dominée par les monoterpènes qui constituent 78.575% notamment monoterpènes oxygénés avec un taux de 70.456% par HD. Par soxhlet elle est constituée de 23.836% de monoterpènes dont les monoterpènes oxygénés représentent 20.248% de la totalité, dominées par le Linalool avec un pourcentage de 9.951% ; le E-Limoneneoxide de 3.068%, et de endo-Borneol à 2.171%.

- De point de vue quantitatif, l'extraction par soxhlet est plus efficace, de point de vue richesse en HE c'est le dispositif d'hydrodistillation.
- L'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile de Lavande et l'huile de Myrte que la Lavande a montré une activité antimicrobienne plus faible par rapport à l'huile de Myrte qui inhibe la croissance des microorganismes étudiés avec des degrés de sensibilité différents. L'activité antibactérienne de l'huile de Lavande et l'huile de Myrte vis-à-vis d'*Escherichia coli* était remarquable avec des diamètres d'inhibitions supérieurs à 20 mm. Le mélange des deux huiles était le plus puissant avec une inhibition de 100% (effet synergique), suivi par l'huile de Myrte et enfin l'huile de Lavande.

Références bibliographiques :

[1] Andersen S., G. Rasmussen, P. Snilsberg, C.E. Amundsen & T. Westby, 1996.- Assessing toxicity and mobilization of impregnation salts at a contaminated site. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 354, 676-68, (1996).

[2] ERROUKI N., CHIBAH K., AMROUN T., LEBAS F. 2012. Effect of the average kits birth weight and of the number of born alive per litter on the milk production of Algerian white population rabbit does. In Proceedings 10th World Rabbit Congress, Septembre 3-6, Sharm-El-Sheikh, Egypt. ISSN:<http://wordrabbitscience.com/WRSAProceeding/Congress-2012-Egypt>.

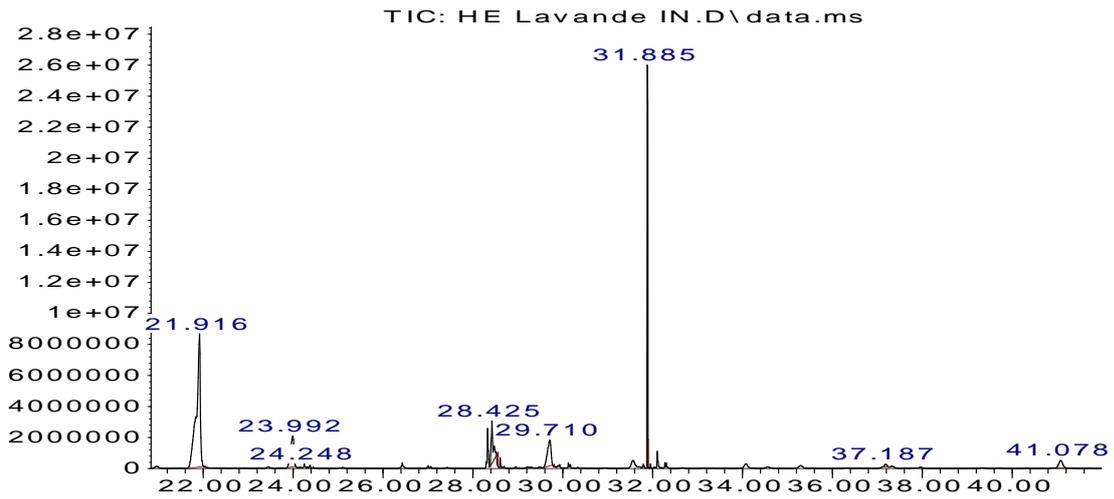
[3] Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. & Roura S.I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol.*36, pp.679–684. *J.Soc.Alger.Chim.*, 2011, 21(1), 25–33. *Journal de la Société Algérienne de Chimie* (2003).

Annexes

Annexe: Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles selon AFNOR

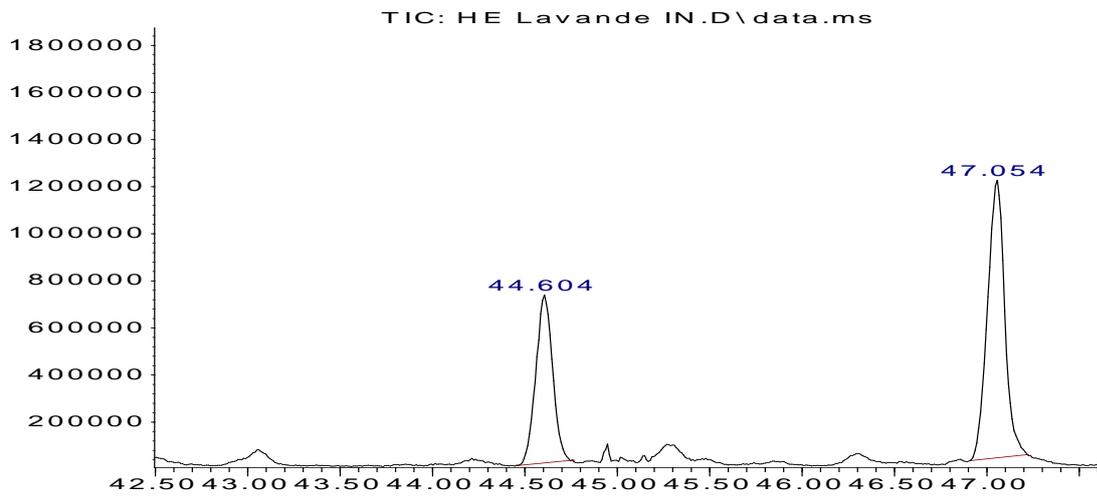
Propriétés physico-chimiques	
Densité (20°C)	
Lavande	0.870-0.890
Myrte	0.873-0.920
Indice de réfraction (20 °C)	
Lavande	1.450-1.462
Myrte	1.463-1.470
Viscosité(Pa× 10⁻³)	
Lavande	4.5-5.6
Myrte	2.880-3.520
pH	
Lavande	5.6-6
Myrte	3.8-5

Abundance



Time-->

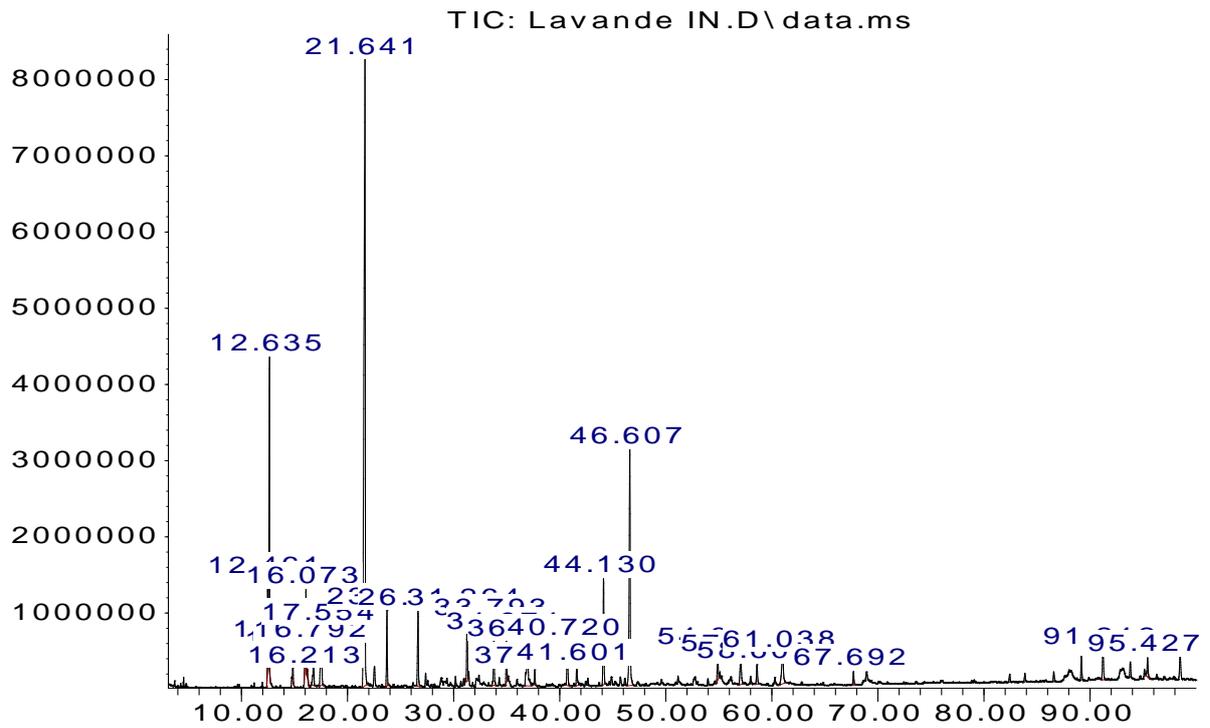
Abundance



Time-->

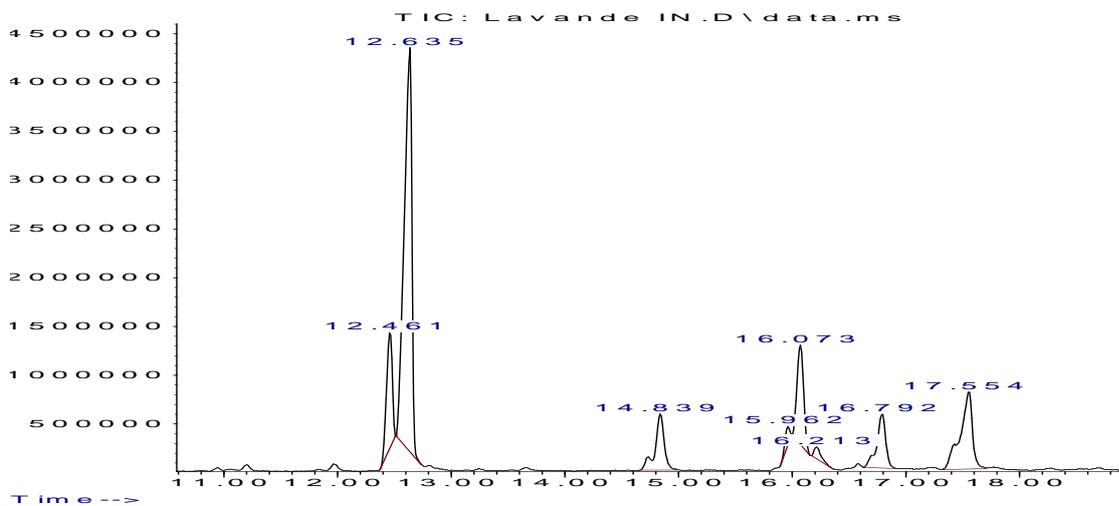
Annexe : Chromatogramme de l'HE de Lavande Soxhlet

Abundance

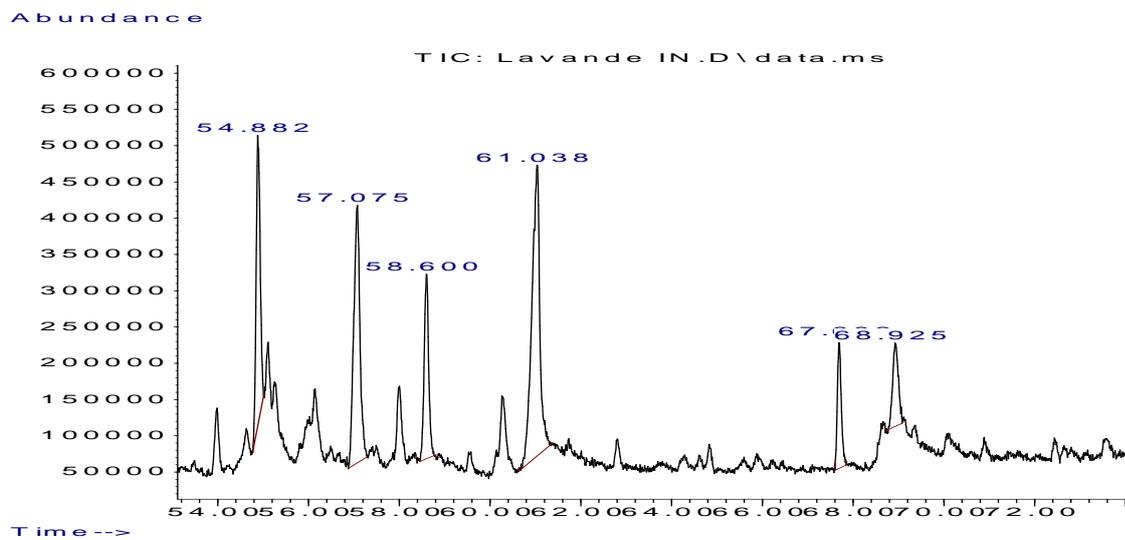
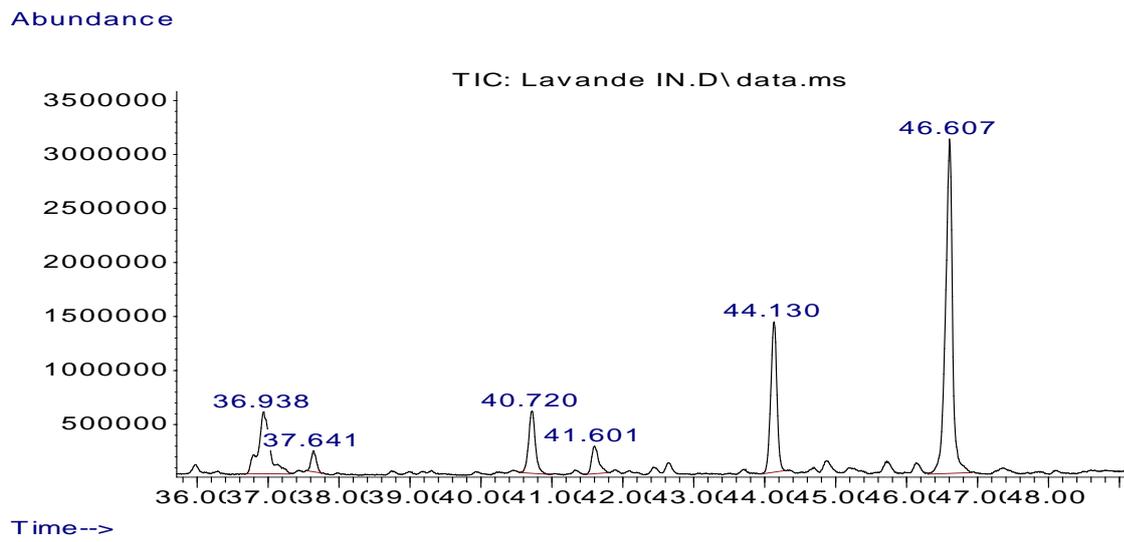
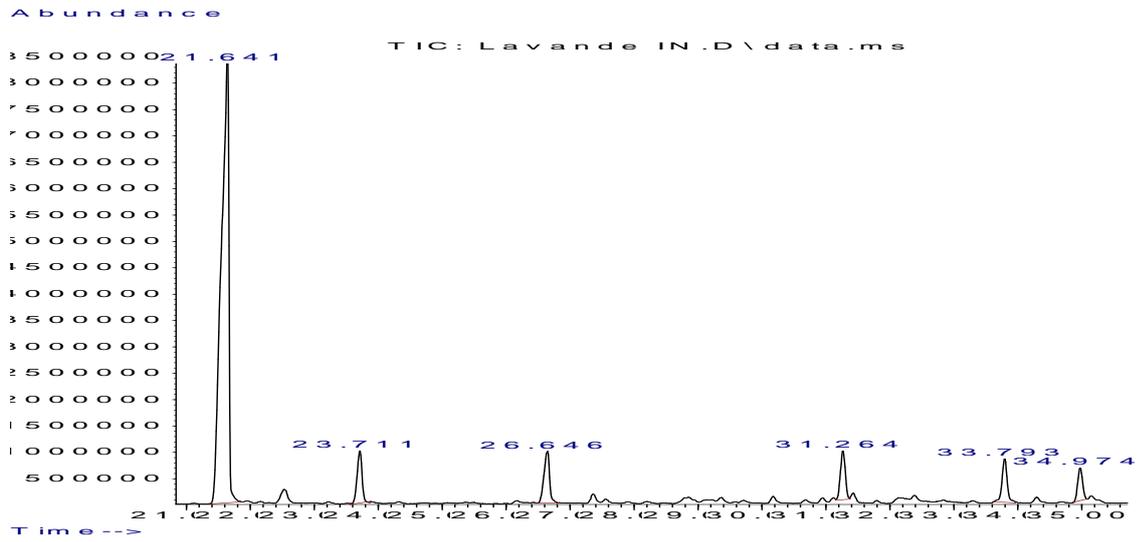


Time-->

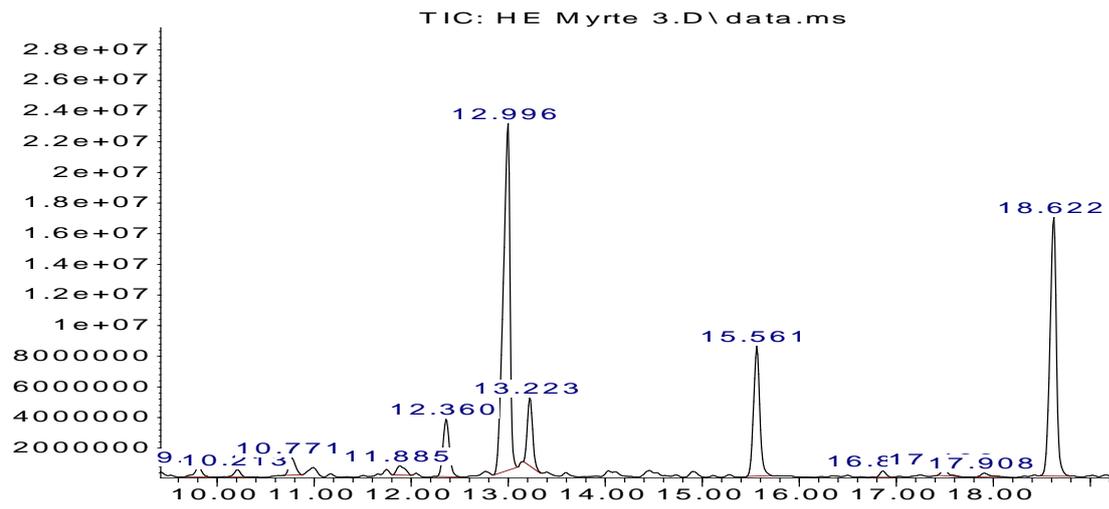
Abundance



Time-->

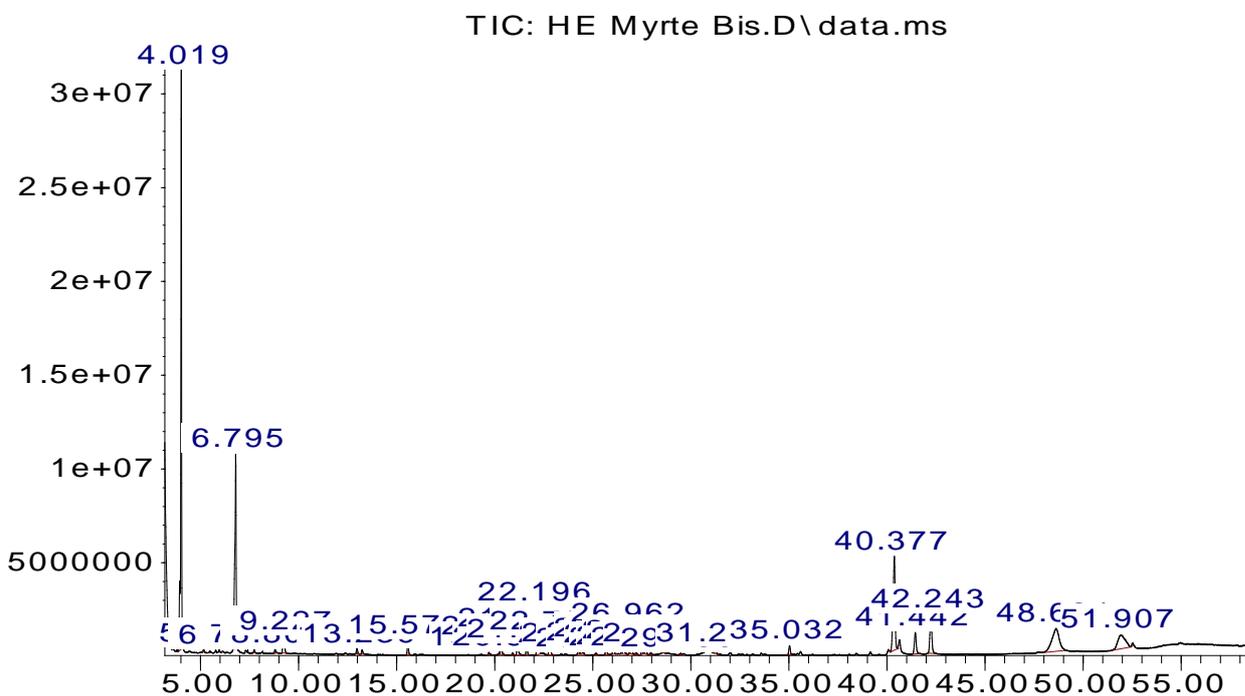


Abundance



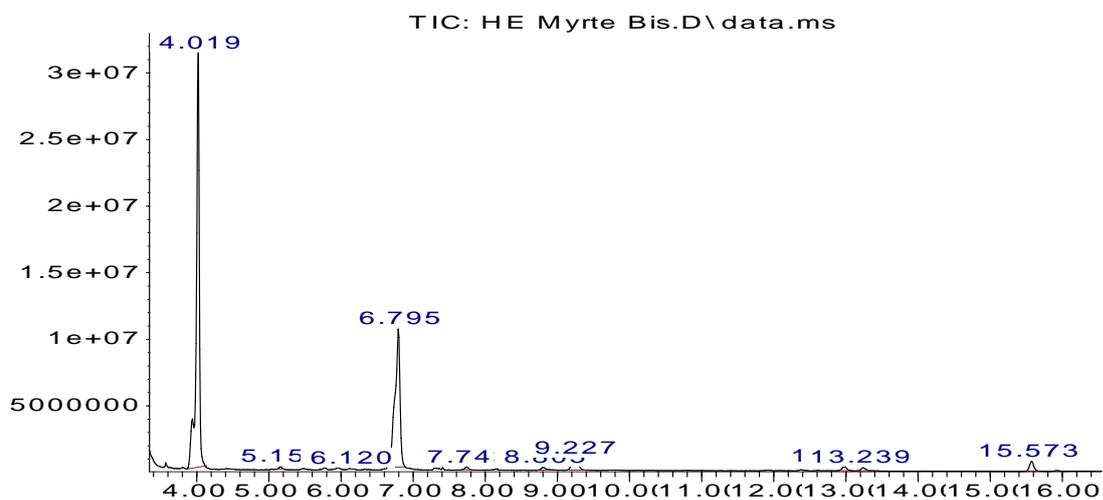
Annexe : Chromatogramme de l'HE de Myrte Soxhlet

Abundance



Time-->

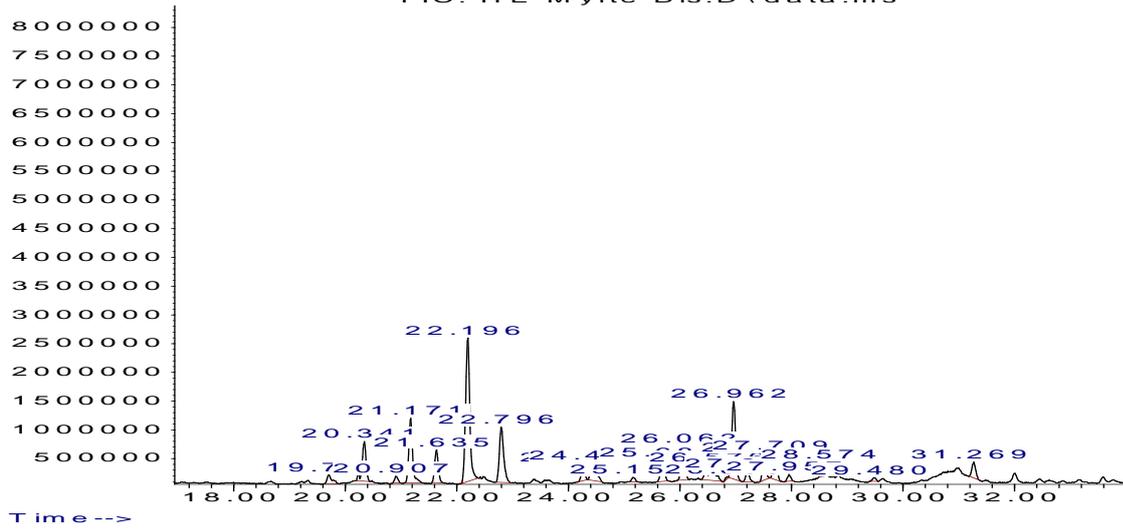
Abundance



Time-->

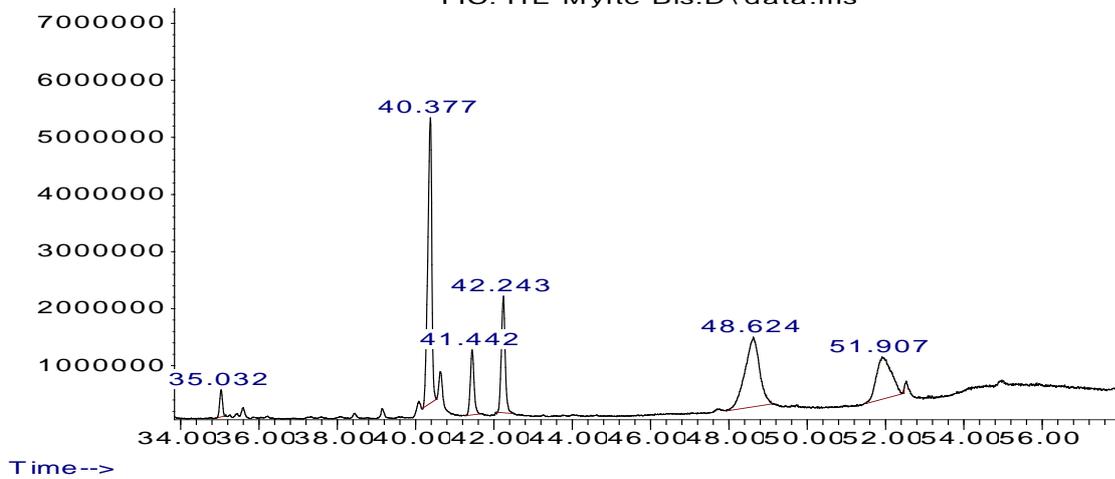
Abundance

TIC: HE Myrte Bis.D\data.ms

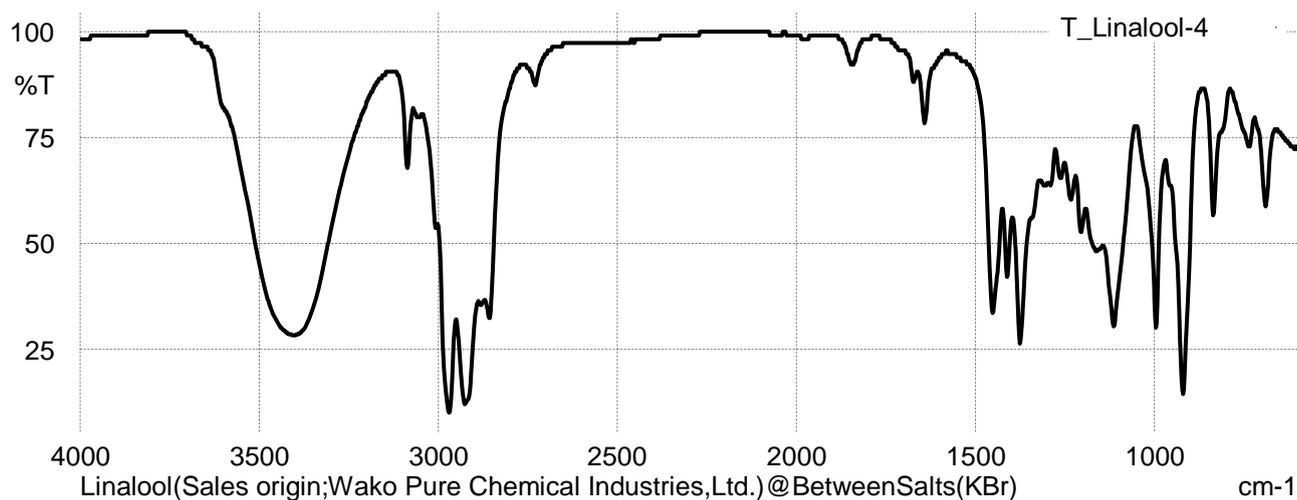


Abundance

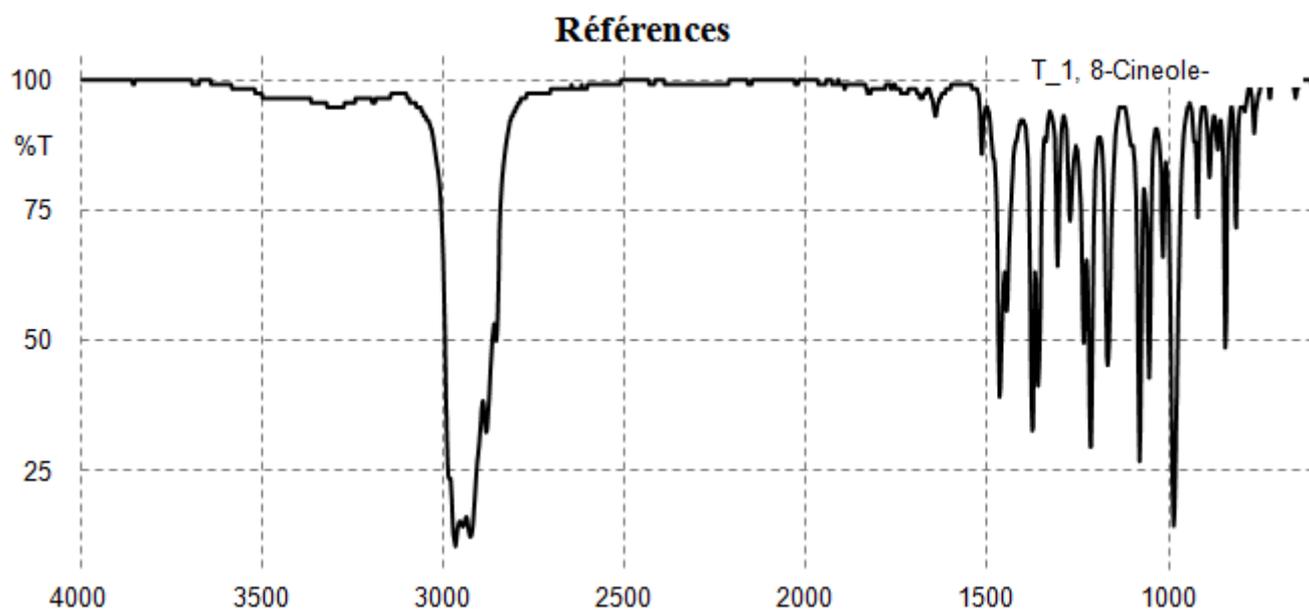
TIC: HE Myrte Bis.D\data.ms



Références



	Score	Library	Name	Comment
1	821	61 - T_FoodAdditives2	T_Linalool-4	Linalool(Sales origin;Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)@Between Salts(KBr)
2	807	62 - A_FoodAdditives2	A_Linalool-4	Linalool(Sales origin;Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)@DuraSamplIR2(diamond)
3	803	26 - T_FoodAdditives2	T_Linalyl Acetate-4?	Linalyl Acetate(Sales origin;Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)@Between Salts(KBr)
4	766	1812 - Shimadzu Standard Library Vol. 2shim2404-1	PROPYLENEGLYCOL-DI-ESTER OF A LONG-CHAIN DICARBOXYLIC ACID; REWOLUB V	PROPYLENEGLYCOL-DI-ESTER OF A LONG-CHAIN DICARBOXYLIC ACID; REWOLUB V KBr © 2009 STJapanInc S00674/HS0674



1, 8-Cineol (Product name; Eucalyptol Sales origin; Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)@Betweencm-1

	Score	Library	Name	Comment
1	804	30 - T_FoodAdditives2	T_1,8-Cineole-4	1,8-Cineol(Product name;EucalyptolSales origin;Wako Pure Chemical Industries,Ltd.)@Between Salts(KBr)
2	785	29 - A_FoodAdditives2	A_1,8-Cineole-4	1,8-Cineol(Product name;EucalyptolSales origin;Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)@DuraSamplIR2(diamond)
3	750	78 - IRs Reagent2	PINENE	Pinene [C10C16] ORIGIN Date: 92/02/21 File: PINENE.DX INFRARED SPECTROPHOTOMETER FTIR-8000 SERIES
4	750	47 - IRs Polymer2	PINENE	Pinene [C10H16] ORIGIN Date: 92/02/21 File: PINENE.DX INFRARED SPECTROPHOTOMETER FTIR-8000 SERIES
5	732	89 - IRs Reagent2	TURPEN	TURPENTINE OIL ORIGIN Date: 92/02/21 File: TURPEN.DX INFRARED SPECTROPHOTOMETER FTIR-8000 SERIES

Résumé

La résistance des bactéries aux antibiotiques pose un vrai problème de santé publique.

Dans le but de trouver des alternatives de lutte contre cette résistance, l'étude proposée est d'évaluer l'effet inhibiteur de deux espèces végétales *Lavandula officinalis* et le *Myrtus communis* sur des souches responsables d'infections urinaires par l'application de deux techniques différentes, l'hydrodistillation et l'extraction par Soxhlet afin d'obtenir des meilleurs rendements et des bonnes caractéristiques des huiles. Les rendements obtenus de la lavande par hydrodistillation et Soxhlet sont respectivement : 13.63 et 16.66%, concernant le Myrte est de : 10.06 et 13.33%. Les caractérisations physicochimiques ont été effectuées par CGSM et IR. L'activité antibactérienne de l'huile de Lavande et l'huile de Myrte vis-à-vis d'*Escherichia coli* était remarquable avec des diamètres d'inhibitions supérieurs à 20 mm. Le mélange des deux huiles était le plus puissant avec une inhibition de 100% (effet synergique), suivi par l'huile de Myrte et enfin l'huile de Lavande. Alors que pour *Pseudomonas aeruginosa*, ces huiles n'avaient aucun effet inhibiteur. L'huile de Lavande n'inhibe pas la croissance des levures et des *Staphylococcus aureus*, par contre l'huile de Myrte inhibe la croissance des levures et affaiblit la croissance des *Staphylococcus aureus* dont on parle d'un effet bactériostatique.

Mots clés : Huiles essentielles, *Lavandula officinalis*, le *Myrtus communis*, l'hydrodistillation, Soxhlet, CGSM, IR, l'activité antibactérienne.

Abstract

The resistance of bacteria to antibiotics poses a real public health problem. In order to find alternatives to fight against this resistance, the proposed study is to evaluate the inhibitory effect of two common plant species *Lavandula officinalis* and *Myrtus* on strains responsible for urinary tract infections by the application of two techniques different, hydrodistillation and extraction by Soxhlet in order to obtain better yields and good characteristics of the oils. The yields obtained from lavender by hydrodistillation and Soxhlet are respectively 13.63 and 16.66%, concerning Myrtle is 10.06 and 13.33%. CGSM and IR. Carried out the physicochemical characterizations. The antibacterial activity of Lavender oil and Myrtle oil vis-à-vis *Escherichia coli* was remarkable with diameters of inhibitions greater than 20 mm. The mixture of the two oils was the most powerful with a 100% inhibition (synergistic effect), followed by Myrtle oil and finally Lavender oil. While for *Pseudomonas aeruginosa*, these oils had no inhibitory effect. Lavender oil does not inhibit the growth of yeasts and *Staphylococcus aureus*, while Myrtle oil inhibits yeast growth and weakens the growth of *Staphylococcus aureus*, which is referred to as a bacteriostatic effect.

Key words: Essential oils, *Lavandula officinalis*, common myrtle, hydrodistillation, Soxhlet, CGSM, IR, antibacterial activity.