

REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

Université Aboubakr Belkaïd - Tlemcen

Faculté des Sciences
Département de Biologie

مكتبة كلية العلوم
ملحقة البيولوجيا

Mémoire de Magister

Présenté par : Mme BEKHECHI Née BENHABIB Chahrazed

En vue de l'Obtention du Diplôme de Magister
en Biologie moléculaire et cellulaire

*Analyse de l'huile essentielle d'*Ammannia
verticillata* (Ninkha) de la région de Tlemcen
et étude de son pouvoir antimicrobien*

Membres du Jury :

Président : M^r Taleb Bendiab S.A. Professeur
Examineurs : M^r Benmansour A.H. Maître de conférence
M^{me} Atik Bekkara F. Maître de conférence
M^r Moussaoui A. Chargé de cours
Promoteur : M^r Abdelouahid D.E. Chargé de cours



Année Universitaire : 2001-2002



« Pour dominer la biologie, il faut aimer le mystère de la vie à l'égal de la raison : nous voulons en science honorer seulement la raison.

Pouvons-nous nous affirmer, parfaitement sûrs, qu'aujourd'hui nous ayons complètement raison.

Nous, nous ne le pensons pas »

J.P et C. Escande

« Le don d'une plante utile me paraît plus précieux que la découverte d'une mine d'or et d'un monument plus durable qu'une pyramide ».

Bernardin de Saint-Pierre (1737-1814)
Le jardin des pamplemousses,
Ile Maurice





Dédicaces

*J*e dédie ce modeste travail :

- ☞ *Au plus bel exemple de courage et de sacrifices, mon merveilleux mari « Djawad »,
Pour son soutien, son aide et ses conseils permanents. Jamais, je ne le remercierai
assez de m'avoir donné le meilleur de lui-même.*
- ☞ *A mes enfants que j'adore : Ahlem et Racim*
- ☞ *Mes très chers parents et beaux parents.*
- ☞ *Mes chers grands parents.*
- ☞ *Mes sœurs, mes frères, mes belles sœurs et mes beaux frères.*
- ☞ *Mes ami (es), et mes camarades d'étude.*





Remerciements

*J*e tiens à exprimer ma gratitude à Monsieur **Abdelouahid Djamel-Eddine**, chargé de cours à la faculté des sciences de Tlemcen, département de biologie. Je tiens à lui exprimer ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements pour avoir fait l'honneur d'accepter la direction de ce mémoire, je le remercie pour l'aide et les conseils précieux qu'il n'a cessé de prodiguer tout le long de ce travail.

Je tiens à remercier vivement Monsieur **Taleb Bendiab S.A**, professeur à la faculté des sciences de Tlemcen, pour avoir fait l'honneur de présider ce jury et pour son aide précieux.

J'exprime mes sincères remerciements à Madame **Atik Bekkara F.**, maître de conférence à la faculté des sciences de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Qu'il me soit permis d'exprimer ma reconnaissance à Monsieur **Benmansour A.**, maître de conférence à la faculté des sciences de Tlemcen, pour avoir accepté de participer au jury.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur **Moussaoui A.**, chargé de cours à la faculté des sciences de Tlemcen, pour m'avoir donné des souches microbiennes et pour avoir accepté d'en être examinateur.

Je remercie chaleureusement Monsieur **Benabadji N.** et Monsieur **Bouabdellah H.**, de m'avoir guidé et orienté dans la partie d'échantillonnage.

Je remercie également Monsieur **Boudimi A.**, directeur du centre vétérinaire de Tlemcen, ainsi que Monsieur **Bendimered KH.**, qui m'ont autorisé de réaliser certaines manipulations dans le laboratoire de microbiologie.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur **Benabadji A.B.**, docteur en pharmacie et chef de service du laboratoire de microbiologie du C.H.U Tlemcen, ainsi que Monsieur **Zaoui** chef du département de Tlemcen et Monsieur **Doudjemâa**, pour m'avoir donné les bactéries testées.





*J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur **Lamartine R.**, professeur à l'université Claude Bernard Lyon I, pour m'avoir accueilli et accepter de réaliser des analyses chromatographiques dans le laboratoire de chimie industrielle.*

*Je tiens à remercier également Monsieur **Audot J.**, pour avoir accepté de nous faire des analyses chromatographiques dans le laboratoire de cryptogamie(M.N.H.N.)*

*Je tiens à remercier vivement les techniciens de laboratoire de microbiologie et de biochimie : Monsieur **Salhi**, Monsieur **Dahmani** et surtout Monsieur **Slimani**, pour l'efficace collaboration technique qu'ils m'ont apporté tout le long de ce travail.*

Enfin, ma reconnaissance va à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.



ABREVIATIONS

H.E. : Huile essentielle
I.A. : Indice d'acide.
I.E. : Indice d'ester.
I.C. : Indice de carbonyle
I.R. : Indice de refraction
 n_d^{20} : Indice de refraction à 20°C.
 R^{mt} : Rendement en huile essentielle
 \bar{R}^{mt} : Rendement moyen en huile essentielle.
 D_{20}^{20} : Densité relative à 20°C.
 a_D^t : Pouvoir rotatoire
[a] : Pouvoir rotatoire dit « spécifique apparent ».
°C : Degré Celsius.
V/V : Volume par volume
g : Gramme.
Kg : Kilogramme.
mg : Milligramme
µg : Microgramme
l : Litre.
ml : Millilitre
µl : Microlitre.
mm : Millimetre
cm : Centimètre
h : Heure.
mn : Minute
s : Seconde.
% : Pourcentage
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
ATB : Antibiotique

ATF : Antifongique
DB : Departement de biologie
CHU : Centre Hospitalo-Universitaire
AFNOR : Association Française de Normalisation
NFT : Normes Françaises tolerees
W : Ouest
N : Nord
CPG : Chromatographie en phase gazeuse
FID : Detecteur a ionisation de flamme.
B.H.I.B. : Bouillon cœur-cerveau
Benth : Benthon
D.C. : De Candolle
L. : Linnaeus
Turr. : Turrill
Hook. : Hoocker

SOMMAIRE

INTRODUCTION :	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE :	4
CHAPITRE I :	5
1 – Présentation de la plante :	5
2 – Description botanique de la plante :	7
a – Caracteres botaniques	7
b – La formule florale et diagramme floral	8
c – Systematique du genre <i>Ammoïdes</i> (ou <i>ptychotis</i>)	8
3 – Enquête thérapeutique d' <i>Ammoïdes verticillata</i> :	9
CHAPITRE II : LES PLANTES MEDICINALES :	11
1 – Introduction :	11
a – Les plantes spontanees	11
b – Les plantes cultivees	11
2 – Le moment de récolte :	11
3 – La procédure de la cueillette :	11
4 – Le séchage des plantes :	11
5 – La conservation et le stockage :	12
6 – La phytothérapie :	12
7 – Mode d'emploi des plantes médicinales :	13
CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES :	14
1 – Définition :	14
2 – Répartition et localisation des huiles essentielles :	14
3 – Fonction des huiles essentielles :	15
4 – Caractères physico-chimiques des huiles essentielles :	16
a – Proprietes physiques	16
b – Composition chimique	16
b.1 - Terpenoides	17
b.1.1 – Les monoterpenes	17
b.1.2 – Les sesquiterpenes	17
b.2 – Les composes aromatiques	17
5 – Biosynthèse des huiles essentielles :	18
6 – Chimiotaxonomie :	19
7 – Emploi des plantes à huiles essentielles :	20
a – En pharmacie	20
b – En parfumerie	21
c – Dans les industries agroalimentaires	21
8 – Aromathérapie :	22
9 – Modes d'emploi des huiles essentielles :	24
10 – Facteurs de variabilité des huiles essentielles :	24
a – Origine botanique	24
b – Le cycle végétatif	24
c – Les facteurs genetiques	24
c.1 – Les hybridations	24
c.2 – Les facteurs de mutation	25
c.3 – Les races chimiques	25

d – Le procede d'obtention	25
e – Influence des facteurs extrinseques	25
e 1 – La lumiere et temperature	25
e 2 – Les problemes phytosanitaires	25
e 2 1 – Les maladies	25
e 2 2 – Les ennemis animaux	25
f – La nature du sol	36
11 – Méthodes d'extraction des essences :	26
a – La technique de la pression	26
b – Extraction par solvants	27
b.1 – Extraction par solvants volatils	27
b.2 – L'épuisement par solvants fixes	28
c – La distillation a la vapeur d'eau	28
c.1 – L'hydrodistillation	29
c.2 – Entraînement a la vapeur d'eau	29
d – Autres procedes	30
12 – Purification ou traitements ultérieurs des essences :	30
13 – Falsification des huiles essentielles :	30
14 – Qualité et rendement des huiles essentielles :	31
15 – Conservation des huiles essentielles :	31
16 – Contrôle des huiles essentielles :	32
17 – Toxicité des huiles essentielles :	32
18 – Méthodes d'identification des constituants :	33

*** PARTIE PRATIQUE :** 35

CHAPITRE I : CHOIX DES STATIONS :	36
1 – Description des stations :	36
2 – Le bioclimat :	37

CHAPITRE II :	39
1 – Provenance de la plante d' <i>Ammoïdes verticillata</i> :	39
2 – Extraction des huiles essentielles d' <i>Ammoïdes verticillata</i> :	39
a – L'extraction par hydrodistillation	39
b – Extraction par entraînement a la vapeur d'eau	39
4 – Mode de purification de l'huile essentielle :	40
5 – Calcul des rendements :	40
a – Definition	40
b – Expression des resultats	40

CHAPITRE III : DETERMINATION DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES :	41
1 – Caractéristiques physiques :	41
a – Densite relative	41
a 1 – Definition	41
a 2 – Principe	41
a 3 – Expression des resultats	41
b – Pouvoir rotatoire	41
b.1 – Definition	41
b.2 – Expression des resultats	42
c – Point de congelation	42
c 1 – Definition	42
c 2 – Principe	42

c.3 – Expression des résultats :	42
d – Indice de réfraction :	42
d.1 – Définition :	42
d.2 – Principe :	42
d.3 – Description du réfractomètre :	43
d.4 – Expression des résultats :	43
2 – Caractéristiques chimiques :	43
a – Miscibilité à l'éthanol :	43
a.1 – Définition :	43
a.2 – Principe :	44
a.3 – Expression des résultats :	44
b – Indice d'acide :	44
b.1 – Définition :	44
b.2 – Principe :	44
b.3 – Expression des résultats :	45
c – Indice d'ester :	45
c.1 – Définition :	45
c.2 – Principe :	45
c.3 – Expression des résultats :	45
d – Dosage des constituants carbonylés :	45
d.1 – Définition :	45
d.2 – Principe :	45
d.3 – Expression des résultats :	46

CHAPITRE IV : ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES D'AMMOÏDES VERTICILLATA PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE : **47**

- Conditions opératoires

CHAPITRE V : ETUDE DU POUVOIR ANTIMICROBIEN DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AMMOÏDES VERTICILLATA ET DES ANTIMICROBIENS : **48**

1 – Provenance des germes étudiés :	48
2 – Purification et/ou identification des germes étudiés :	49
a – Identification des bactéries :	49
a.1 – caractères étudiés :	49
b – Identification des levures :	50
c – Identification des moisissures :	51
c.1 – Caractères culturaux :	51
c.2. – Caractères microscopiques :	51
3 – Le pouvoir antimicrobien des antibiotiques et des antifongiques :	51
a – L'antibiogramme :	51
a.1 – Les antibiotiques utilisés :	51
a.2 – Méthode utilisée :	52
b – L'antifongigramme :	53
b.1 – Les antifongiques utilisés :	53
b.2. – Méthode utilisée :	53
4 – Techniques d'étude du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'Ammoides verticillata :	53
a – Méthode de contact direct :	53
b – Méthode de Vincent :	54
5 – Détermination de concentrations minimales inhibitrices (CMI) :	54

6 – Préparation des inoculums : -----	55
7 – Etude statistique : -----	55
* RESULTATS : -----	56
CHAPITRE I : CALCUL DES RENDEMENTS : -----	56
a – Calcul des rendements des différentes stations -----	56
a 1 – Par hydrodistillation -----	56
a 2 – Par entraînement à la vapeur d'eau -----	56
b – Evolution du rendement en huile essentielle au cours du cycle végétatif de la plante -----	58
▪ Par hydrodistillation -----	58
CHAPITRE II : -----	60
1 – Caractères organoleptiques : -----	60
a – Aspect -----	60
b – Couleur -----	60
c – Odeur (parfum) -----	60
2 – Détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle d'<i>Ammoïdes verticillata</i> : -----	60
a – Propriétés physiques -----	60
a 1 – Densité relative -----	60
a 2 – Pouvoir rotatoire -----	60
a 3 – Point de congélation -----	60
a 4 – Indice de réfraction -----	61
b – Propriétés chimiques -----	61
b 1 – Miscibilité à l'éthanol -----	61
b 2 – Indice d'acide -----	61
b 3 – Indice d'ester -----	61
b 4 – Dosage des constituants carbonyles -----	62
c – Résumé de la partie physico-chimique de l'huile essentielle de Nunkha (<i>Ammoïdes verticillata</i>) -----	62
c 1 – Définition -----	62
c 2 – Spécifications -----	62
c 2 1 – Caractères organoleptiques -----	62
c 2 2 – Caractéristiques physiques -----	62
c 2 3 – Caractéristiques chimiques -----	62
CHAPITRE III : ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES D'<i>AMMOÏDES VERTICILLATA</i> PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE : -----	65
1 – Identification des huiles essentielles d'<i>Ammoïdes verticillata</i> -----	65
1 a- Par hydrodistillation -----	65
1 b- Par entraînement à la vapeur d'eau -----	66
2 – Comparaison de la composition chimique de l'huile essentielle d'<i>Ammoïdes verticillata</i> entre les deux méthodes d'extraction : -----	68
3 – Détermination des races chimiques : -----	69
4 – Evolution de la composition chimique des huiles essentielles d'<i>Ammoïdes verticillata</i> au cours du cycle végétatif : -----	71
CHAPITRE IV : ETUDE DU POUVOIR ANTIMICROBIEN DE L'HUILE ESSENTIELLE D'<i>AMMOÏDES VERTICILLATA</i> ET DES ANTIMICROBIENS : -----	74
1 – Identification des micro-organismes : -----	74

a – Identification des bacteries	74
b – Identification des moisissures	74
2 – Pouvoir antimicrobien des antibiotiques et des antifongiques :	79
a – L'antibiogramme	79
b – L'antifongigramme	82
3 – Techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles	
d'Amoides verticillata :	83
a – Methode de contact direct	83
b – Methode de Vincent	84
c – Determination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	87
d – Determination du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d' <i>Amoides verticillata</i> en fonction du temps selon la methode du contact direct	88
CONCLUSION :	89
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	92
ANNEXES :	99

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Connue et appliquée bien avant d'avoir été étudiée, la thérapeutique par les plantes est, sans doute, aussi ancienne que l'est la maladie, transmise en tous lieux de génération en génération (**Debuigue G, 1984**).

Jusqu'à nos jours, en dépit des progrès considérables de la chimie, de l'industrie pharmaceutique et de la médecine, les plantes médicinales n'ont rien perdu de leur importance. La pharmacie moderne continue à les utiliser comme matière première pour la préparation de certains médicaments (**Frantisek Stay ; Vaclar Jirasek, 1973**).

En effet, le développement des techniques d'analyses chimiques a permis de révéler qu'une espèce végétale peut synthétiser des milliers de constituants chimiques différents ceux-ci appartiennent à deux types de métabolisme : primaire et secondaire.

Le métabolisme secondaire, modelé par le temps et l'évolution, caractérise le profil chimique original de chaque espèce végétale, conduisant à une grande biodiversité moléculaire (**Wichtel M. ; Anton R., 1999**).

La pharmacologie utilise ces molécules car elles ont un effet spécifique sur d'autres organismes, parmi ces substances, les huiles essentielles qui caractérisent les plantes aromatiques (**Remmal A. et al, 1993**).

Le terme « essentielle » découle de la théorie de Paracelse, personnage extraordinaire, magicien et thérapeute, selon laquelle l'homme (le microcosme) est le miroir et l'image fidèle de l'univers (le macrocosme).

Paracelse prévoyait la possibilité d'extraire de la plante uniquement ce qui en constituait la partie active : les huiles essentielles qui représentent précisément la composante la plus subtile et purifiée de la plante.

Les huiles essentielles sont redevenues des vedettes en matières thérapeutiques car les incidents provoqués par des médicaments chimiques sont de plus en plus fréquents. D'autre part, de nombreux malades sont mieux traités par des substances naturelles dont les plantes et leurs essences (**Padrini F. ; Lucheroni M.T., 1996**).

Afin de mieux connaître les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles des plantes aromatiques Algériennes, nous nous sommes intéressés à l'étude d'une plante dite *Ammoides verticillata* (Nunkha) et ce pour les raisons suivantes :

- Elle est très utilisée par la population locale comme condiment et possède, principalement des propriétés antalgiques, anti-infectieuses et antispasmodiques.

- Elle fait partie des plantes endémiques
- Son huile essentielle n'est pas commercialisée
- Elle est très riche en thymol qui est très utilisée en médecine, car il possède une activité antimicrobienne considérable
- Emploi abusif de l'antibiothérapie qui entraîne des effets secondaires, ainsi que la résistance des souches vis-à-vis des antibiotiques

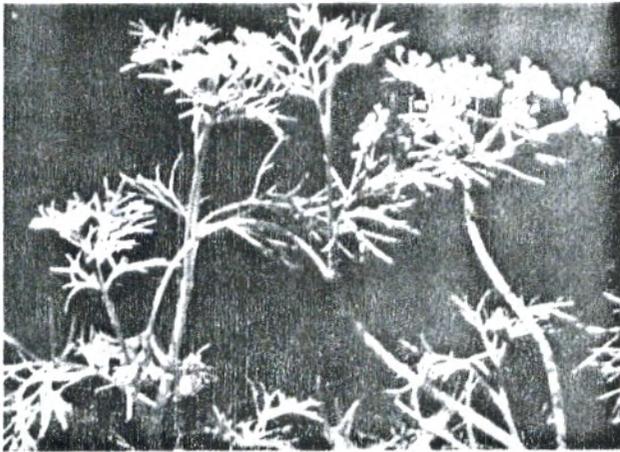
Ainsi, ce présent travail est divisé en deux parties

- La première consiste en une étude phytochimique se rapportant à
 - Obtention des huiles essentielles
 - Détermination des rendements en huiles essentielles en les quantifiant, le long du cycle évolutif de la plante étudiée
 - Étude physico-chimique des huiles essentielles
 - Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse
- Dans la deuxième partie, nous avons étudié le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de cette espèce végétale

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I :

1 - PRESENTATION DE LA PLANTE



Nom vernaculaire

Nounkha (Merad R., 1973)

Nûnkha (Sijelmassi A., 1991)

Nom scientifique

Ptychotis verticillata (Sijelmassi A., 1991 ;

Wehmer C., 1931).

Cependant, un problème se pose au niveau de la nomenclature. En effet, le genre correspondant à cette plante n'est pas encore définitivement fixé. Ainsi, selon **Quezel et Santa** (1963), la Nûnkha appartient au genre dit *Ammoïdes* (ou *Ptychotis Koch*), ou bien *Trachyspermum Boss*. Par ailleurs, il est à noter qu'elle est connue sous d'autres noms :



Fruits secs d'Ajowan (souvent nommés graines d'Ajowan)

Nom vernaculaire

Ajowan ou Ajawain

En Arabe : Taleb El Koubs

Noms scientifiques

Trachyspermum ammi (L.) Sprague

(Syn. *Carum copticum* (L.) Benth et Hook)

(Wehmer C., 1931 ; Narayana C. et al, 1966 ;

Brunke E.J., 1985).

Au niveau du recueil des normes françaises, la dénomination usuelle de la plante est Ajowan, et la désignation botanique est *Trachyspermum Ammi* (L.) Sprague ex. Turr., alors que la désignation botanique usuelle en France est *Carum copticum* Benth. et Hook. ; *Ptychotis ajowan* D.C. ou bien *Trachyspermum copticum* Link.

Ammoïdes verticillata est une plante odorante qui pousse spontanément dans le Nord d'Afrique (Maroc, Algérie, Tunisie) ainsi qu'en Asie (Inde, Pakistan). Cependant, les principaux cultivateurs sont l'Inde et Perse (Katzer G., 1998).

La saveur de cette plante est fortement aromatique et piquante. Son odeur agréable, diffusible, intense, fortement balsamique est persistante même après dessiccation.

L'extraction d'acide méthanolique à partir de cette plante fait preuve d'une bonne activité antioxydative, et est recommandée comme une source potentielle d'antioxydant naturel **(Mehta R.L. ; Zayas J.F., 1994 ; Mehta R.L. ; Zayas J.F, 1995).**

Les deux grandes qualités d'*Ammoides verticillata* sont sa forte action stimulante et son remarquable pouvoir antimicrobien. En effet, elle a une action très intéressante sur les maladies microbiennes.

Cette plante est très utilisée dans les préparations culinaires (rôti, soupes, légumes) grâce à son arôme fort, mais elle est considérée principalement comme une plante médicinale pour traiter les maladies du tube digestif (affections intestinales...)

En Inde, elle a toujours été utilisée comme source de thymol. Ce dernier est très utilisé en médecine contre la toux, l'irritation de la gorge et dans des cas de choléra **(Guenther E., 1950 ; Brunke E.J. , 1985 ; Katzer G. , 1998)**

Selon **Nigram et al (1963)**, la composition chimique de l'huile essentielle des graines d'*Ammoides verticillata* provenant d'Inde est la suivante : α -pinène (1,8%), camphène (0,5%), β -pinène (3,5%), myrcène (0,3%), δ -3-carene (0,5%), limonène (5,1%) γ -terpinène (34,9%) p-cymène, une quantité faible de carvacrol et comme composé majoritaire, du thymol.

Par ailleurs, en Pakistan, **Ashraf et Bhatti (1975)** avancent que les composants de l'huile essentielle des graines d'*Ammoides verticillata* sont : α -pinène (0,33-0,63%), camphène (0,56-0,63%), β -pinène (1,24-1,56%), δ -3-carene (0,42-0,80%), limonène (0,25-2,25%) γ -terpinène (18,70-20,35%) p-cymène (20,80-23,78%), carvacrol (4,50-6,80%), et le thymol (45,20-48,50%).

En outre, l'huile essentielle des graines d'*Ammoides verticillata* est très riche en thymol, soit entre (45-55%) **(NarayanaC., 1966).**

Enfin, en Algérie, l'étude qualitative et quantitative de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* de la région de Tlemcen a permis d'identifier 6 composés terpéniques dont le thymol qui constitue le composé majoritaire avec un pourcentage de (36,39%), suivi par le limonène (16,80%), le carvacrol (13,31%) ainsi que γ -terpinène (10,53%) et pour les constituants mineurs, il est à noter la présence de α -pinène avec un pourcentage de (2,31%) et le géraniol (1,10%) **(Mekadder A., 1995)**

2 – DESCRIPTION BOTANIQUE DE LA PLANTE :

a – Caractères botaniques :

Ammoides verticillata est une plante grêle à tige ramifiée. Elle peut atteindre 39 cm. Les feuilles inférieures possèdent de nombreux segments multifides verticilles et les postérieures sont pénaatifides à segments linéaires. L'inflorescence de cette plante est ombelliforme à fleurs de couleur blanche (**Merad R., 1973**).

Elle appartient à la grande famille des ombellifères, qui est la plus évoluée des dialypétales.

Son étude précise que cette plante possède une évolution à cycle dynamique tardif. Elle apparaît généralement au début du mois de mai. Son cycle de reproduction se poursuit même en juillet.

Il est à noter que l'apparition de cette plante ne se fait pas selon un « calendrier végétal » à dates plus ou moins fixes, mais reste étroitement liée au rythme des pluies, lui-même très irrégulier (**Béniston WS et NT, 1984**).

Selon **Quezel et Santa (1963)**, cette espèce végétale est spontanée, annuelle, à souche filiforme, à tiges très ramifiées de 10-40 cm, sans rosette de feuilles basales. Feuilles inférieures pétiolées à nombreux segments multifides verticilles, les supérieures pennatifides à segments linéaires. Ombelles principales à 8-15 rayons. Fruit ovoïde de moins de 1 mm de long. On la trouve généralement dans les champs, les pelouses, les montagnes et dans les forêts.

Pour **Nègre (1962)**, c'est une plante annuelle à tiges rondes à côtes rapprochées par 2 ou par 3, rougeâtre. Feuilles à gaine variable mais à segments tous étroitement laciniés, terminés par un mucron aigu. Ombelles à 8-15 rayons non involucreux, ombellules à nombreux rayons, involucrelle à pièces dimorphes, les externes spatuleuses, renflées sous le sommet aristé, les internes linéaires, lanceolées, longuement aristées. Fleurs à sépales à peu près indiscernables, pétales élargis au sommet et courbés extérieurement. Fruit petit, brun, à côtes peu visibles.

Pour **Battandier et Trabut (1902)(in Mekadder, 1995)**, la plante a un calice à limbe obsolète, des pétales avec une tache dorsale, des styles réfléchis dépassant peu le styloppode. Un fruit ordinairement scabre, papilleux, ovoïde renfermant six bandelettes par méricarpe, carpophore biparti, involucre oligophylle à folioles inégales ou nulles. La plante se trouve généralement sur les éboulis.

Enfin, d'après **Guinochet et Vilmorin (1975)**, c'est une plante annuelle de 15-35 cm, glaucescente à racines grêles pivotantes, tige dressée striée, grêle, à nombreux rameaux étalés. Feuilles adultes, stériles, pennatiséquées à 3-4 segments, très rapprochées, étroites, trifides.

Feuilles adultes fertiles pennatiséquées découpées en lamères capillaires, paraissant verticillées
 Ombelles petites à 6-12 rayons, capillaires très inégaux, les internes plus courts, involucre nul, involucrelle inégale ; 3 setacées, 2 spatulées et aristées. Fleurs blanches. Fruit de 1 mm de long environ, ovoïde très léger comprimé par le dos, recouvert de poils épais, 5 côtes primaires filiformes, proéminentes.

b – La formule florale et diagramme floral :

La formule florale est pentamère ($FF - 5S + 5P + 5E + 2C$). Les sépales sont en général très réduits, les cinq pétales libres, les étamines cinq alternipétales libres, insérées sur un disque plus ou moins apparent, l'ovaire est formé de deux carpelles antéro-postérieurs.



Fig (1) : Diagramme floral d'*Ammoides verticillata* ou (*Ptychotis verticillata*).
 – Observation à la loupe binoculaire –

c – Systématique du genre Ammoides (ou ptychotis) :

C'est la classification des êtres vivants d'après un système fondé sur l'emploi d'un seul ou d'un petit nombre de caractères génétiques, morphologiques et embryologiques.

La composition chimique est devenue un caractère taxonomique supplémentaire (**Lawrence B.M., 1980**).

Ammoides (ou *Ptychotis*) *verticillata* est classée selon la clé de détermination botanique, d'après **Quezel et Santa (1963)** et **Guinochet et Vilmorin (1975)** comme suit

Embranchement :	<i>Phanerogames</i>
Sous embranchement :	<i>Angiospermes</i>
Classe :	<i>Dicotyledones</i>
Sous-classe :	<i>Dialypetalae</i>
Série :	<i>Caliciflorae</i>
Ordre :	<i>Ombellales</i>
Famille :	<i>Ombelliferae</i>

Genre : *Ammoides (ou Ptychotis)*

Espèce : *Verticillata*

3 – ENQUETE THERAPEUTIQUE D'AMMOIDES VERTICILLATA :

Les qualités thérapeutiques d'*Ammoides verticillata* sont connues depuis les plus anciens dans la médecine populaire locale. Cette espèce possède des qualités précieuses et jouit d'une grande faveur populaire (**Sijelmassi A., 1991**)

Par ailleurs, **Merad (1973)** avance que l'infusion d'*Ammoides verticillata* est utilisée comme antipyrétique, rafraîchissante et antispasmodique (surtout conseillée dans les spasmes gastro-intestinaux).

En outre, **Ziyyat A. et al (1997)** avancent que *Ammoides verticillata* est une plante aromatique utilisée comme fébrifuge, conseillée contre la grippe, et possède des propriétés thérapeutiques contre l'hypertension et/ou le diabète.

Suite à notre enquête, réalisée auprès des herboristes et des gens de campagne de la région de Tlemcen, les informations qu'on a pu recueillir ont montré que la plante a des usages culinaires et surtout thérapeutiques, et sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Enquête thérapeutique d'*Ammoides verticillata*

Parties utilisées	Indications	Mode d'emploi	
Plante entière	Fièvre Rhumes-grippe Maladies broncho-pulmonaires	Bouillir de l'eau avec la plante mettre une serviette sur la tête et inhaler les vapeurs dégagées. Ensuite boire une tasse du mélange filtré avant de se coucher	
	Fièvre typhoïde Antipyrétique Dépuratif Antispasmodique Affections rénales	Décoction ou infusion	
	Règles douloureuses	Infusion	
	Régulateur dermique	Décoction	
	Asthme Douleurs gastriques Parasites intestinaux	Mélanger la plante lavée, séchée et broyée, avec du miel Prendre 1 cuillère à 2 par jour	
	Céphalée – Migraine	Décoction ou infusion avec un citron. Boire une tasse le soir avant de se coucher	
	Sinusite	Mettre la plante dans de l'eau bouillante, laisser infuser, ensuite mélanger avec du henné et mettre sur les endroits atteints (sinus osseux de la face)	
	Apaise la soif (rafraichissante)	Faire une décoction avec une tranche de citron, laisser refroidir puis mettre au réfrigérateur (boire comme une boisson rafraichissante)	
	Feuilles	Condiment culinaire	Ajouter les feuilles broyées dans des soupes, chorba, soupe d'escargot Conserve plus longtemps les aliments et empêche la formation de moisissures, exemple: les olives
		Irritations dermiques Absces – furoncle	Faire bouillir dans très peu d'eau, une poignée de feuilles fraîches d'Ammoides. Lorsque le liquide est presque complètement évaporé, mettre les feuilles cuites sur une serviette et les écraser pour en supprimer le suc. Laisser refroidir le cataplasme, puis l'appliquer sur la partie atteinte
Racines	Diarrhée	Faire bouillir pendant 20 minutes dans un litre d'eau des racines d'Ammoides séchées au soleil. Filtrer la décoction, la sucrer avec un peu de miel et la boire en trois fois au cours de la journée	
	Diurétique	Mettre dans un litre d'eau bouillante des racines d'Ammoides. Filtrer quand l'infusion est devenue tiède, sucrer avec un peu de miel. Consommer le tout dans la journée	

CHAPITRE II : LES PLANTES MEDICINALES

1 – INTRODUCTION :

Les plantes médicinales portent à la fois sur les plantes spontanées dites « sauvages » ou « de cueillette » et sur les plantes cultivées

a – Les plantes spontanées : Ce sont des plantes difficiles ou impossible de les cultiver Elles représentent encore, d'après certaines firmes importatrices, 60 à 70% des drogues du marché Européen. Quant à la valeur médicinale des plantes spontanées, elle se montre très inégale puis qu'elle varie suivant l'origine, le terrain et les conditions de croissance

b – Les plantes cultivées : La culture des plantes évite ces inconvénients Elle assure une matière première en quantité suffisante, homogène au double point de vue aspect et composition chimique Elle peut être intensifiée ou non suivant les besoins médicaux

Naturellement, la culture doit s'effectuer dans les meilleures conditions possibles et tenir compte, entre autres, des races chimiques (**Bazanger-Beauquesne L. et al., 1975**)

2 – LE MOMENT DE RECOLTE :

Le choix de la période de cueillette dépend du rythme naturel de la vie végétale Ce moment optimal varie, évidemment, selon les espèces de plantes, mais il dépend aussi de la partie de la plante à récolter En plus, il est toujours préférable de procéder à la récolte par un temps sec et chaud : les plantes mouillées de pluie ou de rosée s'altèrent, moisissent, fermentent, et perdent, de toute façon, toute valeur thérapeutique Le matin est le moment le plus favorable mais on peut toutefois cueillir aussi le soir, avant la fraîcheur (**Debuigue G., 1984**).

3 – LA PROCEDURE DE LA CUEILLETTE :

Les conditions de culture, de récolte, de séchage et de stockage ont une action déterminante sur la qualité des drogues végétales Ainsi, il vaut mieux cueillir les plantes dans un lieu peu fréquenté car les plantes destinées à être séchées, ne doivent en aucun cas être lavées. Donc, elles doivent être exemptes d'impuretés telles que terre, poussières, saleté, ainsi que d'infections ou de contamination animale Elles ne présentent aucun signe de pourriture ou d'endommagement (**Wichtel M. ; Anton R. , 1999**)

4 – LE SECHAGE DES PLANTES :

L'opération de séchage a pour but d'enlever aux plantes l'eau qu'elles renferment, pour assurer une bonne conservation, afin de favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique,

éviter la dégradation de certains constituants ainsi que la prolifération bactérienne (**Wichtel M. ; Anton R. , 1999**)

L'idéal serait de faire sécher les plantes à l'ombre par temps chaud, dans un endroit vaste et bien ventilé (**Debuigue G., 1984**)

5 – LA CONSERVATION ET LE STOCKAGE :

Il est préférable d'imposer une protection vis-a-vis de la lumière à toutes les plantes, car les feuilles, fleurs, ... etc se décolorent rapidement à la lumière, d'où une détérioration de leur aspect. En effet, la luminosité peut accélérer de nombreux processus chimiques, et entraîner une dégradation ou une modification des constituants présents. La température constitue un autre paramètre important et il est admis qu'une élévation de température de 10°C double la vitesse de dégradation. Donc, il est préférable de stocker les plantes dans un endroit bénéficiant d'une température et d'une humidité relative constantes (**Wichtel M. ; Anton R., 1999**).

6 – LA PHYTOTHERAPIE :

C'est le traitement des maladies par les plantes, transformée depuis le XIX^{ème} siècle par l'emploi des extraits de plantes, puis par celui des substances actives isolées de celles-ci (**Domar R. ; Bourneuf J., 1990**). La phytothérapie contemporaine est devenue une véritable science.

L'exploration de la flore du globe étant loin d'être complète et de nouvelles découvertes étant faites chaque jour sur les propriétés de certaines plantes, l'étude des vertus médicinales des plantes connues ou inconnues nous réserve encore, assurément beaucoup de surprises.

On peut affirmer que non seulement la médecine par les plantes est une médecine d'aujourd'hui, mais qu'elle connaît même un regain d'actualité grâce aux progrès de la science. Médecine lente, peut être, mais peu à peu bienfaisante et toujours inoffensive, la médecine par les simples ne devrait plus, dans notre monde actuel, être considérée comme une médecine en marge de la médecine officielle, mais devrait s'intégrer à celle-ci pour le plus grand bien du malade.

En apportant à la thérapeutique moderne sa précieuse et éternelle participation, cette médecine des premiers âges redonne au monde un peu de cette sagesse antique dont une civilisation outrancière nous a dépouillés (**Debuigue G., 1984**)

7 – MODE D'EMPLOI DES PLANTES MEDICINALES :

Pour assurer l'action du médicament, il est nécessaire de traiter la plante, de la transformer pour en tirer la substance ayant une action spécifique

Etant donné la multiplicité des composants constituant les principes actifs de chaque plante et la spécificité d'action de chacun d'entre eux, il a été nécessaire d'élaborer des méthodologies diverses, qui permettent, selon le but recherché, leur extraction (**Chiej R., 1982**)

Ces manipulations sont au nombre de quatre : la décoction, la macération, l'infusion et l'extraction des sucs (voir annexe I).

CHAPITRE III : GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES :

1 – DEFINITION :

Chaque fois que, après avoir écrasé un pétale de fleur, une feuille, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une huile essentielle s'est libérée.

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal. Elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air. (**Padrini F. ; Lucheroni M.T.,1996**)

Il est important de distinguer entre les huiles essentielles, les huiles fixes (huile d'olive) et les graisses contenues dans les végétaux. En effet

- Seules les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes et des graisses.
- Elles se distinguent des huiles fixes par leurs compositions chimiques et leurs caractéristiques physiques.
- Elles sont fréquemment associées à d'autres substances comme les gommes et les résines.

D'ailleurs elles tendent elles-mêmes à se résinifier par exposition à l'air.

2 – REPARTITION ET LOCALISATION DES HUILES ESSENTIELLES :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Il y aurait, selon **Lawrence(1980)**, 17500 espèces aromatiques.

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs (bergamotier, tubéreuse), mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus) et, bien que cela soit moins habituel, dans les écorces (cannelier), des bois (bois de rose), des racines (vétiver), des rhizomes (gingembre), des fruits (anis, badiane), des graines (muscade).

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon la localisation. (**Bruneton J.,1999**)

Le stockage et la synthèse des huiles essentielles peuvent s'effectuer dans des cavités, alvéoles ou poches (cas des hespéridés) ou canaux sécréteurs (cas de Pinus, des commiphora) se situant soit à la périphérie du fruit, soit dans des tissus plus profonds des racines, des tiges ou des

feuilles. Mais il arrive que ces sites consistent en formation très superficielle (poils ou trichomes glandulaires).

Chez les plantes médicinales et aromatiques, à l'exception de leurs racines, tout l'appareil aérien (tige, pétiole, feuilles et fleurs) présentent des formations glandulaires très développées, mais il ressort que la plus grande densité du système glandulaire est relevée sur le limbe foliaire, donc il convient de noter que les huiles essentielles sont élaborées au sein du cytoplasme de certaines cellules, elles s'en séparent par synérèse, sous forme de petites gouttelettes qui confluent ensuite en plages plus ou moins étendues. Par suite elles sont accumulées, sous la cuticule dans les poils glandulaires sécréteurs situés au niveau des deux épidermes de la feuille et sur les tiges pendant la longue période allant de l'épanouissement des feuilles hors du bourgeon au stade de feuilles adultes. De là, se remarque le rôle important de la cuticule dans le stockage des huiles essentielles (**Perrin A. ; Colsan M.,1983**)

Chez les ombellifères racine, tige et feuilles sont parcourues par des canaux sécréteurs qui contiennent un mélange d'essence et de résine. Ils sont surtout abondants dans les tiges, où l'on trouve en particulier un canal au niveau de chacune des cannelures. Ces canaux expliquent l'odeur forte qui se dégage des ombellifères lorsqu'on les écrase (**Guignard J.L., 1996**)

Les canaux sécréteurs sont des poches sécrétrices très allongées. Ces canaux sont protégés par une assise de tissus de soutien. En coupe transversale, le canal ressemble à une poche sécrétrice de faible diamètre entourée de 2 assises de cellules (**Demalsy-Feller P.et M.J.,1990**)

Selon **Belaïche (1979)**, la morphologie des formations glandulaires permet de distinguer différents types d'éléments sécréteurs

- Des cellules sécrétrices, incluses dans l'épiderme ou à l'extrémité des poils
- Des poches sécrétrices, formées par des cellules qui se sont modifiées
- Des canaux sécréteurs, obtenus par l'allongement des poches sécrétrices
- Des poils sécréteurs

3 – FONCTION DES HUILES ESSENTIELLES :

Le rôle des huiles essentielles n'a pas pu être clairement démontré. En effet, on considère qu'il s'agit de produits de déchets du métabolisme.

Toutefois, certains auteurs pensent que la plante utilise son huile essentielle pour repousser les insectes, ou au contraire pour les attirer et favoriser la pollinisation.

D'autres, la considère comme une ressource énergétique, facilitant certaines réactions chimiques.

D'autre part, elles conservent l'humidité nécessaire à la vie des plantes exposées à des climats désertiques. (Belaïche P., 1979)

4 – CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES HUILES ESSENTIELLES :

a – Propriétés physiques :

Hormis les différences, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur
- Leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions)
- Elles ont un indice de réfraction élevé
- Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels
- Ce sont des parfums, et sont de conservation limitée
- Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas)
- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire résinoïdes, très odorantes et volatiles
- À température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, exemple huile essentielle à azulène de coloration bleue
- Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur, comme à l'extérieur du corps, quelquefois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté (Bardeau F.,1976 ; Legrand G.,1978 ; Lemberg S.,1982 ; Bruneton J.,1999)

b – Composition chimique :

La détermination de la composition chimique a intéressé de nombreux chercheurs et les méthodes d'analyse chimique de plus en plus sophistiquées ont permis d'identifier un très grand nombre de constituants des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges plus ou moins complexes dont les constituants jouent du point de vue parfum des rôles d'inégale importance les uns contribuent puissamment à

5 – BIOSYNTHESE DES HUILES ESSENTIELLES :

On a longtemps pensé que les terpènes, considérés comme des produits ultimes du métabolisme, s'accumulaient dans les tissus spécialisés (glandes, poils, ...) et n'étaient pas repris par le métabolisme de la plante.

Mais, des expériences menées sur différentes espèces et dans des conditions variées ont pu établir que ces composés participent activement au métabolisme sans pour autant conclure au rôle qu'ils pouvaient jouer. Cependant, le catabolisme des essences aurait lieu pendant la période de déficience en produits issus de la photosynthèse (**Croteau R. ; Loomis W.D.,1973**) (Voir figure 2, annexe 1)

Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpénoïdes et les stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux (**Bruneton J.,1993**)

Selon les chercheurs, tous les terpénoïdes sont construits à partir d'unités isopréniques. Toutefois, l'isoprène n'a jamais été trouvé libre dans la nature. Par contre, on a trouvé dans les tissus vivants, un intermédiaire : l'acide mevalonique (**Brun N.,1987**)

Les précurseurs des principales classes de terpènes, formés par des réactions enzymocatalysées, sont des esters pyrophosphoriques d'alcools en $(C_5)_n$ formés par l'addition séquentielle d'une unité en C_5 , le pyrophosphate d'isopentenyle (IPP) sur une molécule starter, un pyrophosphate de prénil allylique, le premier terme de la série étant le pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP) (Voir figure 3, annexe 1)

- Géranyl pyrophosphate (GPP), précurseur des monoterpènes en C_{10}
- Farnésyl pyrophosphate (FPP), précurseur des sesquiterpènes en C_{15}
- Géranylgéranyl pyrophosphate (GGPP), précurseur des diterpènes en C_{20}
- Géranylfarnésyl pyrophosphate (GFPP), précurseur des sesterpènes en C_{25}
- La formation de triterpènes en C_{30} (et indirectement des stéroïdes) et des carotènes en C_{40} n'échappe pas complètement à la règle : ils proviennent du squalène et du phytoène, deux carbures respectivement issus du couplage réductif de deux unités de FPP ($2 \times C_{15} = C_{30}$) et de deux unités de GGPP ($2 \times C_{20} = C_{40}$)
- Dans le cas des polyprénils (caoutchouc et composés voisins) l'addition des unités en C_5 se poursuit un grand nombre de fois

Les trois séquences réactionnelles fondamentales qui justifient l'existence de tous les terpènes et stéroïdes sont :

- Formation des unités réactives en C_5 à partir de l'acétate, via le mevalonate

- Couplage tête-a-queue des unités isopréniques impliquées dans la formation des mono-, sesqui-, di-, sester-, et polyterpènes
- Couplage queue-a-queue des unités en C_{15} et C_{20} permettant l'élaboration des précurseurs des triterpènes (squalène) et des carotènes (phytoène) (**Bruneton J., 1993**).

• **Origine des unités en C_5** : Initialement, le marquage isotopique permet de montrer que le squelette carboné des terpènes provenaient de l'acétate. Ultrieurement, il fut démontré que l'acide mévalonique était un précurseur universel de ces composés.

L'étape initiale du processus implique la condensation des thioethers de l'acide acétique formation de l'acide acéto-acétique et condensation de celui-ci avec une molécule d'acétyl CoA ; la réaction est catalysée par une enzyme, l'hydroxyméthylglutaryl Coenzyme A synthétase. Une autre enzyme, l'hydroxyméthylglutaryl A reductase, réduit spécifiquement le 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-Coenzyme A (HMG-CoA) formé en acide 3R-mévalonique (MVA).

La conversion de l'acide mévalonique en structures hémiterpéniques débute par une double phosphorylation. Une nouvelle phosphorylation permet d'introduire un bon groupe portant le groupe pyrophosphate – dont l'élimination assistera la décarboxylation. La mévalonate-5-diphosphate décarboxylase induit la formation du pyrophosphate d'isopentényle (IPP) qui est isomérisé par l'isopentényle diphosphate A-isomérase en diméthylallylpyrophosphate (DMAPP). (**Bruneton J., 1993**) (Voir figure 4, annexe I)

6 – CHIMIOTAXONOMIE :

Depuis un certain temps, la convergence de la chimie et de la botanique a donné naissance à une discipline nouvelle, la « chimiotaxonomie » dont le développement est spectaculaire (**Adzet T. ; Passet J. , 1972**)

De même, **Rochleder(1933)(in Belaïche, 1979)**, estimait qu'une relation définie, existait entre la position systématique de la plante et les substances chimiques qu'elle renferme

De ce fait, on peut définir la chimiotaxonomie comme étant un outil à la disposition du botaniste pour différencier des espèces, sous espèces et hybrides de même morphologie, ce sont des chimiotypes et c'est sur l'analyse donnant les quantités des différents constituants d'une huile essentielle au cours de son cycle biologique qu'est basée la chimiotaxonomie (**Belaïche P., 1979**)

D'une certaine manière, l'essence représente la « personnalité » d'une plante, qui, en tant qu'être vivant, est unique et ne peut être reproduit. Elle porte en elle l'empreinte du végétal

dont elle provient et, si elle est pure et extraite d'une manière correcte et respectueuse, elle est extrêmement puissante. (Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996).

On entend par chimiotype, le type chimique d'une plante classé en fonction du constituant majoritaire de ses huiles essentielles. Par ailleurs, on entend par chimiotype mixte ou intermédiaire, le type chimique d'une plante classé en fonction de deux ou plusieurs constituants majoritaires de prépondérances voisines (Benmansour A., 1998). Deux chercheurs ont travaillé sur deux échantillons du calament, ils ont trouvé que l'une des deux essences est d'un chimiotype (pulégone – menthone – isomenthone), par contre l'autre échantillon appartient à un chimiotype totalement différent (carvone – 1.8 cinéole – limonène). Puisque chaque chimiotype possède un profil chimique qui lui est propre, les applications thérapeutiques qui en résultent sont évidemment différentes. (Wichtel M. ; Anton R. , 1999)

7 – EMPLOIS DES PLANTES A HUILES ESSENTIELLES :

Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles, peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs :

a – En pharmacie :

L'importance des plantes aromatiques est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle-ci leur confèrent de grandes perspectives d'application. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique. (Valnet J.,1984)

Les substances actives des plantes médicinales sont de deux types :

- Les produits du métabolisme primaire (essentiellement des saccharides), substances indispensables à la vie de la plante se forment dans toutes les plantes vertes grâce à la photosynthèse.
- Le second type de substances se compose des produits du métabolisme secondaire résultant essentiellement de l'assimilation de l'azote.

Ces produits apparaissent souvent inutiles à la plante, mais leurs effets thérapeutiques sont en revanche remarquables. Généralement, ces substances ne se trouvent pas dans la plante à l'état pur, mais sous forme de complexes qui se complètent et se renforcent dans leur action dans l'organisme. (Rubin M. ; Messali J.P. , 1988)

Dans leur grande majorité, les plantes médicinales sont utilisées en nature, en particulier pour la préparation d'infusions et sous la forme de préparations galéniques simples. Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dont certaines peuvent avoir un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes) mais qui, majoritairement, sont surtout destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale.

En effet, les huiles essentielles ont un champ d'action très large, elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des champignons et des virus.

été trouvé supérieur à celui de plusieurs fongicides du commerce (Singh A.K. et al , 1983)

De plus, les huiles essentielles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques, ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques de désinfection (Duquenois P. , 1968 ; Valnet J. , 1984) Elles sont utilisées comme anti-infectieux (girofle, eucalyptus, myrthe), analgésiques (girofle). Les essences d'eucalyptus qui, à cause de leur volatilité, favorisent l'expectoration et sont, de ce fait, indiquées dans les bronchites chroniques (Duquenois P. , 1968)

Les perspectives d'application peuvent s'étendre à d'autres domaines comme, par exemple, la stomatologie, le traitement des affections bactériennes et fongiques de la cavité buccale, les soins dentaires ou simplement pour l'hygiène dentaire sous forme de pâte dentifrice ou de pâte à mâcher. (Pellecuer J. et al., 1976)

b – En parfumerie :

L'industrie des cosmétiques et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier, pour les formulations de grande diffusion, les produits synthétiques (Bruneton J. , 1999). Puisque la majorité des cosmétiques contiennent une certaine quantité d'huile essentielle comme élément parfumant, il serait probable que ces essences servent aussi à préserver ces cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable (Beylier-Maurel F., 1976 ; De boucheberg M.S. et al. , 1976 ; Pellecuer J. et al. , 1976)

À la limite de la pharmacie et des produits d'hygiène, on notera la présence des huiles essentielles dans les préparations pour bains (bains « calmants » ou « relaxants »). On notera qu'il y a la une possibilité d'absorption percutanée des constituants terpéniques (Bruneton J. , 1999).

c – Dans les industries agroalimentaires :

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes utilisées dans l'assaisonnement des aliments a été reconnue depuis longtemps. C'est pour cela, que l'on pense de plus en plus à les utiliser dans la conservation des denrées alimentaires, sans pour autant en dénaturer le goût puisque ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires. C'est ainsi que l'on trouve le laurier dans certaines conserves et dans le miso qui est un mets japonais traditionnel (Kurita N. ; Koike S. , 1982)

Le thym peut être utilisé dans diverses préparations alimentaires comme le smen par exemple (Ismaili Allaoui M. , 1983 ; Banquour N. , 1984)

Busta et Foegeding en 1983, ont eux aussi étudié la conservation alimentaire par les épices, les aromates et les huiles essentielles qui sont rajoutées aux aliments pour rehausser le goût et qui ont aussi un effet antimicrobien empêchant les contaminants alimentaires de se développer. En effet, tous les segments alimentaires sont consommateurs : alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnes, sauces, soupes, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale (**Bruneton J. , 1999**)

Il est à noter que les huiles essentielles sont aussi utilisées dans le milieu hospitalier pour la désinfection des locaux. En 1979, **Mallea et al** ont rapporté l'utilisation du « paragam ». Ce produit se présente sous forme de bombe qui diffuse un brouillard de particules de l'ordre de 10 µm, d'une solution volatile à base d'essence naturelle (citron, lilas, citronnelle), d'alcools (salol, terpéol), d'acide benzoïque et surtout d'huiles hydrogénées (75%) Le pouvoir bactéricide, acaricide et fongistatique est établi. Il s'est révélé sans aucune toxicité pour l'homme.

8 – AROMATHERAPIE :

L'aromathérapie est le traitement des maladies et le développement du potentiel humain par l'utilisation des huiles essentielles extraites de manière à en conserver les caractéristiques et les propriétés. Il est inexact que l'aromathérapie est une découverte récente, elle est plus justement une redécouverte (**Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996**)

Nous savons que les anciens utilisaient les huiles essentielles pour embaumer les corps, pour combattre la putréfaction et pour conserver les aliments. Ces exemples ne confirment pas seulement une diversité des propriétés autres que celles requises en parfumerie, ils font également ressortir la caractéristique fondamentale des essences : leur pouvoir antibactériologique.

Pour lutter contre les agressions microbiennes, nous possédons aujourd'hui les antibiotiques ou autres médicaments similaires. Or ces produits non seulement enrayent l'infection mais affaiblissent en même temps l'organisme qui par la suite aura des difficultés à recréer son propre système de défense. Par contre, de récentes études ont pu revaloriser les essences et prouver que leur action antibiotique est exempte de toutes réactions secondaires sur les fonctions de l'organisme. En prenant connaissance de ces possibilités inestimables et des résultats positifs obtenus en laboratoire, on devrait être convaincu par ce type de traitement et le préférer à d'autres. L'essence de thym par exemple a un pouvoir antiseptique supérieur à celui de l'eau oxygénée et du gaiacol grâce à sa teneur en thymol. La solution aqueuse de

thymol détruit en deux minutes le bacille de la typhoïde, en quatre minutes le streptocoque, et en une heure le bacille de Koch (**Chiej R. , 1982**)

En effet depuis des millénaires, les essences sont exploitées pour leurs propriétés **antiseptiques** car elles s'opposent au développement des germes et les tuent

En outre, les essences sont dotées d'un pouvoir **antitoxique**, c'est-à-dire d'inactivation des produits de la détérioration des cellules dans les plaies infectées, elles se lient aux toxines et les désactivent, non pour cacher les mauvaises odeurs mais pour empêcher les processus de décomposition.

Il a été prouvé que le pouvoir antiseptique des essences ne diminue pas avec le temps. Le corps ne « s'accoutume » pas aux essences, mais celles-ci agissent toujours efficacement, en renforçant les défenses de l'organisme

Les propriétés antiseptiques des essences sont complétées par leur pouvoir **cicatrisant**. L'appel sanguin qu'elles provoquent stimulent, en effet, la régénération cellulaire

Des solutions aqueuses d'huiles essentielles, surtout celles de la famille des labiacées (lavande, sauge, romarin, thym), facilitent les processus de réparation des tissus et stimulent la cicatrisation des plaies et des ulcères cutanés, en prévenant les surinfections bactériennes

Les propriétés **anti-parasitaires** de certaines essences (de thym, de géranium et de laurier) se manifestent en éloignant certains insectes, vers et moustiques et dans le traitement des pédiculoses et de la gale

Certaines essences sont dotées de propriétés antitoxiques et **antivenimeuses** elles contribuent à neutraliser le venin des guêpes, des abeilles et des araignées (par exemple la lavande et le géranium).

De nombreuses essences ont des propriétés **antirhumatismales** et **antinévralgiques** (par exemple le romarin ou la camomille), utiles pour le traitement d'affections douloureuses articulaires (arthrose, goutte) Elles agissent aussi lorsqu'elles sont appliquées localement par compresse ou par massage, grâce à leur grande capacité de propagation, de l'épiderme aux tissus profonds.

La plupart des essences (par exemple le pin, le géranium, le basilic, la sarriette et le romarin) sont stimulantes et **tonifiantes** au niveau des glandes endocriniennes, entre autres, le cortex surrénal responsable de la capacité de résister au stress

De nombreuses essences ont des propriétés **stimulantes** sur l'appareil génital et sur la sensualité (par exemple le jasmin, le neroli ou le patchouli)

L'action **antispasmodique** est commune à de nombreuses essences (par exemple la lavande, la marjolaine, le verveine et la mélisse) Elle permet de traiter des cas de spasmes viscéraux tels que les coliques, le syndrome du colon irritable, le hoquet ainsi que la tendance aux coliques hépatiques ou rénales.

Certaines essences (par exemple la sauge, le cyprès, la verveine ou le fenouil) ont des propriétés **hormonales**, elles exercent une action de régulation sur les glandes endocriniennes, sans s'y substituer (**Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996**)

La renaissance de l'aromathérapie marque une nouvelle étape dans la consécration scientifique d'une branche très importante qui est la phytothérapie (**Chiej R. , 1982**)

9 – MODES D'EMPLOI DES HUILES ESSENTIELLES :

Les essences naturelles sont des substances très puissantes qui doivent être utilisées selon des indications très précises

L'on distingue deux grandes voies d'administration : la voie externe, par inhalation, par l'absorption épidermique, bain, et la voie interne (orale) (**Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996**) (voir annexe I)

10 – FACTEURS DE VARIABILITE DES HUILES ESSENTIELLES:

La qualité des huiles essentielles varie selon le moment de la cueillette, le type de terrain, le procédé d'extraction et la conservation

a - Origine botanique :

La composition d'une huile essentielle varie selon l'espèce productrice. En effet, il n'existe pas deux plantes offrant le même parfum (**Padrini F. ; Lucheroni M.T.,1996**)

b – Le cycle végétatif :

Pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long du développement. Des variations parfois très importantes sont couramment observées dans certaines espèces, par exemple, pour le coriandre, la teneur en linalol est 50% plus élevée chez le fruit mûr que chez le fruit vert. De ce fait, le choix d'une date de récolte s'impose (**Bruneton J. , 1999**)

c – Les facteurs génétiques :

c.1 – Les hybridations : Les hybridations introduisent l'hétérogénéité dans une population végétale. La composition des huiles essentielles issues de ces hybrides est variable et se situe en général entre celles des huiles essentielles des plantes mères

c.2 – Les facteurs de mutation : Par mutation, une nouvelle race chimique peut apparaître. Elle peut être à peine perceptible dans les caractères morphologiques, alors qu'elle est susceptible de provoquer de profondes modifications dans la composition de l'huile essentielle.

c.3 – Les races chimiques : Les chimiotypes – ou races chimiques – sont très fréquents chez les plantes à huiles essentielles, et ceci, pour une même espèce botanique.

Ces races chimiques peuvent fournir, de part leur composition, différentes huiles essentielles.

d – Le procédé d'obtention :

La labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. En effet, au cours de l'hydrodistillation, l'eau et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters, mais aussi, des réarrangements, des isomérisations, des racémisations et des oxydations.

Donc, pour assurer la qualité du produit et de sa constance, il faut étudier, définir et contrôler l'ensemble des paramètres, de la culture à l'élaboration du produit final (**Bruneton J. , 1999**)

e – Influence des facteurs extrinsèques :

La nature du sol ainsi que les conditions climatiques influent directement sur la production des huiles essentielles. Parmi ces facteurs, nous avons :

e.1 – La lumière et température : Elles sont les plus influentes sur la composition des huiles essentielles, d'ailleurs, elles agissent sur celle-ci simultanément. Certains auteurs admettent que la quantité d'essence augmente dans la journée, atteint un maximum dans l'après-midi ou le soir et diminue dans la nuit. D'autres disent, que les plantes destinées à l'extraction des essences doivent être cueillies avant l'aube, lorsque la rosée du matin est encore présente et avant que la chaleur n'en libère la substance aromatique. Cependant, sur d'autres espèces, on signale que le rendement nocturne en essence est de 20% supérieur à celui du jour.

e.2 – Les problèmes phytosanitaires :

e.2.1 - Les maladies : Les plantes malades sont caractérisées par une déformation, une chute prématurée des feuilles ainsi que des rameaux aux tâches brunes. La récolte est alors compromise, la qualité de l'essence dépréciée.

e.2.2 – Les ennemis animaux : Les plus dévastateurs et donc les plus redoutables sont les nématodes pathogènes. Par les attaques qu'ils occasionnent aux parties souterraines, ces derniers diminuent la longévité des cultures et des rendements.

f – La nature du sol :

Les pratiques culturales sont également déterminantes sur le rendement et la qualité du produit final. L'apport d'engrais et l'influence des variations N, P, K, ont été étudiées pour diverses espèces.

Les résultats des expériences concernant les recherches sur les fumures azotées de la menthe faites en Bulgarie au cours des années 1953-1955 représentent une très bonne illustration sur l'influence de la nature sur le rendement en huile essentielle

- L'azote augmente le rendement d'essence de menthe
- L'azote en combinaison avec d'autres éléments nutritifs, ainsi qu'avec le fumier de mouton influe sur le pourcentage en huile essentielle des plantes
- Le potassium employé seul, au contraire, diminue sensiblement la teneur en huile essentielle et n'a aucune influence sur le rendement en masse verte **(Georgiev E., 1959)**

11 – METHODES D'EXTRACTION DES ESSENCES :

Les essences ou huiles essentielles sont ce que les plantes produisent de plus précieux. Depuis les temps les plus reculés, les hommes se sont ingénies à trouver des techniques d'extraction des essences des plantes afin de pouvoir les utiliser pour en faire des médicaments, des cosmétiques, des parfums. **(Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996)**

Ainsi, après la récolte, et suivant la partie de la plante à extraire (plante entière, pétales de fleurs, fleurs, feuilles, racines ou fruits), le procédé d'extraction mis en œuvre est différent et par conséquent la composition de l'extrait en est affectée **(Garnero J. , 1976)**

Ce qui introduit cette diversité, c'est d'abord la variété des matières premières et ensuite la sensibilité considérable de certains parfums qui n'obligent à employer que des moyens peu violents sans interventions d'agents chimiques trop énergiques **(Khelfane F. ; Yousfi A., 1987)**

Le choix du type d'extraction doit permettre de

- Retirer des végétaux des essences aromatiques avec le rendement le plus élevé
- Conserver aussi intact que possible les parfums les plus délicats **(Khelfane F. ; Yousfi A., 1987)**

Parmi les différents procédés d'extraction, nous citerons principalement

a – La technique de la pression :

Peut-être est-ce la plus ancienne. Les Égyptiens utilisaient la pression à l'aide d'un sac pour extraire l'essence des pétales de fleurs. Cette méthode consistait à écraser les parties odorantes d'une plante fraîchement coupée puis à les enfermer dans un sac en lin que l'on

tordait à l'aide de deux bâtons enfilés dans deux anneaux places a l'extremite du sac. L'essence filtrait à travers la toile et était recueillie dans un récipient place en dessous (**Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996**)

Les huiles essentielles de fruits d'hesperides ou encore d'agrumes tels que le citron, le bergamote, l'orange, etc. ont une tres grande importance dans l'industrie des parfums, des cosmétiques, et également en aromathérapie. L'huile essentielle est contenue dans les sacs oléifères de l'écorce du fruit (péricarpe ou flavedo du fruit) que l'on designe encore sous le terme de zeste. Ces essences sont des produits tres fragiles en raison de leur composition terpénique et aldehydique. Aussi tous les procedes mis en œuvre pour les obtenir sont-ils des procédés à froid que l'on englobe sous le terme generique de « procédés d'expression a froid ».

Pour ce faire, on emploie des machines qui extraient l'huile essentielle en créant dans les écorces des zones de compression et de depression suffisantes pour que l'huile vegetale puisse être libérée. (**Garnero J. , 1991**).

b – Extraction par solvants :

b.1 – Extraction par solvants volatils : Quant a l'extraction par solvants volatils, elle a l'inconvénient d'entraîner une recuperation plus difficile des huiles essentielles, mais par ailleurs, elle a l'avantage de pouvoir traiter des vegetaux presentant un pourcentage infime de principes odorants. (**Chiej R. , 1982**)

Les solvants les plus utilises, sous reserves de legislations restrictives particulieres, sont les hydrocarbures aliphatiques ether de petrole, hexane, mais aussi propane ou butane liquide (sous pression). Si le benzene est un bon solvant, sa toxicite limite de plus en plus son utilisation. On a également recours aux solvants halogenes (derives chlores et fluores du methane et de l'éthane) et a l'éthanol, ce dernier etant surtout utilise pour l'obtention d'absolues et de resinoides lavés. Apres l'extraction, le solvant est distille. En fin d'operation, le solvant qui imbibe la masse vegetale est recupere par injection de vapeur d'eau dans celle-ci. Le choix du solvant est influence par des parametres techniques et economiques : selectivite (pouvoir solvant a l'égard des constituants odorants) , stabilite, inertie chimique, temperature d'ébullition pas trop elevee pour permettre son elimination totale, pas trop faible pour eviter les pertes et donc une elevation des coûts , securite de manipulation (**Bruneton J. , 1999**)

La premiere phase de ce processus consiste en la digestion des fleurs dans un recipient appele « digesteur ». La solution obtenue sera distillee, ce qui permettra alors de recuperer, d'une part le solvant, et d'autre part l'essence qui, a ce moment la, porte le nom d'essence concrete. Ce

produit présente des traces de matières étrangères et devra être traité avec un alcool pur, lequel ne pourra cependant pas dissoudre toutes les impuretés. Pour les éliminer, il faudra porter l'alcool à haute température afin de provoquer la concentration des résidus. C'est à ce moment là que la solution sera appelée extrait. Après une nouvelle distillation, elle deviendra enfin une essence dite absolue. (Chiej R. , 1982)

L'inconvénient majeur de l'extraction par les solvants est leur manque de sélectivité. De nombreuses substances lipophiles peuvent, de ce fait, se retrouver dans les concrètes (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, certaines coumarines) et imposer une purification ultérieure, nécessitant, ainsi, des procédés consécutifs laborieux afin d'obtenir un produit de pureté absolue. Un autre inconvénient réside dans la toxicité des solvants, règles contraignantes d'utilisation, problèmes des résidus dans le produit final (Bruneton J. , 1999)

b.2 – L'épuisement par solvants fixes :

- ***L'enffleurage*** : Il consiste à rendre soluble les principes odorants dans des matières grasses.

Cette méthode était très répandue en Perse, dans l'antiquité, pour produire un onguent de rose, ainsi qu'en Égypte. L'on répartissait, sur des grilles, une couche de graisse animale que l'on parsemait de pétales de fleurs les plus délicates. En fanant, les fleurs imprégnaient la graisse de leur parfum et on les remplaçait sans cesse par des fleurs fraîches jusqu'à ce que la graisse soit saturée de parfum. Les Égyptiens avaient coutume de remplir de graisse parfumée un cône qu'ils plaçaient sur leur tête. Avec la chaleur du corps, la graisse fondait petit à petit, en libérant la fragrance de l'essence.

Actuellement, cette technique n'est que rarement utilisée du fait de son coût élevé et on la réserve à certaines fleurs extrêmement délicates, comme le jasmin, la tubéreuse, les fleurs d'oranger. La substance ainsi obtenue a une concentration très élevée et elle est ensuite diluée et traitée avec d'autres solvants qui dissolvent la matière grasse (Padrini F. ; Lucheroni M.T. ,1996)

c – La distillation à la vapeur d'eau :

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile et elle se fonde sur la caractéristique que possèdent ces composantes qui peuvent être facilement transportées par des particules de vapeur d'eau en mouvement (Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996)

Elle peut être appelée distillation à feu direct, dite aussi à feu nu. C'est la méthode traditionnelle et le procédé le moins coûteux (Berrahma L. ; Saadit, 1989)

vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles, une quantité suffisante de vapeur permet largement l'isolement des essences de plante. Il existe deux grands modes de distillation :

c.1 – L'hydrodistillation : Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé [turbodistillation]) dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. **(Bruneton J. , 1999)**

c.2 – Entraînement à la vapeur d'eau : La substance végétale ne doit pas être posée directement sur la source de chaleur, pour ne pas détériorer l'huile, mais sur une grille se trouvant sur un alambic où de l'eau est en ébullition. Les alambics sont en acier inoxydable de capacité diverses surmontés d'un col de cygne relié à un réfrigérant tubulaire à la sortie du système. **(Badjah H.A.T. , 1987)**

Les particules de vapeur d'eau, se dirigeant vers le haut, font éclater les cellules contenant l'essence et entraînent avec elles les molécules odorantes. La vapeur passe ensuite à travers un récipient réfrigérant où la température diminue, provoquant le détachement des molécules huileuses des particules de vapeur, qui se condensent en eau. L'huile et l'eau se séparent du fait de leur poids spécifique différent : l'huile flottera sur l'eau car elle est plus légère.

A travers un robinet, on fait couler le distillat qui contiendra les composants hydrosolubles de l'essence (eau aromatique) et l'on obtient ainsi l'huile essentielle pure.

Parfois, les huiles obtenues sont soumises à une distillation supplémentaire, appelée rectification, pour éliminer certaines substances particulièrement irritantes, comme c'est le cas pour le thym, ou bien elles sont redistillées à des températures différentes afin d'obtenir des constituants comme le camphre blanc. **(Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996)**

Il est à noter qu'il est possible de travailler en surpression modérée afin de raccourcir le temps de traitement, limiter l'altération des constituants de l'huile essentielle et d'économiser l'énergie. **(Bruneton J. , 1999)**

La distillation exerce une action non négligeable sur les caractéristiques des huiles essentielles, et les réactions d'hydrolyse sont parmi les plus importantes. C'est ainsi que qualitativement et quantitativement les huiles extraites par petites quantités au laboratoire sont différentes de celles obtenues industriellement. **(Belaïche P. , 1979)**

Par ailleurs, il existe une autre méthode, c'est l'**hydrodiffusion** qui consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des

produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie.

d – Autres procédés :

Depuis quelques années, on assiste au développement de nouvelles technologies. C'est en particulier le cas de l'hydrodistillation par micro-ondes sous vide. Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle. L'huile essentielle est entraînée dans le mélange azeotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (sans ajout d'eau pour les produits traités en frais). Très rapide et peu consommateur d'énergie, le procédé livre un produit qui, le plus souvent, est de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (temps de travail divisé par 5 à 10 et température plus basse) (**Bruneton J., 1999**)

12 – PURIFICATION OU TRAITEMENTS ULTERIEURS DES ESSENCES :

Certaines huiles ne peuvent être utilisées à l'état brut et ce, du fait qu'elles peuvent contenir des constituants malodorants ou néfastes sur le plan thérapeutique. Par exemple, dans la pharmacopée française, se trouve l'huile essentielle de « niaouli » et l'huile essentielle de niaouli purifiée. Seule cette dernière peut être utilisée comme topiques destinés aux brûlures et aux plaies et entre dans les préparations anticatarrhales (**Belaïche P., 1979**)

Donc, il est parfois nécessaire de décolorer, de neutraliser, de rectifier les essences obtenues. La rectification permet d'éliminer les produits malodorants ou irritants, d'obtenir un produit final de « profil » déterminé. La déterpénation a pour but d'éliminer les carbures terpéniques. Elle n'est qu'un cas particulier de la rectification, mais peut tout aussi bien être réalisée par d'autres procédés, par exemple extraction sélective des composés oxygénés de l'essence par des alcools dilués puis distillation. L'utilisation de techniques chromatographiques, en particulier la chromatographie d'exclusion sur gel autorisent une bonne séparation des essences et des corps lipophiles non volatils, voire même un préfractionnement des mono et sesquiterpènes. (**Bruneton J., 1999**)

13 – FALSIFICATION DES HUILES ESSENTIELLES :

La falsification consiste à altérer, dénaturer, modifier volontairement en vue de tromper.

Les huiles essentielles sont souvent falsifiées par de l'alcool, des huiles fixes, des huiles essentielles de moindre valeur, par certains esters de synthèse et de la gélatine (**Valnet J., 1984**). Cependant leur efficacité laisse beaucoup à désirer et malheureusement l'on fait

porter la responsabilité de cet échec à l'essence par elle-même et l'on dévalorise de la sorte l'aromathérapie. **(Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996)**

14 – QUALITE ET RENDEMENT DES HUILES ESSENTIELLES :

La qualité des huiles essentielles dépend de plusieurs facteurs dont le procédé d'obtention, l'état de maturation, l'état de conservation et sa provenance

En effet, pour être pleinement efficaces, les plantes doivent provenir de lieux de culture favorables et avoir été cueillies, préparées et conservées avec soin. Tel n'est pourtant pas toujours le cas et l'on trouve donc souvent, dans le commerce, des huiles essentielles qui n'ont d'essentiel que le nom. **(Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996)**

La production des essences a un rendement très faible. Il peut varier de 1 à 10% c'est-à-dire que la quantité des huiles essentielles comme en toutes choses, doit obligatoirement se payer. **(Valnet J. , 1984)**

En effet, pour obtenir quelques grammes d'essence, il faut une grande quantité de végétaux. Par exemple, pour 100 kg de plantes, l'on obtient

- *Eucalyptus* : 3 kg d'essence
- *Genièvre* : de 0.500 à 1.2 kg
- *Hysope* : 400 g
- *Ylang-ylang* : 1.5 kg

Pour des essences plus prisées, telles que celles de rose, de jasmin, ou de fleur d'oranger, le rendement est encore plus faible. Il faut au moins trente roses pour extraire une seule goutte d'essence et mille kilogrammes de fleurs de jasmin pour en obtenir un litre. **(Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996)**

15 – CONSERVATION DES HUILES ESSENTIELLES :

Les huiles essentielles sont des substances très délicates, et s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile. Les risques de dégradation sont multiples : photoisomérisation, photocyclisation, coupure oxydative de propenylphénols, peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools (limonène)

Ces dégradations peuvent modifier leur propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté, à l'abri de la lumière et de la chaleur. **(Bruneton J. , 1999)**

16 – CONTROLE DES HUILES ESSENTIELLES :

Les huiles essentielles, objet de transactions commerciales souvent importantes en valeur monétaire, doivent répondre à des normes déterminant des critères chimiques, physiques et des variations tolérées.

La pharmacopée française énonce, pour les huiles essentielles qui y figurent, un certain nombre de contrôles à effectuer. Les examens pratiques portent sur

- *Les caractères organoleptiques* : aspect, odeur, couleur
- *Les caractères physiques* : densité, indice de réfraction, déviation polarimétrique, solubilité dans l'éthanol, point de congélation
- *Certaines caractéristiques chimiques* : indice d'acide, indice d'ester, indice de carbonyle

La connaissance de la composition d'un seul lot d'huile essentielle ne saurait définir celle-ci. En effet, la qualité des huiles essentielles varie selon le moment de la cueillette, le type de terrain, le procédé d'extraction et la conservation. **(Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996)**

17 – TOXICITE DES HUILES ESSENTIELLES :

Il est erroné de dire qu'un remède naturel ne peut pas faire de mal. Les poisons les plus puissants sont d'origine végétale. Par conséquent, il convient d'aborder le monde fascinant des traitements naturels avec un réel intérêt, de l'amour mais aussi toute la prudence nécessaire. **(Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996)**

Cependant, si certaines espèces peuvent être employées sans crainte pour soigner des affections banales ; nous devons, néanmoins, attirer l'attention des utilisateurs des remèdes naturels, sur les dangers ou les emplois abusifs, souvent méconnus, de plusieurs plantes toxiques. **(Benmerabet K. ; Abed L., 1982)**

En effet, l'automédication est favorisée par le fait que bon nombre de ces produits sont distribués en dehors du secteur pharmaceutique, au mépris d'une législation qui réserve la distribution de certains d'entre eux aux pharmaciens, ne garantissant ainsi aucun contrôle d'identité, ni de conformité.

La phyto-aromathérapie ne saurait être synonyme de « médecine douce » surtout si elle est pratiquée de manière anarchique. Comme le disait Paracelse « tout est poison, rien n'est poison, seule la dose compte ».

Certaines essences (hysopé, anis) peuvent présenter un risque de toxicité si elles sont utilisées en quantité élevée. Par quantité élevée, l'on entend 10 à 20ml d'essence. Certaines essences, a

un dosage élevé sont considérées comme légèrement toxiques pour des sujets sensibles : camphre, genièvre, encens, thym, eucalyptus, romarin

D'autres, bien que ne présentant pas de risque de toxicité, peuvent être irritantes, même si elles sont appliquées sur la peau : essence de basilic, de citron, de mélisse, de menthe, de thym et de fenouil. (**Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996**)

La toxicité immédiate par les huiles essentielles est mieux connue. Parmi ces intoxications selon **Bruneton (1999)**, on a :

- L'essence de safran induit des hémorragies utérines chez la femme
- L'essence de genévrier donne des hématuries chez l'homme
- Une dose de 2 g de menthol peut induire un spasme de la glotte qui mène à une asphyxie
- Le cisanethol provoque des convulsions
- Le carvacrol comme le thymol est très irritant, astringent et caustique, ingéré à la dose de 2g, il provoque un peu de gastralgie avec nausées, à plus fortes doses, il détermine la diarrhée
- On connaît aussi la neurotoxicité des huiles essentielles à thyonés ou à pinocamphone : ces huiles induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation

18 – METHODES D'IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS :

Plusieurs techniques chromatographiques sont destinées à confirmer l'identité d'une drogue et à garantir sa qualité pharmaceutique. Ces méthodes sont toutes fondées sur le même principe : séparation des substances présentes en mélange à l'aide d'un support solide (plaque, colonne) et d'un éluant (solvants organiques, gaz) (**Wichtel M., Anton R. ; 1999**).

De ces techniques, on cite :

- chromatographie en couche mince (CCM)
- chromatographie en phase gazeuse (CPG)
- chromatographie liquide (CL)
- chromatographie liquide à haute pression (CLHP)
- **Chromatographie en phase gazeuse :**

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode de séparation des composés gazeux susceptibles d'être vaporisés par chauffage. Elle permet ainsi l'analyse des mélanges

éventuellement très complexes dont les constituants peuvent différer d'une façon considérable par leur nature et leur volatilité (**Tranchant J., 1982**).

La chromatographie en phase gazeuse est particulièrement bien adaptée à l'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles que ce soit sur des colonnes classiques ou mieux, sur des colonnes capillaires. Ces derniers autorisent l'analyse de mélanges contenant une centaine (ou plus) de constituants ainsi que la détection des fraudes diverses (ajouts ponctuels « reconstitution ») (**Bruneton J., 1987**).

D'après la pharmacopée européenne, la chromatographie en phase gazeuse est un procédé de séparation où la phase mobile est un gaz vecteur et où la phase stationnaire, contenue dans une colonne, est constituée par un solide ou un liquide réparti sur un support solide inerte ou par un film liquide recouvrant uniformément les parois de la colonne. Le principe est fondé sur des phénomènes d'adsorption et/ou de partage.

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I : CHOIX DES STATIONS :

Les principaux facteurs géographiques qui influent de façon significative sur la végétation en Algérie, comme partout ailleurs, sont le climat (précipitations, températures, vents, radiation solaire etc.), le sol et l'altitude. En outre c'est surtout l'équilibre délicat de ces facteurs qui joue un rôle primordial à la fois dans le développement individuel des plantes et dans leur distribution (**Béniston, 1984**)

Le tapis végétal très diversifié de la région de Tlemcen offre une série de peuplements (herbacées, arbustifs et arbores). Ces espèces végétales occupent de vastes étendues au niveau des plaines et des versants montagneux (piémonts)

Ainsi, il a été choisi 1 et parfois 2 stations au niveau de chaque point cardinal de la région de Tlemcen, à savoir Beni-Saf, Pierre du chat, Ben-Sakrane, Sabra, Maghnia, Meffrouche et Tégma.

1 – Description des stations : Les différentes stations sont décrites dans le tableau 2

Tableau 2 : Situation géographique et bioclimat des différentes stations.

Stations	Localisation	Etages bio-climatiques	Altitude (m)	Latitude (Nord)	Longitude (Ouest)	Nature du sol
Béni-Saf	Zone littorale	Sémi-aride tempéré doux	130	35° 02'	1° 10'	Argilo-limoneux
Pierre du Chat	Bassin de Tlemcen (Plaine de Remchi)	Sémi-aride chaud	100	35° 01'	1° 11'	Argilo-silicieux
Ben-Sakrane	Bassin de Tlemcen	Sémi-aride Tempéré doux	250	34° 59'	1° 08'	Limoneux-sableux
Maghnia	Plaine de Maghnia	Sémi-aride chaud	390	34° 52'	1° 47'	Silico-calcaire
Meffrouche	Monts de Tlemcen	Sémi-aride tempéré doux	1190	34° 49'	1° 19'	Argilo-limoneux
Sabra	Versant Nord des Monts de Tlemcen	Sémi-aride chaud ou tempéré doux	590	35° 53'	1° 22'	Argilo-limoneux
Tégma	Piémont Nord-Est de Tlemcen	Sémi-aride tempéré doux	930	34° 50'	1° 17'	Argilo-limoneux

2 – Le bioclimat :

Le climat méditerranéen est un climat de transition entre la zone tropicale, avec un été très chaud et très sec, et la zone saharienne à hiver très froid. Ce climat est tempéré seulement en bordure de la mer. L'hiver est frais et plus humide (**Estienne et al., 1970**)

Selon **Barry-Lenger et al (1979)** la pluie et la température constituent la charnière du climat et influent directement sur la végétation. Les précipitations et les températures mensuelles moyennes et annuelles des différentes stations sont résumées dans les tableaux 3 et 4



Fig. 5 : Carte de local
(Tirée d'une carte to

	Station
	Route
	route
	Cours
	Ville
	Villag
	Chem

Cette enceinte est elle-même reliée à un réfrigérant qui condense les vapeurs d'eau que l'on recueille sous forme de distillat dans une fiole à decanter

Après plusieurs essais, nous avons opté pour une durée d'extraction de 3 heures.

3 - MODE DE PURIFICATION DE L'HUILE ESSENTIELLE :

Le distillat récupéré va être purifié (élimination de toute trace d'eau). Pour cela, nous avons utilisé un appareil appelé « trompe à vide », constitué d'un entonnoir en verre fritté, d'un erlenmeyer, et d'un aspirateur.

Le distillat est versé dans l'entonnoir, préalablement lavé avec de l'acétone, contenant du Na_2SO_4 qui a la capacité d'absorber toute trace de molécules d'eau.

On obtient une huile anhydrifiée. Elle est récupérée dans un tube à essai se trouvant à l'intérieur de l'erlenmeyer. Pour éviter toute dégradation de l'huile essentielle due à l'action de l'air et de la lumière, nos échantillons étaient conservés au réfrigérateur ($0-4^\circ\text{C}$) dans des tubes fermés et enveloppés d'un scotch noir.

4 - CALCUL DES RENDEMENTS :

a – Définition : Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse végétale sèche à traiter (Carré P., 1953).

b – Expression des résultats :

Les différents rendements en huile essentielle sont déterminés par la formule suivante :

$$R^{mi} = \frac{m}{m_0} \times 100$$

R^{mi} : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage

m : masse en gramme de l'huile essentielle

m_0 : masse en gramme de la masse végétale, à traiter, sèche

Le poids de l'huile essentielle est obtenu par différence de pesée du tube taré sur la balance analytique.

Pour une même station et une même période, nous avons pratiqué plusieurs extractions. Le rendement moyen d'huile essentielle est obtenu par la moyenne arithmétique

$$R^{mi} = \frac{\sum_{i=1}^n m}{\sum_{i=1}^n m_0} \times 100$$

R^{mi} : Rendement moyen.

CHAPITRE III : DETERMINATION DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES :

1 – CARACTERISTIQUES PHYSIQUES :

a – Densité relative : (NFT 75 111)

La densité relative est un critère important pour la détermination de la qualité et de la pureté de l'huile essentielle, sa valeur varie entre 0,696 et 1,28 à 20°C (**Guenther E., 1972**)

a.1 – Définition : La densité relative à 20°C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à 20°C, à la masse d'un égal volume d'eau distillée à 20°C (**AFNOR, 1992**).

a.2 – Principe : A l'aide d'un pycnomètre, pesées successives de volumes égaux d'huile essentielle et d'eau, à la température de 20°C (**AFNOR, 1992**)

a.3 – Expression des résultats :

La densité relative, D_{20}^{20} est donnée par la formule suivante

$$D_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : est la masse, en grammes, du pycnomètre vide

m_1 : est la masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'eau

m_2 : est la masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'huile essentielle

Note : Si l'on désire obtenir la masse volumique de l'huile essentielle, multiplier la densité relative par la masse volumique de l'eau, soit 0,99823 g/ml

b – Pouvoir rotatoire : (NFT 75 113)

b.1 – Définition : Le pouvoir rotatoire est un critère important de pureté de l'huile essentielle, et permet de définir si elle possède une activité optique dextrogyre ou levogyre (**Guenther E., 1972**).

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle α_D^t est l'angle, exprimé en milliradians et/ou degrés d'angle, dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100 mm de l'huile essentielle dans des conditions déterminées de température. (**AFNOR, 1992**).

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle en solution (dit « pouvoir rotatoire apparent ») $[\alpha]$: quotient du pouvoir rotatoire α_D^t de la solution d'huile essentielle par la masse d'huile essentielle contenue dans l'unité de volume (**AFNOR, 1992**)

b.2 – Expression des résultats :

Le pouvoir rotatoire, exprimé en milliradians et/ou degrés d'angle, est donné par la formule

$$a_D = \frac{A}{l} \times 100$$

A : est la valeur de l'angle de rotation, exprimée en milliradians et/ou degrés d'angle

l : est la longueur du tube utilisé, exprimée en millimètres

Signaler les pouvoirs rotatoires dextrogyres par le signe positif (+) et les pouvoirs rotatoires lévogyres par le signe négatif (-).

• Le pouvoir rotatoire dit « spécifique apparent » exprimé en milliradians et/ou degrés, est donné par la formule :

$$[a] = \frac{a_D}{C}$$

a_D : est le pouvoir rotatoire de la solution d'huile essentielle calculé

C : est la concentration de la solution d'huile essentielle, exprimée en grammes d'huile essentielle par millilitre de solution

c – Point de congélation : (NFT 75 102)

c.1 – Définition : Le point de congélation d'une huile essentielle est la température constante ou maximale observée pendant la phase de libération de la chaleur latente de solidification, lorsque cette huile essentielle à l'état liquide est refroidie suivant la méthode décrite (AFNOR, 1992).

Le point de congélation est exprimé en degré Celsius

c.2 – Principe : Observation des variations de température accompagnant la solidification des huiles essentielles quand elles sont refroidies lentement et progressivement (AFNOR, 1992)

c.3 Expression des résultats : Faire la moyenne des deux derniers résultats, cette moyenne est la valeur cherchée du point de congélation.

d – Indice de réfraction : (NFT 75 112)

d.1 – Définition : L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante (AFNOR, 1992).

d.2 – Principe : Suivant le type d'appareil utilisé, soit le mesurage direct de l'angle de réfraction, soit observation de la limite de réflexion totale, l'huile étant maintenue dans des conditions d'isotropisme et de transparence

d.3 – Description du réfractomètre : La mesure de l'indice de réfraction s'effectue à l'aide d'un réfractomètre classique, permettant la lecture directe d'indices de réfraction situés entre 1,3000 et 1,7000 avec une précision de $\pm 0,0002$

Le réfractomètre comprend un cadran et un oculaire dont lequel deux échelles sont visibles :

- Une échelle supérieure graduée de 1,3000 à 1,7000 indiquant la valeur de l'indice de réfraction que l'on note n^d .
- Une échelle inférieure graduée de 0 à 85 donnant en pourcentage la teneur en matières sèches des jus sucrés.

L'appareil doit être ajusté, de manière à donner, à la température de 20°C, les indices de réfraction suivants :

- 1,333 0 pour l'eau distillée
- 1,490 6 pour le p-cymène
- 1,568 5 pour le benzoate de benzyle
- 1,658 5 pour le bromo-1-naphtalène

d.4 – Expression des résultats :

L'indice de réfraction n_D^t , à la température de référence t , est donné par la formule

$$n_D^t = n_D^r + 0,0004(t' - t)$$

n_D^r est la valeur de la lecture, obtenue à la température t' , à laquelle a été effectuée la détermination.

2 – CARACTERISTIQUES CHIMIQUES :

a – Miscibilité à l'éthanol : (NFT 75 101)

La miscibilité à l'éthanol est un moyen rapide pour l'évaluation de la qualité d'une huile, la falsification des essences par des produits relativement insolubles affectent la solubilité (Guenther, 1972).

a.1 – Définition :

1 – une huile essentielle est dite miscible à V volumes et plus d'éthanol de titre alcoolométrique déterminé, à la température de 20°C, lorsque le mélange d'un volume de l'huile essentielle considérée avec V volumes de cet éthanol est limpide et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre, jusqu'à un total de 20 volumes

2 – Une huile essentielle est dite miscible à V volumes d'éthanol de titre alcoolométrique déterminé, à la température de 20°C, et se troublant par dilution à V' volumes, lorsque le mélange d'un volume de l'huile essentielle considérée avec V'

volumes de cet éthanol est limpide, puis devient trouble après addition graduelle de $(V' - V)$ volumes d'éthanol de même titre, et demeure trouble si l'on poursuit l'addition d'éthanol jusqu'à 20 volumes

3 – Une huile essentielle est dite miscible à V volumes d'éthanol de titre alcoolométrique déterminé, à la température de 20°C , avec un trouble entre V' et V'' volumes, lorsque le mélange d'un volume de l'huile essentielle considérée avec V volumes de cet éthanol est limpide, devient trouble après addition graduelle de $(V' - V)$ volumes d'éthanol de même titre, et redevient limpide après une nouvelle addition de $(V'' - V)$ volumes d'éthanol de même titre (AFNOR, 1992)

a.2 – Principe : Addition graduelle à une prise d'essai de l'huile essentielle, à la température de 20°C , d'éthanol de titre alcoolométrique convenable (AFNOR, 1992)

a.3 – Expression des résultats : La miscibilité de l'huile de l'huile essentielle à l'éthanol de titre t , à la température de 20°C , est exprimée de la façon suivante

1^{er} cas : 1 volume d'huile essentielle dans V volumes d'éthanol de titre t

2^{ème} cas : 1 volume d'huile essentielle dans V volumes d'éthanol de titre t , avec trouble à partir de V' volumes d'éthanol de même titre

3^{ème} cas : 1 volume d'huile essentielle dans V volumes d'éthanol de titre t , avec un trouble entre V' et V'' volumes d'éthanol de même titre, ou :

V : est le volume, en millilitres, de l'éthanol de titre t , nécessaire pour obtenir la solution limpide

V' : est le volume, en millilitres, de l'éthanol de titre t , nécessaire pour obtenir le trouble, succédant à la limpidité, s'il y a lieu

V'' : est le volume, en millilitres, de l'éthanol de même titre t avec lequel disparaît le trouble, succédant à la limpidité, s'il y a lieu

- Exprimer les valeurs de V , V' , V'' par des nombres avec une décimale.

b – Indice d'acide : (NFT 75 103)

b.1 – Définition : L'indice d'acide (I A) est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huile essentielle (AFNOR, 1992)

b.2 – Principe : Il consiste à neutraliser les acides libres par une solution étalonique d'hydroxyde de potassium titrée (AFNOR, 1992)

b.3 – Expression des résultats :

L'indice d'acide est donné par la formule

$$I.A = 5,61 \frac{V}{m}$$

V : est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de potassium

m : est la masse, en grammes de la prise d'essai

c – Indice d'ester : (NFT 75 104)

c.1 – Définition : L'indice d'ester (I.E.) est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans un gramme d'huile essentielle (AFNOR, 1992)

c.2 – Principe : Il consiste en hydrolyse des esters par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une solution étalonique titrée d'hydroxyde de potassium, et dosage de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique (AFNOR, 1992)

c.3 – Expression des résultats :

L'indice d'ester est donné par la formule

$$I.E. = \frac{28,05}{m} (V_0 - V_1) - I.A$$

V_0 : est le volume, en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai à blanc.

V_1 : est le volume, en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour la détermination

m : est la masse, en grammes, de la prise d'essai

I.A : est la valeur de l'indice d'acide

Lorsque la détermination est effectuée sur la solution provenant de la détermination de l'indice d'acide, l'indice d'ester est donné par la formule suivante

$$I.E. = \frac{28,05(V_0 - V_1)}{m}$$

d – Dosage des constituants carbonylés : (NFT 75 114)

d.1 – Définition : L'indice de carbonyle d'une huile essentielle est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium par gramme d'huile essentielle, nécessaire à la neutralisation de l'acide chlorhydrique libéré dans la réaction d'oximation avec le chlorure d'hydroxylammonium.

d.2 – Principe : Il consiste à transformer les constituants carbonyles en oximes par réaction avec le chlorure d'hydroxylammonium, puis titrage de l'acide chlorhydrique libéré dans cette réaction, avec une solution étalonique d'hydroxyde de potassium

d.3 – Expression des résultats :

L'indice de carbonyle, exprimé en mg d'hydroxyde de potassium par g d'huile essentielle, est donné par la formule :

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

C : est la concentration, en mole/l de la solution d'hydroxyde de potassium.

m : est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

V : est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour la détermination.

Remarque : Il est à noter que pour chaque station :

- La dose de chaque essai était de 2g et ceci pour tous les paramètres chimiques étudiés.
- La durée de dosage était de 2 heures pour l'indice de carbonyle.

CHAPITRE IV : ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES D'AMMOÏDES VERTICILLATA PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

Nous avons effectué des analyses chromatographiques des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* afin de pouvoir :

- Déterminer la composition chimique (nature et teneur en chacun des constituants) de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*.
- Mettre en évidence le chimiotype de l'huile essentielle de cette plante des différentes stations étudiées.
- Etudier l'évolution de la composition chimique de l'huile essentielle de cette espèce a différents stades d'avancement de son cycle végétatif

• Conditions opératoires :

Nous avons effectué les analyses des huiles essentielles d'*Ammoides Verticillata* (Nûnkha) à l'université Claude Bernard Lyon I (France), dans un laboratoire de chimie industrielle, UMR 5078 du CNRS.

Les conditions opératoires de chromatographe sont décrites ci-après. Le chromatographe est de type Delsi modèle Di200, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.

- pression d'hydrogène : 0,9 bar
- pression d'air : 0,6 bar
- gaz vecteur : azote ; pression : 0,75 bar
- sensibilité : 10^{-11} A/mV
- colonne : capillaire apolaire de type 25QC3 (25m x 0,32 mm) (épaisseur du film : 0,5 micron)
- enregistreur : Shimadzu chromatopac C-R6A , atténuation 3 , vitesse de déroulement du papier : 5mm/mn
- la température de l'injecteur est de 250°C, et celle du détecteur est de 280°C
- la température linéaire est programmée depuis 80°C jusqu'à 250°C, à raison de 2°C/mn.

Le volume injecté est de 1µl de solution hexanique d'huile essentielle à 5% (V/V) dans l'hexane, avec diviseur de fuite 1/10°.

L'analyse qualitative a été faite à partir d'échantillons étalons de terpenes par comparaison des temps de rétention.

CHAPITRE V : ETUDE DU POUVOIR ANTIMICROBIEN DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AMMOÏDES VERTICILLATA ET DES ANTIMICROBIENS :

Depuis des millénaires, les essences sont exploitées pour leurs propriétés antiseptiques car elles s'opposent au développement des germes et les tuent. Leur pouvoir antiseptique est général bien qu'elles aient des compositions chimiques très différentes et il se vérifie aussi bien en présence de leur vapeur que par contact direct, même si elles sont diluées.

Pour cela, nous avons voulu étudier le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* vis-à-vis de groupes différents de micro-organismes : bactéries, levures et moisissures.

Dans ce chapitre nous allons traiter les parties suivantes :

- Provenance des germes.
- Purification et vérification de l'identification.
- Effet antimicrobien des antibiotiques et des antifongiques.
- Etude du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata*.

1 - PROVENANCE DES GERMES ETUDIÉS :

Les souches pathogènes utilisées sont présentées dans le tableau 5. Elles sont parmi ceux qui causent les maladies les plus courantes, ^{ce} se sont aussi des contaminants fréquents (comme les champignons), provoquant ainsi des infections importantes.

Tableau 5 : Provenance des germes étudiés.

SOUCHES UTILISEES	ORIGINE
BACTERIES	
Bactéries à gram négatif	
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P ₁) ATCC 27853	Laboratoire vétérinaire de Tlemcen (L.V.R.T.)
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P ₂)	Laboratoire de microbiologie DB (Tlemcen).
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P ₃)	Laboratoire de microbiologie DB (Tlemcen).
- <i>Escherichia Coli</i> (E ₁) ATCC 25922	Laboratoire vétérinaire de Tlemcen (L.V.R.T.)
- <i>Escherichia Coli</i> (E ₂)	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (C.H.U)
- <i>Escherichia Coli</i> (E ₃)	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (C.H.U)
- <i>Escherichia Coli</i> (E ₄)	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (C.H.U)
- <i>Escherichia Coli</i> (E ₅)	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (C.H.U)
- <i>Citrobacter freundii</i> (Ci)	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (C.H.U)
- <i>Salmonella typhi</i> (Sl.)	Laboratoire de microbiologie de l'hôpital (C.H.U)
- <i>Klebsiella pneumoneae</i> (Kl.)	Laboratoire vétérinaire de Tlemcen (L.V.R.T.)

Bactéries à gram positif	
- <i>Listeria monocytogenes</i> (L ₁) ATCC 19111	Laboratoire de microbiologie DB (Tlemcen) (M ^r Boudjemaa)
- <i>Listeria monocytogenes</i> (L ₂) ATCC 19 115	Laboratoire de microbiologie DB(Tlemcen) (M ^r Boudjemaa)
- <i>Staphylococcus aureus</i> (St ₁) ATCC 601	Laboratoire de phytopharmacie.Paris 7 (France) (M ^r Zaoui)
- <i>Staphylococcus aureus</i> (St ₂) ATCC 602	Laboratoire de phytopharmacie.Paris 7 (France) (M ^r Zaoui)
LEVURES	
- <i>Candida albicans</i> (C ₂) ATCC 64 550	Laboratoire de mycologie DB (Tlemcen) (M ^r Moussaoui)
- <i>Candida albicans</i> (C ₃) ATCC 9 036	Laboratoire de mycologie DB (Tlemcen) (M ^r Moussaoui)
MOISSISSURES	
- <i>Aspergillus flavus</i> (A)	Laboratoire de mycologie DB (Tlemcen) (M ^r Moussaoui)

2 – PURIFICATION ET/OU IDENTIFICATION DES GERMES ETUDIES

Avant la détermination du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*, on a procédé à la purification et/ou identification des souches microbiennes en étudiant leurs caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques

a - Identification des bactéries :

a.1 – Caractères étudiés :

- Morphologie et coloration
 - Aspect des colonies
 - Mobilité : examen à l'état frais
 - Coloration de Gram
- Caractères biochimiques et physiologiques
 - Tests classiques
 - Type respiratoire
 - Recherche de la catalase
 - Recherche de la cytochrome-oxydase
 - Tests complémentaires (API 20E) pour les entérobactéries

La galerie API 20 E comporte 20 microtubes contenant des substrats deshydratés pour la mise en évidence d'enzymes ou l'utilisation de sucres. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée avec une culture pure. Les réactions produites pendant la période d'incubation (24h à 48h à 37 ± 1°C) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Pour les staphylocoques, on a utilisé des galeries API staph. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture livré avec les galeries, et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique. Les souches, ainsi identifiées, sont conservées dans de la gélose nutritive inclinée à 4°C.

Tableau 6 : Liste des caractères étudiés

Coloration de Gram	+ -	Saccharose (SAC)	+ -
Mobilité	+ -	Arabinose (ARA)	+ -
Type respiratoire	+ -	Mannitol (MAN)	+ -
Forme	+ -	Fructose (FRU)	+
Cytochrome oxydase (ox)	+ -	Glucose (GLU)	+ -
Catalase	+ -	Maltose (MAL)	+
Hydrolyse gélatine (GEL)	-	Mélibiose (MEL)	+ -
Réduction nitrate (NIT)	+ -	Amygdaline (AMY)	-
β -galactosidase (ONPG)	-	Inositol (INO)	-
Hydrolyse urée (URE)	+ -	Rhamnose (RHA)	+ -
Production indole (IND)	+ -	Mannose (MNE)	+
Production H ₂ S	+ -	Sorbitol (SOR)	-
Production acétoine (VP)	+ -	N- acétyl glucosamine (NAG)	+
Arginine dihydrolase (ADH)	+ -	Citrate (CIT)	-
Lysine décarboxylase (LDC)	-	D-tréhalose (TRE)	+
Ornithine décarboxylase (ODC)	-	Xylitol (XLT)	+
Hydrolyse esculine (ESC)	+	Raffinose (RAF)	+
Tryptophane désaminase (TDA)	-	Xylose (XYL)	+
Staphylocoagulase	+	α -méthyl D-glucoside (MDG)	+
Désoxyribonucléase (Dnase)	+	Lactose (LAC)	+ -
Pouvoir hémolytique	+		
β -naphtyl ac. Phosphatase (PAL)	+		

+ : Testé chez les souches à Gram positif

- : Testé chez les souches à Gram négatif

b – Identification des levures :

Pour les souches de levures choisies, on a étudié les caractères morphologiques qui sont : l'aspect des colonies, pigmentation, l'examen à l'état frais, puis la formation des chlamydospores. Les souches sont conservées dans de la gélose sabouraud inclinée (additionnée de chloramphénicol et d'actidione) à 4°C

c - Identification des moisissures :

c.1 – Caractères cultureux :

Les caractères cultureux sont étudiés à l'œil nu et à la loupe binoculaire (aspect morphologique des colonies, pigmentation des spores, changement de couleur du milieu (sécrétion et présence d'exsudats), gouttelettes transpirées par le mycélium).

c.2 – Caractères microscopiques :

L'examen microscopique est effectué par la méthode des microcultures (Harris, 1989) et à l'aide du manuel de Barnett (1972), sur une boîte de pétri contenant une mince couche du milieu PDA acidifié, un petit carreau est découpé, ensuite déposé sur une lame stérile. Les spores du champignon à identifier sont réparties sur les bords de ce carreau, qui est ensuite recouvert d'une lamelle. Le dispositif est déposé dans une boîte de pétri.

Pour éviter que la lame touche le papier filtre, elle est maintenue par un support fait de deux pipettes pasteur en position parallèle.

Après incubation de 3 à 5 jours à une température de $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, la lamelle est prélevée et déposée sur une lame stérile, avec une goutte de bleu de méthylène, la lamelle est par la suite scellée, et on procède à l'observation des lames au microscope optique.

Après l'identification, les moisissures sont conservées dans de la gélose PDA inclinée (additionnée de 14 ml par litre d'une solution stérile à 10% d'acide tartrique), à 4°C .

3 – LE POUVOIR ANTIMICROBIEN DES ANTIBIOTIQUES ET DES ANTIFONGIQUES :

a – L'antibiogramme :

Le choix des antibiotiques a été établi en fonction de ceux utilisés dans le laboratoire de microbiologie à l'hôpital.

a.1 – Les antibiotiques utilisés :

• *Bêta lactamines :*

▪ *Pénicillines :*

- Ampicilline (AM) : 10 μg
- Carbénicilline (CB) : 100 μg
- Pipéracilline (PIP) : 100 μg
- Amoxicilline (AMX) : 25 μg

▪ *Céphalosporines :*

- Céfalotine (CF) : 30 μg
- Céfazoline (CZ) : 30 μg

- **Aminosides :**
 - Streptomycine (S) : 10µg
 - Tobramycine (TM) : 10 µg
 - Amikacine (AN) : 30 µg
 - Gentamicine (GM) : 10 UI
- **Tétracyclines :**
 - Tétracycline (TE) : 30 µg
- **Macrolides :**
 - Erythromycine (E) : 15 µg
 - Clindamycine (CC) : 2 µg
- **Sulfamides et associations :**
 - Triméthoprime-Sulfamides (SXT) : 1,25 + 3,75 µg
- **Quinolones :**
 - Acide nalidixique (NA) : 30 µg
 - Pefloxacin (PEF) : 5µg
- **Phénicols :**
 - Chloramphénicol (C) : 30 µg
- **Divers :**
 - Rifampicine (RA) : 30 µg
 - Vancomycine (VA) : 30 µg

a.2 – Méthode utilisée :

L'étude de l'antibiogramme a été effectuée selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose ou méthode de disques conçue par **Chabert en 1973**

Pour la préparation des inoculums, on a utilisé la même méthode citée ultérieurement

A l'aide d'un distributeur de disques, nous avons placé sur la gélose (MH) séchée les différents disques d'antibiotiques choisis, puis les boîtes sont laissées séchées durant 30 minutes à la température ambiante pour avoir une bonne diffusion de l'antibiotique. Elles sont ensuite mises à l'étuve à $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 18 à 24 h

La lecture se fait par la mesure du diamètre de l'aureole d'inhibition, puis comparée à une échelle étalonnée fournie par l'Institut de Pasteur

b – L'antifongigramme : (Baspeyras M. ; Créteil, 1987)

L'antifongigramme est un test de laboratoire qui permet de déterminer la sensibilité des champignons aux traitements antifongiques. Ce test a été réalisé sur des souches de levures (*Candida albicans* C₂ et C₃) et sur la moisissure (*Aspergillus flavus*)

b.1 – Les antifongiques utilisés :

- Amphotéricine B (AB) : 100µg
- Econazole (EC) : 50µg
- Miconazole (MCZ) : 50µg
- Clotrimazole (CTR) : 50µg
- 5-Fluorocytosine (FC) : 1µg

b.2 – Méthode utilisée : (Baspeyras M. ; Créteil, 1987)

On a utilisé la même technique que l'antibiogramme. L'antifongique est déposé sous forme de petits disques à la surface du milieu de culture. Ensuite, les boîtes sont incubées à 30° ± 1°C pendant 24 h à 48 h pour les levures et à 25° ± 1°C pendant trois à cinq jours pour les moisissures.

4 – TECHNIQUES D'ETUDE DU POUVOIR ANTIMICROBIEN DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AMMOIDES VERTICILLATA :

a – Méthode de contact direct : (Beylier-Maurel, 1976 ; Courvallin et al., 1985) modifié par (Bendjilali et al., 1986)

Un volume de 2,5 ml de Tween 80 est étendu à 90 ml avec l'eau distillée et stérilisé à 120°C pendant 15 minutes. À 9 ml de cette solution, on ajoute aseptiquement, 1 ml d'huile essentielle de façon à ce que le rapport huile essentielle/Tween 80 soit de 80/20, car il a été démontré par (Allegrini et al., 1973) que ce rapport donnait des émulsions assez stables, et de ce fait, il a été utilisé par plusieurs autres auteurs auparavant **Banquour** en 1984 et **Bendjilali** en 1986.

On obtient ainsi la solution mère « SM », à partir de laquelle, on procédera à des dilutions successives pour obtenir les différentes concentrations voulues.

× Dans des tubes à essais contenant chacun 13,5 ml de milieu de culture gélose et encore en état de fusion, on ajoute aseptiquement 1,5 ml de la solution « SM » ou des diverses dilutions de cette solution de façon à obtenir des concentrations (V/V) en huile essentielle, dans le milieu de culture, de 10⁻¹ à 10⁻⁴.

Dans le tube témoin, on ajoute 1,5 ml de la solution de Tween 80 dans l'eau distillée.

On agite les tubes, on coule dans des boîtes de petri, et on laisse refroidir.

Les micro-organismes sont ensuite ensemencés en surface en nappe. Après une durée d'incubation qui se fait à $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24 h pour les bactéries, à $30^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 48h pour les levures et à $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 7 jours pour les moisissures, on procède à la lecture des résultats.

Tableau 7 : Gamme de concentrations d'huile essentielle utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Dilutions	S.M	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
Volume d'H.E. dans chacune des dilutions En (μl)	1000	100	10	1	0,1
Concentrations d'H.E. dans chacune des dilutions en (mg/ml)	86	8,6	0,86	0,086	0,0086
Concentration d'H.E. dans le milieu en ($\mu\text{g/ml}$)	23243	2324,3	232,43	23,243	2,3243

b – Méthode de Vincent :

Elle est appelée aussi technique de l'antibiogramme (Jacob et al., 1979). Dans cette méthode on utilise des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégnés d'huile essentielle et déposés à la surface d'un milieu gélosé en boîte de pétri préalablement ensemencées en surface en nappe à l'aide d'une suspension de germe choisi.

Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Note : L'huile essentielle est déposée sous volume de 3 μl sur des disques stériles.

5 – DETERMINATION DES CONCENTRATIONS MINIMALES INHIBITRICES (CMI) :

Pour déterminer les CMI, nous avons suivi les mêmes étapes que pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne, en variant les concentrations de l'huile essentielle dans le milieu gélosé (Tableau 8).

Tableau 8 : gamme de concentrations d'huile essentielle utilisées pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice.

	1/10	1/11	1/12	1/13	1/14	1/15	1/16	1/100
Volume d'H.E. dans chacune des dilutions (en μl)	100	99	98	97	96	95	94	10
Concentrations d'H.E. dans chacune des dilutions (en mg/ml)	$8,6 \times 0,99$	8,514	8,428	8,342	8,256	8,17	8,084	0,86
Concentrations d'H.E. dans le milieu (en $\mu\text{g/ml}$)	2324,3	2301,08	2277,83	2254,59	2231,35	2208,1	2184,86	232,43

Remarque : Les milieux utilisés pour les différentes méthodes sont

- Mueller-Hinton (MH) pour les bactéries
- Sabouraud + Chloramphénicol pour les levures
- PDA + 14 ml/l de solution stérile à 10% d'acide tartrique pour les moisissures

6 – PREPARATION DES INOCULUMS :

- ***Pour les bactéries*** : Les souches sont revivifiées dans du bouillon nutritif à $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24h, puis ensemencées en strie sur boîte contenant de la gélose nutritive pour les pseudomonas et les listeria, de la gélose Mac Conkey pour les E. coli, le citrobacter, la Klebsielle et la salmonelle, et de la gélose Chapman pour les staphylocoques, afin de vérifier leur pureté (à $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24h). Ensuite, les souches microbiennes sont ensemencées sur bouillon BHI B à $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 18h.
- ***Pour les levures*** : Les souches sont revivifiées dans du bouillon nutritif à $30^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 48h, puis cultivées sur boîte contenant du milieu Sabouraud (additionné de chloramphénicol) pendant 24 h à 48 h (pour vérifier leur pureté), ensuite, elles sont cultivées dans du bouillon nutritif pendant 24 à 48h.
- ***Pour les moisissures*** : L'inoculum se présente sous forme d'une suspension de spores dans de l'eau physiologique à 0,1% de Tween 80 (Tataoui-Elaraki A. et al., 1992). Ces spores proviennent d'une culture de 7 jours en boîtes de petri.

Les inoculums sont préparés à partir de cultures en milieu liquide de 18 h, diluées de manière à renfermer environ 10^6 germes/ml.

7 – ETUDE STATISTIQUE :

Nous avons utilisé le logiciel Epinfo 6 pour une analyse de variance (ANOVA 1). Ceci pour le rendement et la méthode de Vincent.

Par contre, pour l'étude des résultats obtenus par les analyses chromatographiques, nous avons utilisé le logiciel STATVIEW II.

Les différences entre les moyennes sont considérées significatives quand $P < 0,05$.

RESULTATS

CHAPITRE I : CALCUL DE RENDEMENT :

a – Calcul des rendements des différentes stations :

a.1 – Par hydrodistillation :

Pour chaque station, les rendements obtenus sont résumés dans le tableau 9 (voir annexe III).

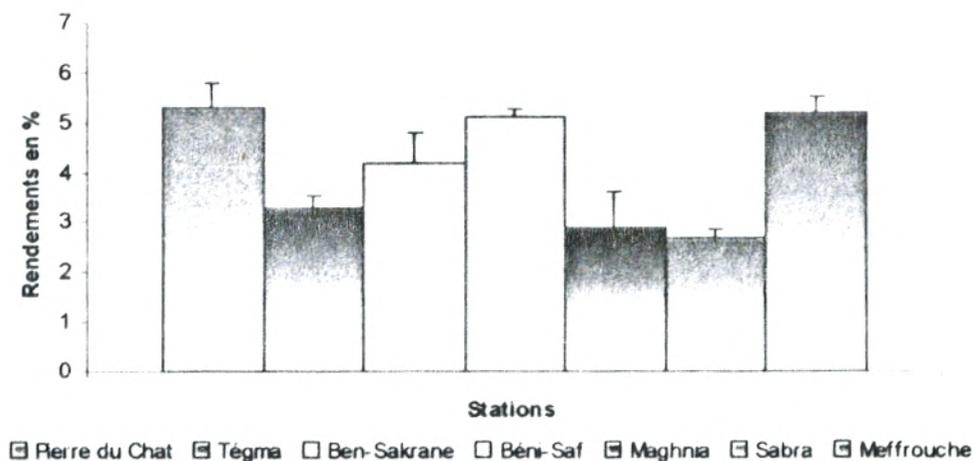


Fig. 6 : Les rendements en huile essentielle obtenus pour les différentes stations (extraction par hydrodistillation)

D'après la figure 6, on remarque que le rendement varie entre 2,7% et 5,3%. En comparant les rendements moyens qui correspondent à chaque station, on constate que le rendement de Pierre du Chat, de Meffrouche, de Béni-Saf et celui de Ben-Sakrane sont les plus importants, alors que celui de Maghnia, de Tégma et de Sabra sont les plus faibles.

a.2 – Par entraînement à la vapeur d'eau :

Les rendements obtenus par cette méthode sont notés dans le tableau 10 (Voir annexe III).

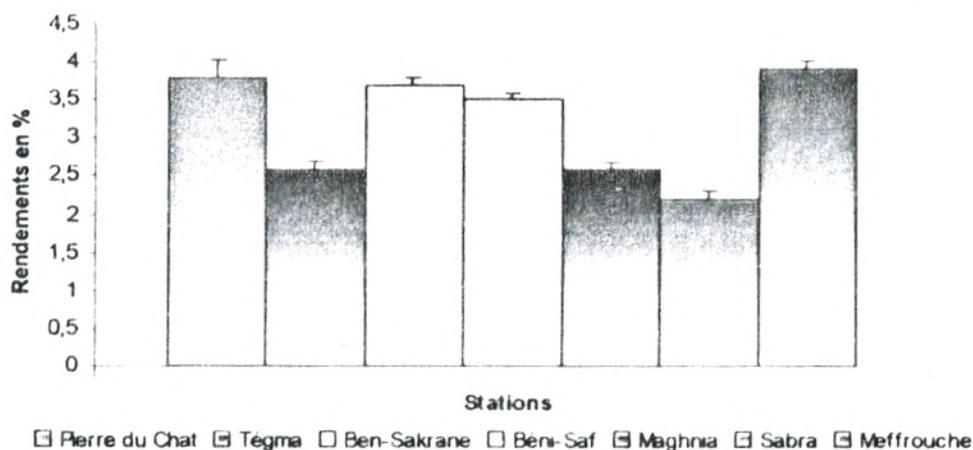


Fig. 7 : Les rendements en huile essentielle obtenus pour les différentes stations (extraction par entraînement à la vapeur d'eau)

La figure 7, montre que les rendements obtenus par entraînement à la vapeur d'eau varie entre 2,2 et 3,95%.

En comparant les rendements moyens correspondants à chaque station, on constate que le rendement de Pierre du Chat, de Meffrouche, de Béni-Saf et celui de Ben-Sakrane sont les plus importants par rapport aux autres stations.

• **Discussion :**

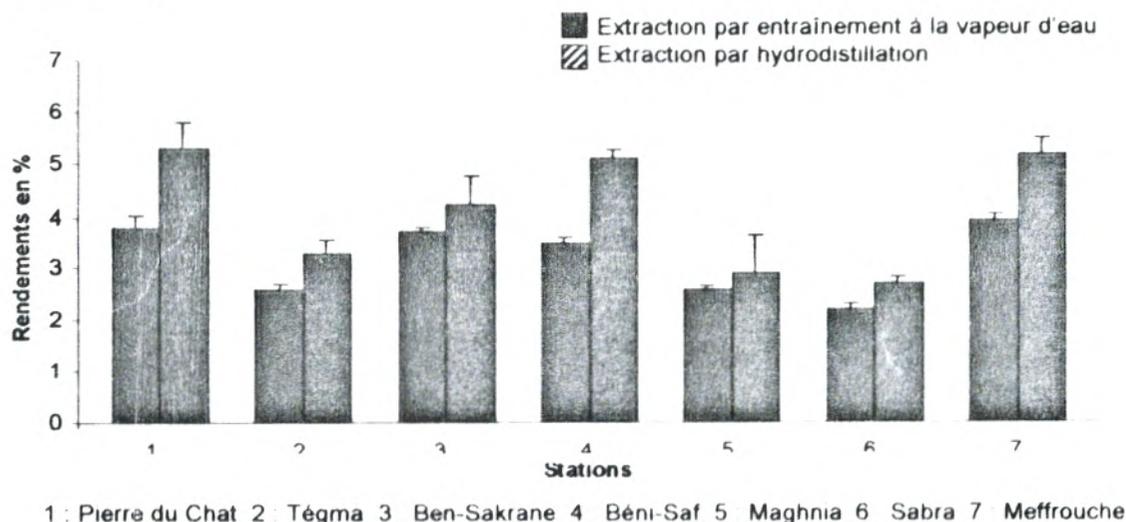


Fig. 8 : Comparaison des rendements entre les deux méthodes d'extraction.

En comparant les rendements moyens correspondant à chaque station, on remarque que ceux obtenus par hydrodistillation sont plus importants que ceux obtenus par entraînement à la vapeur d'eau. Ces différences sont hautement significatives. (Voir page 55)

Par ailleurs, on constate que les rendements de Pierre du Chat, de Meffrouche, de Béni-Saf et ceux de Ben-Sakrane sont les plus importants alors que ceux de Tégma, de Maghnia et de Sabra sont les plus faibles, et ceci pour les deux méthodes d'extraction. En effet, la différence est hautement significative entre les différentes stations sauf entre Pierre du Chat, Ben-Sakrane, Béni-Saf et Meffrouche puis entre Maghnia, Sabra et Tégma. On remarque que ces stations sont divisées en deux groupes et les conditions géographiques (climat, sol) au niveau de chaque groupe sont presque identiques. Ainsi, l'altitude ne semble pas être, un facteur limitant

L'étude phytochimique d'*Ammoides verticillata* effectuée par **Ahmed Brahim** et **Haddam (1998)**, leur a permis d'obtenir des rendements en huile essentielle variable allant de 1,38 à 3,92% (extraction par hydrodistillation).

D'autre part, les rendements en huile essentielle de cette espèce obtenus par **Chiali A. et Elaihar K. (2000)** sont de l'ordre de 2,52 à 3,29%. Ces résultats sont largement inférieurs aux nôtres, soit (2,7 à 5,3%).

En outre, les résultats obtenus par **Katzer G. (1998)** sont très proches de nos résultats. En effet, il avance que le rendement en huile essentielle des graines d'*Ammoïdes verticillata* varie entre 2,5 et 5%.

Par ailleurs, le rendement en huile essentielle des graines d'*Ammoïdes verticillata* (plante cultivée en Inde) obtenu par hydrodistillation varie entre 4 et 6% (**Guenther E., 1950**) (**Narayana C. et al., 1966**).

Ces observations nous permettent de supposer que les différences des teneurs en huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* sont étroitement liées aux conditions culturales, tant climatiques ; dispersion géographique, altitude ; qu'édaphiques, nature du sol.

En effet, **Desjobert et al. (1997)** avancent que l'étude complète d'une huile essentielle doit passer par la prise en compte des facteurs édaphiques.

Ainsi, on peut en déduire que pour l'obtention du meilleur rendement, il est nécessaire de :

- Choisir un étage bioclimatique semi-aride, tempéré doux.
- Le sol doit être limoneux-argileux-sableux à texture équilibrée ou argilo-siliceux.
- Faire l'extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation. Mais, il est à noter que l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau est de meilleure qualité (**Padrini F. ; Lucheroni M.T., 1996**).

b – Evolution du rendement en huile essentielle au cours du cycle végétatif de la plante :

Pour étudier le cycle évolutif de la plante du point de vue qualitatif et quantitatif, nous avons pris une seule station, qui est Béni-Saf.

b.1 – Par hydrodistillation : Les rendements obtenus figurent dans le tableau 11 (Voir annexe III).

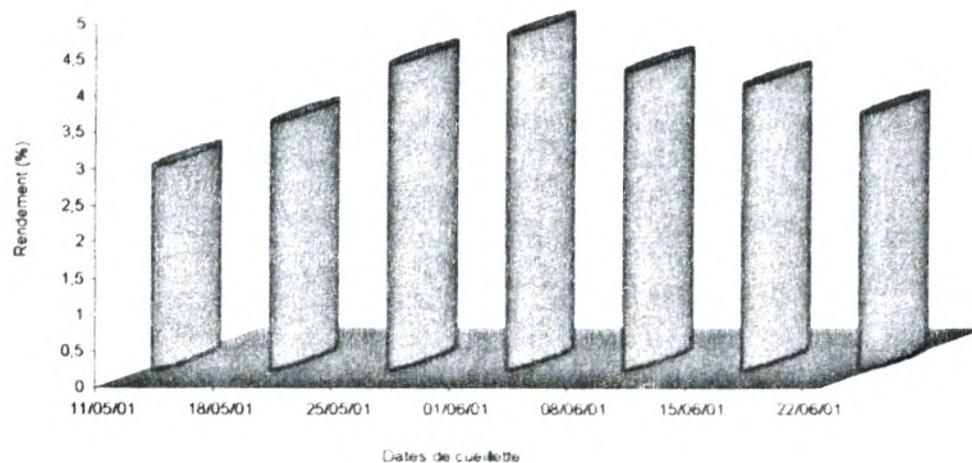


Fig. 9 : Rendements en huile essentielle obtenus par hydrodistillation

D'après la figure 8, on remarque que le rendement augmente, se stabilise, puis diminue

En comparant les rendements moyens qui correspondent à chaque période, on constate que celui de la fin du mois de mai et du début du mois de juin sont les plus importants, ce qui implique que la phase de maturité se situe en cette période Il en est de même pour la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau (Voir annexe III)

- **Discussion :**

L'évolution des rendements en huile essentielle d'*Ammoides verticillata* issue de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif est resumée dans le tableau 11 (Voir annexe III)

Nous constatons que le rendement en huile essentielle est faible au début du cycle avec une valeur de l'ordre de 2,8% (début du mois de mai), puis progresse et se stabilise durant la fin du mois de mai et le début du mois de juin (4,1 à 4,6%), ce qui correspond à la période de maturité de la plante. Puis, durant la sénescence de la plante, le rendement diminue (3,5%) Par ailleurs, l'étude du cycle végétatif d'*Ammoides verticillata*, issue de la station de An El Houtz, effectuée par **Ahmed Brahimi et Haddam (1998)** leur a permis d'obtenir des rendements faibles au mois de mai allant de 1,09 à 2,75, puis progresse durant le mois de juin variant entre 4,30 et 4,94%. Ensuite, ces teneurs tendent à diminuer pendant la sénescence, au mois de juillet (3,16%)

Il ressort de ces observations que la période de maturité des plantes, peut varier d'une année à une autre, ceci est due au rythme des pluies, aux écarts de température, ou à la fréquence et à la nature des vents car le climat est un facteur déterminant en tout ce qui concerne la végétation (**Béniston WS. et NT., 1984**)

Enfin, nous constatons la même évolution des rendements en huile essentielle d'*Ammoides verticillata* issue de la station de Beni-Saf durant l'année 1999 (Voir tableau 12, annexe III) au cours de son cycle végétatif

CHAPITRE II :

1 – CARACTERES ORGANOLEPTIQUES :

a – Aspect : Liquide mobile, limpide et ceci pour les deux types d'extraction

b – Couleur :

- Extraction par hydrodistillation : jaune pâle
- Extraction par entraînement à la vapeur : jaune

c – Odeur (Parfum) : caractéristique, balsamique et forte

2 – DETERMINATION DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AMMOIDES VERTICILLATA :

a – Propriétés physiques :

a.1 – Densité relative :

Tableau 14 : Les valeurs de la densité relative obtenues pour les différentes stations.

Stations	Pierre du chat	Sabra	Ben-Sakrane	Béni-Saf	Tégma	Maghnia	Meffrouche
Densité relative	0,860	0,885	0,886	0,908	0,909	0,911	0,913

Selon le tableau 14, la densité relative de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* varie entre 0,860 et 0,913 à 27°C

a.2 – Pouvoir rotatoire :

Tableau 15 : Les valeurs du pouvoir rotatoire obtenues pour les différentes stations.

Stations	Meffrouche	Sabra	Pierre du chat	Tégma	Maghnia	Béni-Saf	Ben-Sakrane
Pouvoir rotatoire (degré)	+15,40	+15,74	+16,31	+16,43	+16,48	+16,56	+16,86

Selon le tableau 15, on note que le pouvoir rotatoire dit « spécifique apparent » de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* varie entre +15,40 et +16,86 à 27°C

Remarque : Il est à noter que lors de notre expérience, nous avons dilué tous les échantillons à 1/10 dans de l'éthanol à 95% (V/V)

a.3 – Point de congélation :

L'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* se solidifie à une température de (-97,8°C).

a.4 – Indice de réfraction :

Tableau 16 : Les valeurs des indices de réfraction obtenues pour les différentes stations.

Stations	Tégma	Meffrouche	Maghnia	Béni-Saf	Pierre du chat	Sabra	Ben-Sakrane
Indice de réfraction	1,4783	1,4853	1,4858	1 4863	1,4863	1,4883	1,4888

D'après le tableau 16, on remarque que l'indice de réfraction de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* varie entre 1,4783 et 1,4888 à 20°C

b – PROPRIETES CHIMIQUES:

b.1 – Miscibilité à l'éthanol :

La miscibilité dans l'éthanol à 80% (V/V) à 20°C il ne doit pas être nécessaire d'utiliser plus d'un volume et demi d'éthanol à 80% (V/V) pour obtenir une solution limpide avec un volume d'huile essentielle

b.2 – Indice d'acide :

Tableau 17 : Les valeurs des indices d'acide obtenues pour les différentes stations.

Stations	Pierre du chat	Ben-Sakrane	Béni-Saf	Meffrouche	Sabra	Maghnia	Tégma
Indice d'acide	0,84	1,54	1,45	1,54	1,82	1,95	1,96
	0,70	1,40	1,48	1,51	1,82	1,82	2,01

En comparant les valeurs d'indice d'acide obtenues, on remarque que l'indice d'acide de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* varie entre 0,70 et 2,01

Remarque : Les résultats peuvent être considérés comme valables si l'écart entre deux déterminations ne dépasse pas 0,2

b.3 – Indice d'ester :

Tableau 17 : Les valeurs des indices d'ester obtenues pour les différentes stations.

Stations	Meffrouche	Maghnia	Sabra	Béni-Saf	Pierre du chat	Tégma	Ben-Sakrane
Indice d'ester	1,40	1,82	2,24	2,52	4,90	5,04	7,01
	1,40	2,10	2,10	2,66	4,76	5,18	6,87

D'après le tableau 17, on remarque que l'indice d'ester de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* varie entre 1,40 et 7,01

Remarque : Les résultats peuvent être considérés comme valables si l'écart entre deux détermination ne dépasse pas 0,2

b.4 – Dosage des constituants carbonylés :

Tableau 18 : Les valeurs des indices de carbonyle obtenues pour les différentes stations.

Stations	Béni-Saf	Ben-Sakrane	Pierre du chat	Meffrouche	Sabra	Maghnia	Tégma
<i>Indice de carbonyle</i>	24,684	26,367	29,172	29,172	29,733	29,733	33,66
	25,245	26,367	28,611	29,733	29,733	30,294	33,66

D'après le tableau 18, on remarque que l'indice de carbonyle de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* varie entre 24,684 et 33,66.

c – Résumé de la partie physico-chimique de l'huile essentielle de Nûnkha (Ammoides verticillata)

c.1 – Définition : L'huile essentielle de Nûnkha est obtenue par entraînement à la vapeur d'eau de la plante (tiges, feuilles et fleurs) d'*Ammoides verticillata*, dont sa composition est très riche en thymol.

c.2 – Spécifications :

c.2.1 – Caractéristiques organoléptiques :

- *Aspect* : liquide mobile limpide.
- *Couleur* : jaune.
- *Saveur* : forte et piquante rappelant l'odeur de la plante.

c.2.2 – Caractéristiques physiques :

- Densité relative : d_{20}^{20} à 27°C
Minimum : 0,860
Maximum : 0,913
- Indice de réfraction : à 20°C.
Minimum : 1,4783
Maximum : 1,4888
- Pouvoir rotatoire : à 27°C
Minimum : +15,40°
Maximum : +16,86°
- Point de congélation : - 97,8°C

c.2.3 – Caractéristiques chimiques :

- Miscibilité à l'éthanol : à 20°C

Il ne doit pas être nécessaire d'utiliser plus d'un volume et demi d'éthanol à 80% (V/V) pour obtenir une solution limpide avec un volume d'huile essentielle.

- Indice d'acide :

Minimum : 0,70

Maximum : 2,01

- Indice d'ester :

Minimum : 1,40

Maximum : 7,01

- Indice de carbonyle :

Minimum : 24,684

Maximum : 33,66

- **Discussion :**

- Pour la densité relative : Nos résultats sont proches de ceux obtenus avec l'espèce Indienne (**Guenther E., 1950**). Cet auteur a noté que la densité relative des graines de cette espèce issue d'Inde varie entre 0,910 et 0,930.

D'autre part **Ramadrandraiah O.S. et al (1983)** avancent que la densité relative des graines d'*Ammoides verticillata* est de 0,8285 à 34°.

En outre, les valeurs obtenues par **Ahmed Brahimi et Haddam (1998)**, et **Chiali A., Elaihar K. (2000)** sont respectivement 0,8793 à 0,9011 et 0,8784 à 0,9109. On remarque que ces intervalles appartiennent aux nôtres.

- Pour l'indice de réfraction : D'une part, nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Guenther en 1950. En effet, son intervalle varie entre 1,498 à 1,504 et ceci pour les graines d'*Ammoides verticillata*.

D'autre part, notre intervalle (1,4783-1,4888) est supérieur à celui obtenu par **Ahmed Brahimi et Haddam (1998)** (1,4450-1,4470).

- Pour le pouvoir rotatoire : nos résultats (+15,40° à +16,86°) sont largement inférieurs à ceux obtenus par **Ahmed Brahimi et Haddam (1998)** (+18,2° à +19,6°).

- Pour la miscibilité à l'éthanol obtenue par **Guenther (1950)** est 1 à 2,5 vol d'éthanol à 80% (V/V).

- Le point de congélation de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* obtenu par **Ahmed Brahimi et Haddam (1998)** est au delà de (-30°C).

Remarque :

Vu que notre huile essentielle est très riche en composés phénoliques, nous avons utilisé le rouge de phénol au lieu de la phénolphtaléine comme indicateur coloré.

- L'indice d'acide obtenu par **Ramachandraiah O.S. et al (1983)** est de 1,65. Cette valeur est comprise dans notre intervalle (0,70 et 2,01).

Par ailleurs, les résultats obtenus par **Ahmed Brahimî et Haddam (1998)** et **Chiali A. et Elaihar K. (2000)** sont respectivement (2,52 à 3,37) et (2,805 à 3,646).

- Les indices d'ester obtenus par ces derniers auteurs sont respectivement (2,11 à 6,53) et (6,171 à 19,074).

- Enfin, nos résultats (24,684 à 33,66) sont très proches de ceux obtenus par **Chiali A. et Elaihar K. (2000)** et ceci pour l'indice de carbonyle. Ces valeurs varient entre 22,44 et 28,05.

CHAPITRE III : ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES D'AMMOÏDES VERTICILLATA PAR CPG :

1 – IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES D'AMMOÏDES VERTICILLATA :

1.a – Par Hydrodistillation Le tableau 19 fait état des composés identifiés et de leurs teneurs

Tableau 19 : Composition chimique des huiles essentielles d'Ammoïdes Verticillata des différentes stations. (Extraction par hydrodistillation)

	Temps de rétention (mn)	Teneurs en constituants en (%)						
		Pierre du Chat	Tégma	Ben-Sakrane	Maghnia	Sabra	Meffrouche	Béni-Saf
<i>Camphène</i>	3,57-3,63	0,32	0,31	0,31	0,32	0,29	0,28	0,32
<i>α-pinène</i>	3,73-3,79	1,15	1,52	0,96	1,67	1,39	1,58	0,70
<i>NI</i>	4,44-4,50	0,97	-	0,85	0,86	0,67	1,13	Trace
<i>β-pinène</i>	4,56-4,63	0,36	0,43	0,31	0,37	0,36	0,49	0,35
<i>NI</i>	4,78-4,85	1,22	0,99	0,97	1,01	1,06	1,12	1,12
<i>p-cymène</i>	5,58-5,66	15,50	18,47	18,87	17,55	18,02	18,15	17,17
<i>Limonène</i>	5,86-5,94	28,64	27,68	25,17	27,66	26,52	25,34	28,06
<i>γ-terpinène</i>	6,71-6,79	15,16	15,76	13,97	17,42	16,11	16,94	14,06
<i>Thujone</i>	7,72-7,81	0,13	0,09	0,10	0,23	0,09	0,09	0,12
<i>Myrcène</i>	7,90-8,01	0,11	0,12	0,12	0,14	0,13	0,14	0,18
<i>NI</i>	8,76	-	-	0,06	-	-	-	-
<i>NI</i>	9,27-9,36	0,12	-	0,10	-	-	0,15	-
<i>Terpinène 4ol</i>	11,06-11,17	0,43	0,49	0,47	0,40	0,37	0,49	0,44
<i>α-terpinéol</i>	11,58	-	-	0,07	-	-	-	-
<i>β-caryophyllène</i>	16,41-16,56	2,06	6,49	10,47	8,28	9,73	12,85	7,89
<i>Thymol</i>	16,84-16,93	33,77	27,60	27,15	24,04	25,18	21,20	28,95

NI : non identifié - 0,00%

L'analyse des ces huiles essentielles nous a permis d'enregistrer leurs chromatogrammes et l'identification des constituants est faite par comparaison des temps de rétention avec ceux des étalons utilisés.

Ainsi, sur 16 pics apparus, nous avons pu identifier 12 composants.

Nous constatons que pour l'ensemble des échantillons, la nature des constituants est quasiment la même. Cependant leurs teneurs diffèrent. Ces différences ne sont pas significatives. (Voir page 55)

En outre, l'huile essentielle de la station de Ben-Sakrane contient plus de composés soit 16 composants. Par contre, les huiles des stations de Pierre du Chat et de Meffrouche ne contiennent que 14 composants, et les stations de Sabra, Tégma, Maghnia et Béni-Saf contiennent 13 constituants.

Par ailleurs, trois composés dont deux non identifiés sont trouvés dans certains échantillons et ne le sont pas dans d'autres, notamment le *α-terpinéol*, ou bien ils existent sous forme de trace.

1.b – Par entraînement à la vapeur d'eau : L'ensemble des résultats obtenus par cette méthode sont rapportés dans le tableau 20

Tableau 20 : Composition chimique des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* des différentes stations (Extraction par entraînement à la vapeur d'eau)

	Temps de rétention (mn)	Teneurs en constituants en (%)						
		Pierre du Chat	Tégma	Ben-Sakrane	Maghnia	Sabra	Meffrouche	Béni-Saf
<i>Camphène</i>	3,57-3,62	0,18	0,16	0,17	0,15	0,17	0,11	0,16
<i>α-pinène</i>	3,74-3,78	0,57	0,88	0,44	0,90	1,07	0,61	0,21
<i>NI</i>	4,46-4,5	0,41	0,40	Trace	0,22	0,32	0,28	0,25
<i>β-pinène</i>	4,58-4,62	0,26	0,26	Trace	0,26	0,42	0,21	Trace
<i>NI</i>	4,78-4,85	0,91	-	0,74	0,71	0,97	0,59	0,60
<i>p-cymène</i>	5,57-5,64	12,42	14,76	15,22	14,78	13,52	11,79	11,66
<i>limonène</i>	5,84-5,92	21,72	18,98	17	19,64	19,28	14,75	16,29
<i>γ-terpinène</i>	6,69-6,79	13,13	13,66	11,63	14,60	13,33	13,32	11,28
<i>Thujone</i>	7,74-7,82	0,15	0,09	Trace	0,11	0,12	0,09	-
<i>myrcène</i>	7,88-7,99	0,17	0,25	0,25	0,20	0,21	0,24	0,23
<i>NI</i>	8,78-8,86	Trace	0,11	Trace	0,10	0,10	0,15	0,14
<i>NI</i>	9,37	Trace	0,10	Trace	-	-	-	-
<i>NI</i>	9,53	-	-	-	-	-	0,05	-
<i>Terpinène 4ol</i>	11,03-11,19	0,42	0,65	0,64	0,54	0,41	0,62	0,50
<i>α-terpinéol</i>	11,64-11,7	-	0,08	Trace	-	-	0,13	-
<i>NI</i>	14,42-14,51	-	0,08	-	-	0,13	0,19	0,30
<i>β-caryophyllène</i>	16,37-16,62	5,68	11,64	15,34	13,14	11,91	21,38	21,32
<i>Thymol</i>	16,75-17	43,92	37,70	38,53	34,30	37,99	35,41	36,75
<i>NI</i>	17,24-17,28	-	-	-	0,30	-	-	0,27

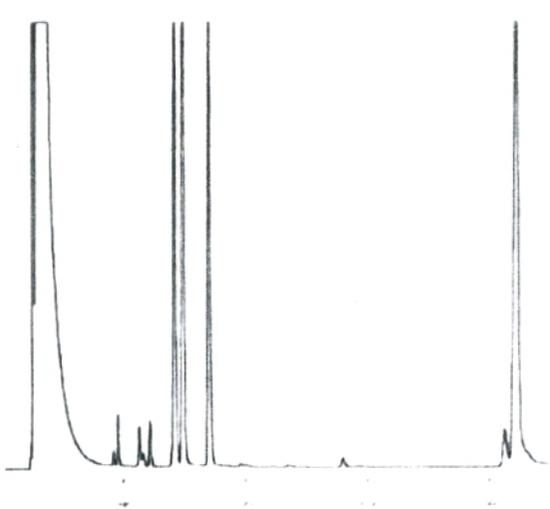
NI : non identifié - 0,00%

Selon les différentes stations, nous avons obtenu 20 pics dont 12 composés sont identifiés.

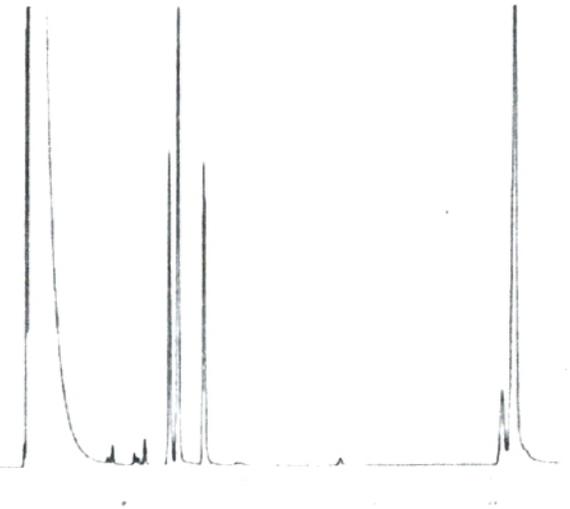
Nous constatons que pour l'ensemble des échantillons, la nature des constituants est quasiment la même, cependant leurs teneurs diffèrent. Ces différences ne sont pas significatives. (Voir page 55)

En outre, les échantillons d'huile essentielle de la station de Meffrouche contiennent plus de composés soit 17, suivies des stations de Tégma et de Ben-Sakrane soit 16 composés, ensuite les stations de Maghnia, Sabra et de Beni-Saf, soit 15 constituants, alors que la station de Pierre du chat contient moins de composés, soit 13.

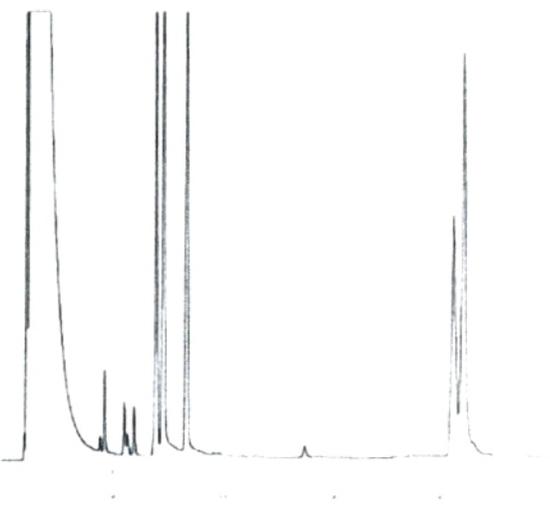
Par ailleurs, 5 composés dont 4 non identifiés sont trouvés dans certains échantillons et ne sont pas dans d'autres, notamment le *α-terpinéol* ou bien ils existent en très petites quantités.



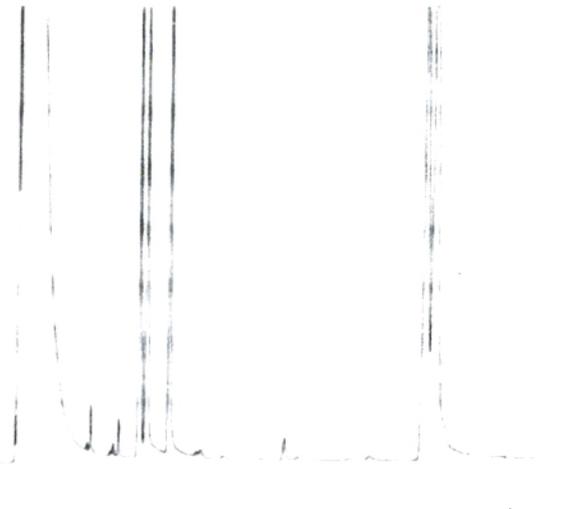
Chromatogramme 1



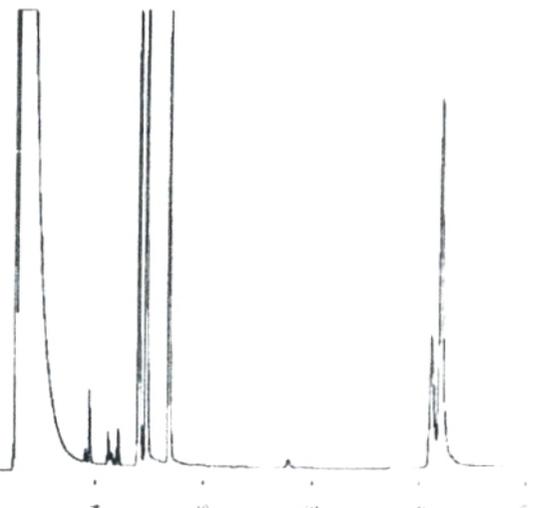
Chromatogramme 2



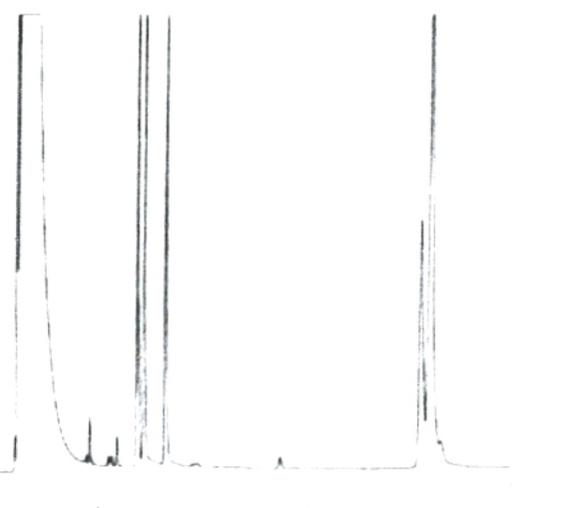
Chromatogramme 3



Chromatogramme 4



Chromatogramme 5



Chromatogramme 6

- Chromatogramme 1 :** Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Pierre du Chat (Hydrodistillation).
- Chromatogramme 2 :** Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Pierre du Chat (Entrainement à la vapeur d'eau).
- Chromatogramme 3 :** Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Meffrouche (Hydrodistillation).
- Chromatogramme 4 :** Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Meffrouche (Entrainement à la vapeur d'eau).
- Chromatogramme 5 :** Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Maghnia (Hydrodistillation).
- Chromatogramme 6 :** Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Maghnia (Entrainement à la vapeur d'eau).

Les chromatogrammes des autres échantillons des huiles essentielles sont donnés en annexe IV

2 – COMPARAISON DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AMMOÏDES VERTICILLATA ENTRE LES DEUX METHODES D'EXTRACTION :

En comparant entre les deux méthodes d'extraction, on remarque que le nombre de composés obtenus au niveau des échantillons des différentes stations est plus important dans la méthode par entraînement à la vapeur d'eau que dans la méthode d'hydrodistillation

Ceci confirme que l'huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur est de meilleure qualité (**Padrini F. ; Lucheroni M.T., 1996**)

En outre, on constate que la teneur en constituants tels que le camphène et le myrcène est presque deux fois plus élevée en hydrodistillation qu'en entraînement à la vapeur d'eau. Ces différences sont significatives (Voir page 55)

De plus, pour le p-cymène, le limonène, le γ -terpinène, le α -pinène et le β -pinène, la teneur en ces constituants est légèrement supérieure en hydrodistillation par rapport à l'entraînement à la vapeur d'eau. Ces différences sont non significatives (Voir page 55)

En effet, on suppose que ces composés se sont probablement volatilisés, car ce sont des monoterpènes, donc des substances très légères

Par contre, la teneur en β -carvophylène et en thymol est supérieure en entraînement à la vapeur d'eau qu'en hydrodistillation. Ces différences sont non significatives. Ceci s'explique probablement par le fait qu'une certaine quantité de ces composés est détruite par la méthode d'hydrodistillation, car ils sont en contact direct avec la chaleur. En effet, au cours de l'hydrodistillation, l'eau et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations et des oxydations (**Bruneton J., 1999**).

La comparaison de nos résultats, obtenus par l'analyse des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* (plante entière) des différentes stations, à ceux obtenus avec cette même espèce d'Algérie (Mekadder, 1995 (plante entière)), d'Inde (Nigram C. et al., 1993 (graines)) et de Pakistan (Ashraf M. ; Bhatti K.M., 1975 (graines)) nous amènent à constater que 5 composants n'ont pas été identifiés précédemment.

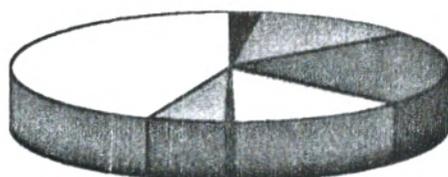
Ces composés sont : le myrcène, le thujone, le terpinène 4ol, l' α -terpinéol et le β -caryophyllène.

3 – DETERMINATION DES RACES CHIMIQUES :

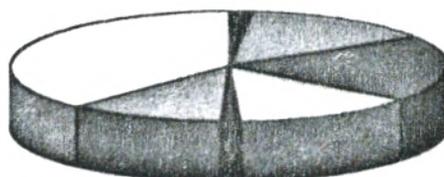
Pour déterminer la race chimique de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*, nous nous sommes basés sur une seule méthode d'extraction qui est celle de l'entraînement à la vapeur d'eau.

Pour cela, les résultats obtenus par l'analyse en CPG des échantillons d'huiles essentielles extraites des plantes entières des différentes stations, nous amènent à supposer que nous sommes en présence d'une seule race chimique :

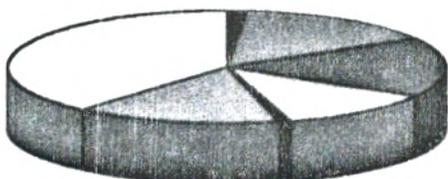
- Chimiotype à thymol, pour l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* des différentes stations.



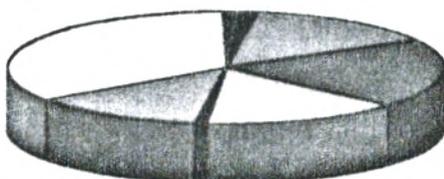
Pierre du Chat



Tégma



Ben-Sakrane



Maghnia

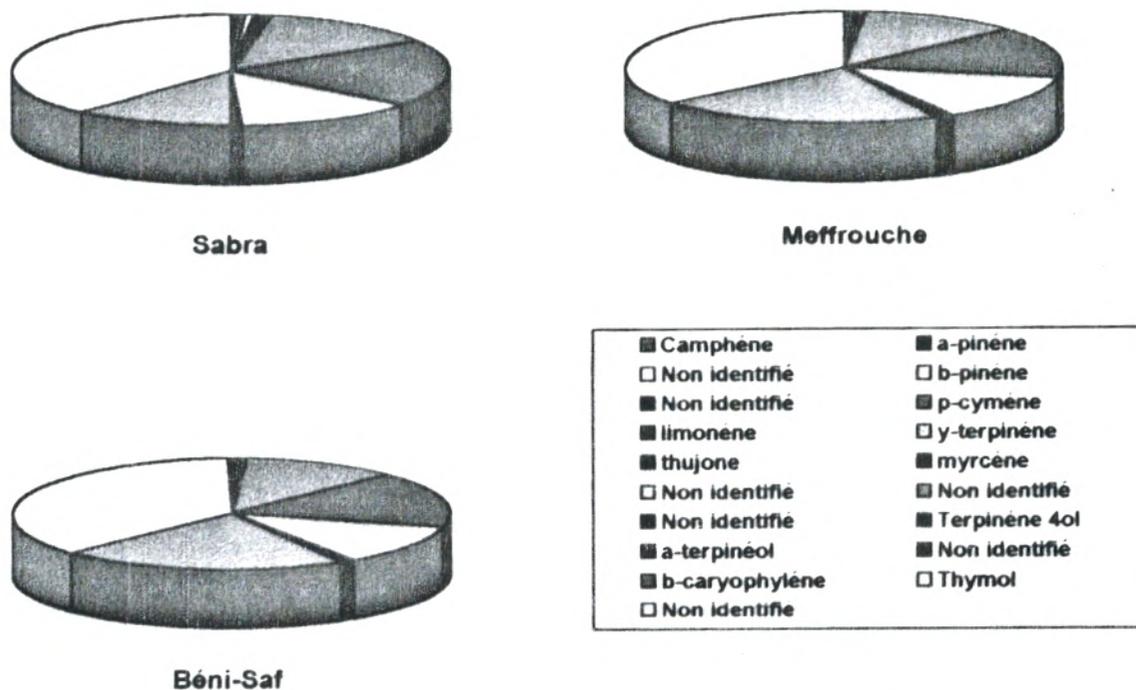


Fig 11 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* des différentes stations (Extraction par entraînement à la vapeur d'eau)

L'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* présente une teneur en Thymol variant entre 34,30 et 43,92% selon les différentes stations. Elle renferme également des quantités appréciables en d'autres composés : le limonène (14,75-21,72%), y-terpinène (11,28-14,60%), le p-cymène (11,76-15,22%) et le β -caryophyllène (5,68-21,38%).

Nous constatons également l'existence en moindres quantités de certains composés. Parmi eux, nous citons : α -pinène (0,51-1,07%), β -pinène (0,21-0,42%), camphène (0,11-0,18%), Thujone (0,09-0,15%), myrcène (0,17-0,25%), terpinène 4ol (0,41-0,65%) et le α -terpinéol (0,08-0,13%).

L'analyse de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* d'Algérie, a été effectuée par **Mekadder** en 1995. Elle a mis en évidence 6 composés dont le Thymol qui constitue le composé majoritaire avec un pourcentage de (36,39%), suivi de limonène (16,80%), le carvacrol (13,31%) ainsi que le y-terpinène (10,53%), et parmi les composés qui existent en moindres quantités, il y a le α -pinène (2,31%) et le géraniol (1,10%). Cette huile essentielle est de même type chimique que la nôtre.

Enfin, parmi les études qui ont eu pour objet l'étude de la composition chimique des huiles essentielles des graines d'*Ammoides Verticillata*, ceux de **Nigram et al.** en Inde (1963) et **Ashraf et Bhatti** en Pakistan (1975), ont révélé des teneurs élevées en thymol (34,9-48,5%). On remarque que nos pourcentages sont compris dans cet intervalle.

Ils avancent également la présence d'autres composés qui sont : α -pinène, β -pinène, camphène, limonène, γ -terpinène et le p-cymène.

On constate qu'on a trouvé les mêmes composés, ce qui confirme qu'il s'agit de la même plante, c'est-à-dire que *Ammoides verticillata* (Nunkha) = *Carum copticum* (Ajowan).

4 – EVOLUTION DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES D'AMMOIDES VERTICILLATA AU COURS DU CYCLE VEGETATIF :

Nous avons choisi la station de Béni-Saf pour étudier l'évolution de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* au cours du cycle végétatif. Pour cela, nous avons analysé les huiles essentielles extraites des plantes entières d'*Ammoides verticillata* à différents stades d'avancement de son cycle végétatif à raison de 10 jours d'intervalle à partir du 17/05/1999 jusqu'au 16/06/1999 et à raison de 8 jours d'intervalle à partir du 11/05/2001 jusqu'au 22/06/2001 afin de confirmer la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* au cours du cycle végétatif.

Les composés et leurs teneurs à différents stades d'avancement du cycle végétatif de la plante sont notés dans le tableau 21

Tableau 21 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (Extraction par hydrodistillation)

	Temps de rétention (mn)	Teneurs en constituants en (%)						
		1 ^{ère} cueillette	2 ^{ème} cueillette	3 ^{ème} cueillette	4 ^{ème} cueillette	5 ^{ème} cueillette	6 ^{ème} cueillette	7 ^{ème} cueillette
Camphène	3,58-3,6	0,27	0,32	0,34	Trace	0,24	0,42	Trace
α-pinène	3,72-3,78	0,71	0,70	0,73	0,65	0,71	0,77	1,17
NI	4,43-4,49	0,97	Trace	0,45	0,79	0,32	0,67	0,33
β-pinène	4,59-4,6	0,23	0,15	0,15	-	-	-	-
NI	4,78-4,84	1,09	1,12	1,02	1,01	0,65	0,73	0,62
p-cymène	5,57-5,66	18,40	17,17	19,59	20,37	22,52	23,29	23,45
Limonène	5,84-5,94	26,90	28,26	25,15	26,69	25,95	25,18	21,94
γ-terpinène	6,72-6,79	19,22	14,06	13,14	15,28	12,79	12,23	11,99
Thujone	7,77	-	0,12	-	-	-	-	-
Myrcène	7,95-7,96	-	0,18	0,13	-	-	-	Trace
NI	9,30	0,29	-	-	-	-	-	-
Terpinène 4ol	11,06-11,18	0,59	0,44	0,40	0,54	0,55	0,58	1,15
β-caryophyllène	16,43-16,64	21,37	7,89	11,85	17,20	22,53	23,20	25,58
Thymol	16,78-16,96	8,46	28,95	26,89	17,14	13,18	12,44	13,16
NI	17,23-17,38	1,43	0,60	-	0,30	0,49	0,44	0,56

NI : non identifié - : 0,00%

Les résultats obtenus, nous permettent de constater que la plupart des constituants identifiés de cette espèce varient considérablement en fonction de son état végétatif.

Du fait que le thymol est le composé majoritaire de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*, il est intéressant d'évoquer ses variations quantitatives à différentes périodes.(Figure 12)

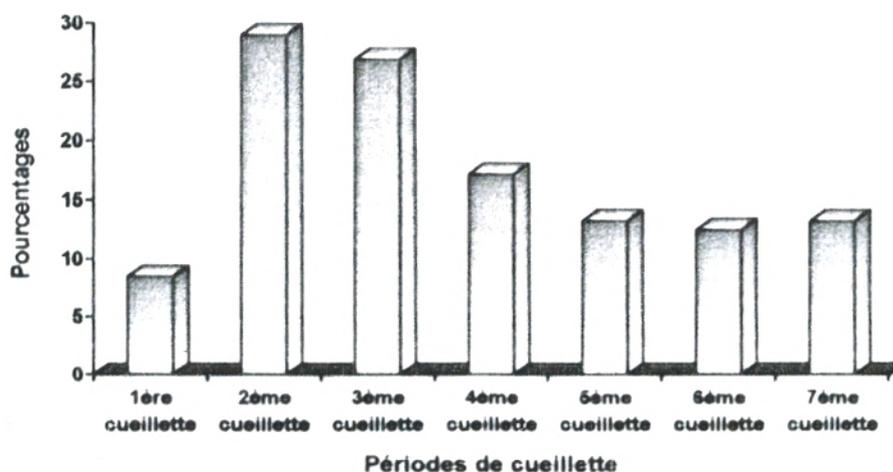


Fig. 12 : Evolution de la teneur du thymol de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* au cours du cycle végétatif

La plus faible teneur (8,46%) en ce composé est signalée à la 1ère récolte, puis cette teneur est maximale à la 2ème et 3ème cueillette, ce qui correspond au début de la maturité de la plante et c'est à la fin de cette dernière que sa teneur est égale à celle du β -caryophyllène, puis continue à diminuer jusqu'à la 6ème récolte, ensuite sa teneur augmente légèrement à la 7ème récolte.

Par contre, pour le β -caryophyllène, sa teneur est élevée à la 1ère cueillette, puis diminue considérablement à la 2ème cueillette, puis augmente progressivement jusqu'à la 7ème cueillette.(Figure 13)

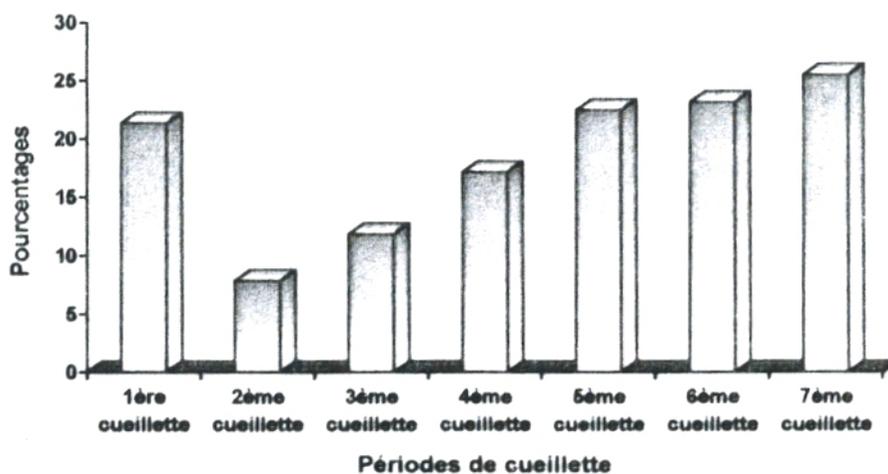


Fig. 13 : Evolution de la teneur du β -caryophyllène de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* au cours du cycle végétatif

Alors que pour les autres composés, leurs teneurs varient légèrement au cours du cycle végétatif.

Enfin, nous constatons la même évolution de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf durant l'année 1999 (Voir tableau 22, annexe IV).

CHAPITRE IV : ETUDE DU POUVOIR ANTIMICROBIEN DE L'HUILE ESSENTIELLE D'AMMOIDES VERTICILLATA ET DES ANTIMICROBIENS

1 – IDENTIFICATION DES MICRO-ORGANISMES

a – Identification des bactéries :

L'identification des souches a été faite selon le catalogue analytique pour les souches à Gram négatif. Les résultats sont résumés dans les tableaux 23, 24, 25, 26 et 27.

b – Identification des moisissures :

Les examens macroscopiques et microscopiques effectués ont confirmé l'identification au genre de la souche d'*Aspergillus flavus* (Voir photo 1).



Photo 1 : *Aspergillus flavus*.

Tableau 23 : Tests classiques d'identification des souches à Gram négatif

Souches	Forme	Gram	Mobilité	Type respiratoire	NO ₂	N ₂	TSI		
							Glucose	Lactose	Gaz
<i>P₁</i>	Coco-bacille	-	+	Aérobie strict	-	+	-	/	/
<i>P₂</i>	Coco-bacille	-	+	Aérobie strict	-	+	-	/	/
<i>P₃</i>	Coco-bacille	-	+	Aérobie strict	-	+	-	/	/
<i>E₁</i>	Bacille	-	+	Aéro-anaérobie	+	-	+	+	+
<i>E₂</i>	Bacille	-	+	Aéro-anaérobie	+	-	+	+	+
<i>E₃</i>	Bacille	-	+	Aéro-anaérobie	+	-	+	+	+
<i>E₄</i>	Bacille	-	+	Aéro-anaérobie	+	-	+	+	+
<i>E₅</i>	Bacille	-	+	Aéro-anaérobie	+	-	+	+	+
<i>KL</i>	Bacille	-	-	Aéro-anaérobie	+	-	+	+	+
<i>SL</i>	Bacille	-	+	Aéro-anaérobie	+	-	+	-	+
<i>Ci</i>	Bacille	-	+	Aéro-anaérobie	+	-	+	V	+

- + : Réaction positive
- : Réaction négative
- v : Variable
- / : Test non réalisé

Tableau 24 : L'ensemble des caractères biochimiques d'identification des souches à Gram négatif en utilisant les galeries API 20E

Souches	Tests utilisés																				Biotype	
	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA		OX
<i>P₁</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2212004
<i>P₂</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2212004
<i>P₃</i>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	2212004
<i>E₁</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	5144550
<i>E₂</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	5044572
<i>E₃</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	5144572
<i>E₄</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	5044552
<i>E₅</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	5044552
<i>KL</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	5215773
<i>SL</i>	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	4404540
<i>Ci</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	1604572

+ : Réaction positive.

- : Réaction négative.

Tableau 25 : Tests classiques d'identification des staphylocoques.

Souches	Tests utilisés								
	Forme	Gram	Mobilité	Type respiratoire	Catalase	Coagulase	DNase	Phosphatase	Hémolyse
St ₁	Cocci	+	-	Aéro-anaérobie	+	+	+	+	β-hémolytique
St ₂	Cocci	+	-	Aéro-anaérobie	+	+	+	+	β-hémolytique

+ : Reaction positive
 - : Reaction negative

Tableau 26 : L'ensemble des caractères biochimiques d'identification des staphylocoques selon les plaques API staph.

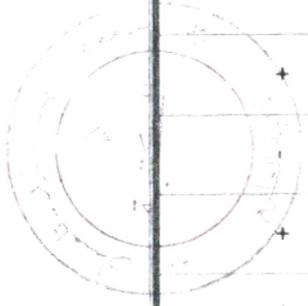
Souches	Tests utilisés																			Biotype	
	O	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH		URE
St ₁	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	6734152
St ₂	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	6736150

+ : Réaction positive
 - : Réaction négative.

Tableau 27 : L'ensemble des caractères d'identification des *Listeria monocytogenes*

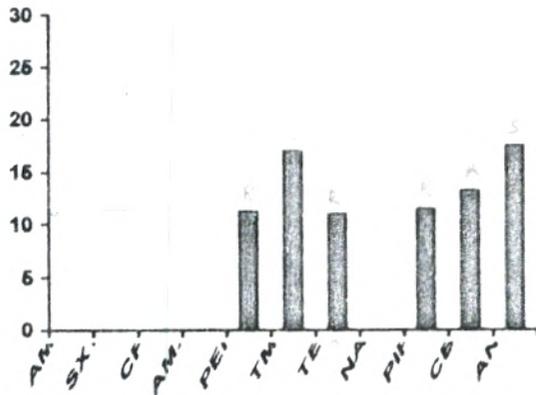
Souches		Tests utilisés
L ₂	L ₁	Forme
Bacille	Bacille	Gram
+	+	Mobilité
+	+	Type respiratoire
Aero-anaérobie	Aero-anaérobie	Catalase
+	+	Oxydase
.	.	IND
.	.	H ₂ S
.	.	NIT
<	<	VP
β-hémolytique	β-hémolytique	Hémolyse
.	.	URE
+	+	GLU
.	.	Gaz
+	+	RHA
.	.	ARA
+	+	LAC
+	+	SAC
+	+	ESC
.	.	MAN

+ Réaction positive
 - Réaction négative
 v Variable

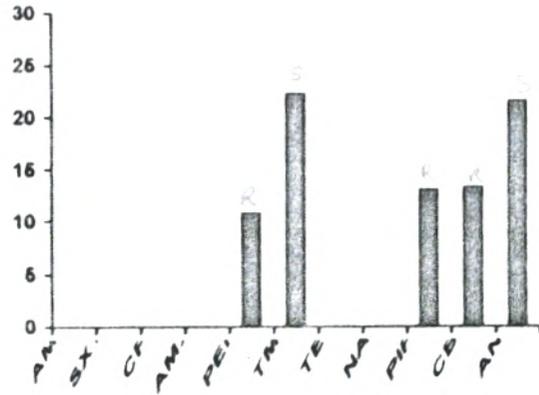


2- POUVOIR ANTIMICROBIEN DES ANTIBIOTIQUES ET DES ANTIFONGIQUES :

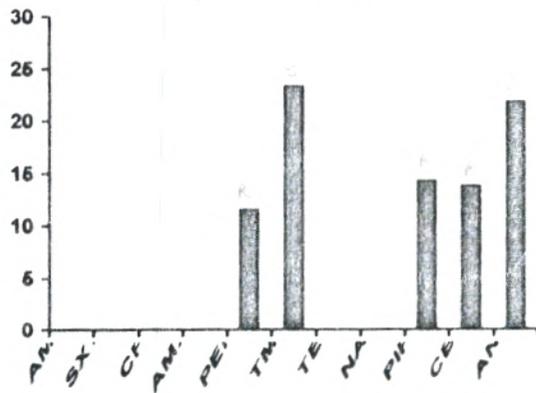
a – L'antibiogramme : Nous avons recherché la sensibilité des espèces isolées v-à-vis de onze antibiotiques pour les Gram négatif et treize antibiotiques pour les Gram positif par la méthode classique de l'antibiogramme en utilisant des disques. Les mesures des différents diamètres de la zone d'inhibition sont reportées sur l'échelle de concordance de l'antibiogramme Pasteur afin de déterminer si la souche est sensible, intermédiaire ou résistante. Les résultats sont consignés dans les tableaux 28 et 29 (Voir annexe V).



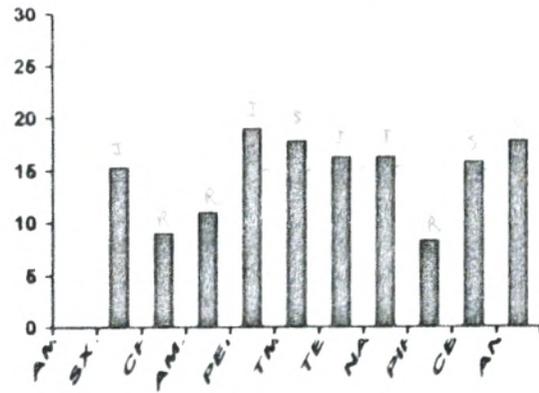
Ps. aeruginosa (P₁)



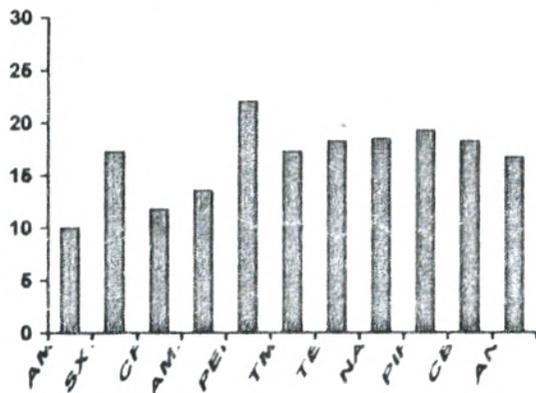
Ps. aeruginosa (P₂)



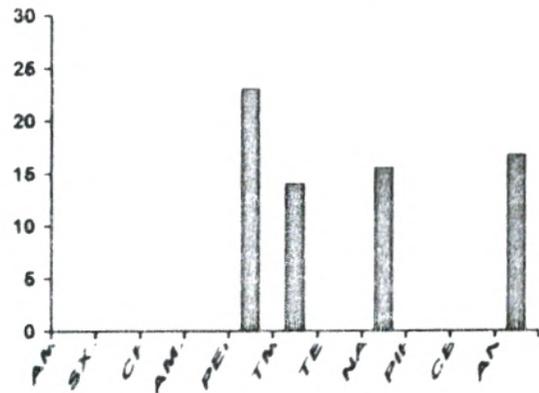
Ps. aeruginosa (P₃)



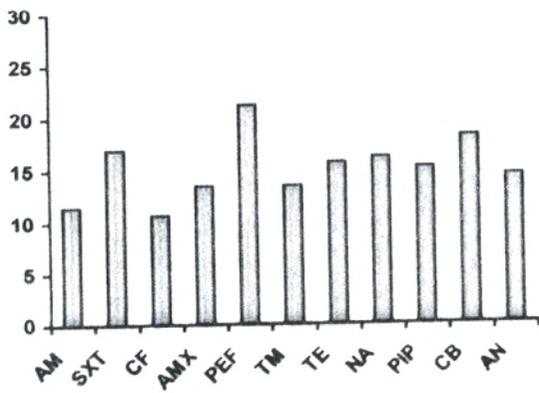
E. Coli (E₁)



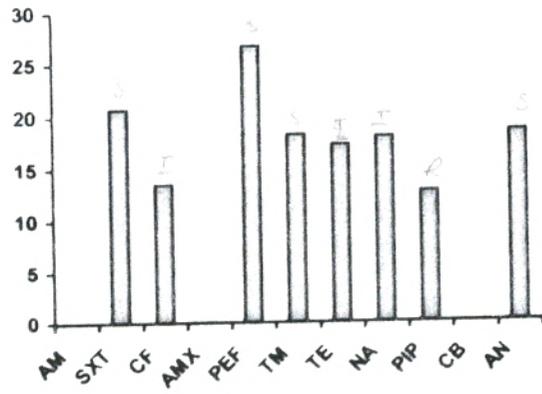
E. Coli (E₂)



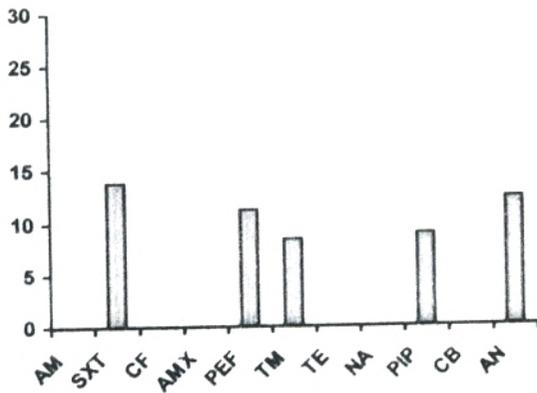
E. Coli (E₃)



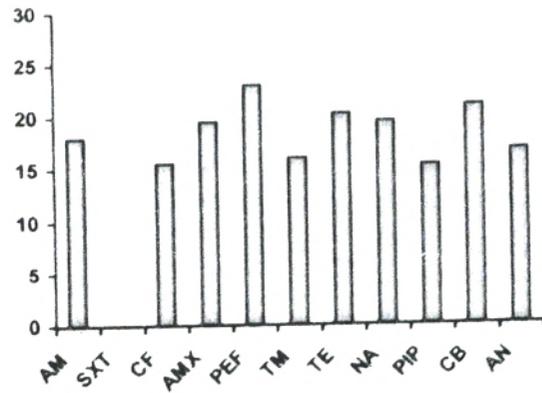
E. Coli (E₄)



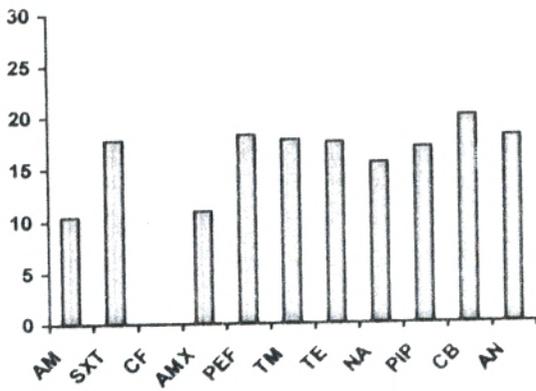
E. Coli (E₅)



K. Pneumoneae (KL)



S. typhi (SL)



C. freundii (Ci)

Légende
 Diamètres des zones d'inhibition (mm)
 ATB

Fig. 13 : Antibiogramme : Diamètres (en mm) des zones d'inhibition des différentes souches à Gram négatif en fonction des antibiotiques testés.

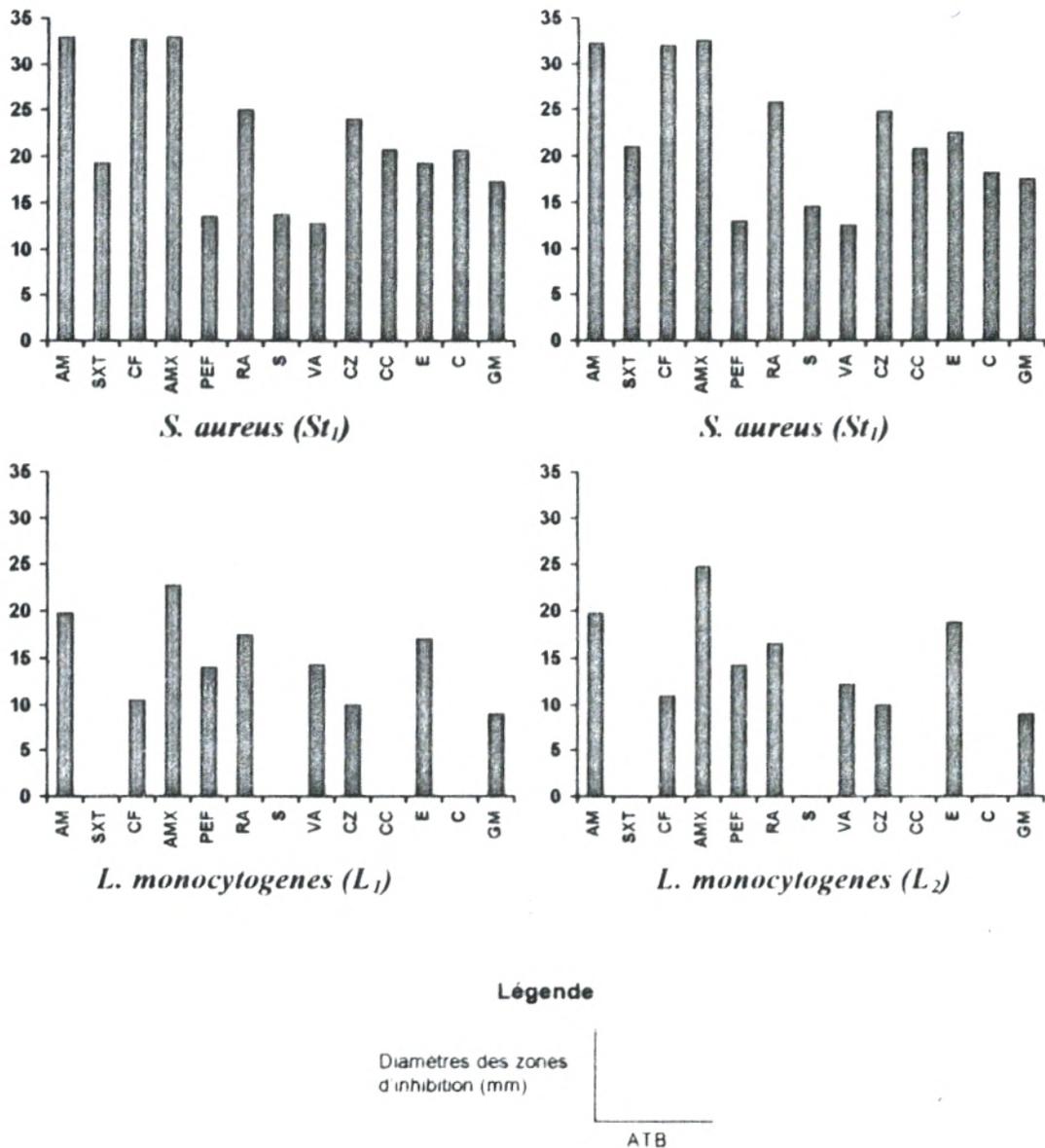


Fig. 15 : Antibiogramme : Diamètres (en mm) des zones d'inhibition des différentes souches à Gram positif en fonction des antibiotiques testés.

• **Discussion :**

Les souches à Gram négatif : Si l'on considère l'ensemble de ces résultats, il ressort que parmi les antibiotiques les plus actifs, on retrouve tout d'abord l'amikacine qui agit sur la plupart des souches, puis la carbénicilline ensuite la thriméthoprime-sulfamide.

A un degré intermédiaire, l'acide nalidixique atteint la majorité des souches testées.

Par contre, l'amoxicilline, antibiotique généralement spécifique des bactéries à Gram négatif est inactif sur toutes les souches, suivie de l'ampicilline et la pipéracilline et enfin la céfalotine.(Figure 14)

Les souches à Gram positif : Si l'on considère les réponses de chaque espèce, on peut tout d'abord constater que la péfloxacine est inactive sur toutes les souches testées, par contre les staphylocoques sont sensibles à la majorité des antibiotiques utilisés contrairement aux listeria qui sont résistantes à la plupart de ces antibiotiques.(Figure 15)

En ce qui concerne, plus particulièrement la réactivité des espèces, on constate d'une part la grande sensibilité des staphylocoques à la majeure partie des antibiotiques testés, par contre les souches de Pseudomonas, de Listeria et de Klebsielle se révèlent très résistantes à la plupart des antibiotiques utilisés, tandis que les autres souches sont uniformément intermédiaires vis-à-vis des antibiotiques testés.

b – L'antifongigramme : Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau 30(Voir annexe V).

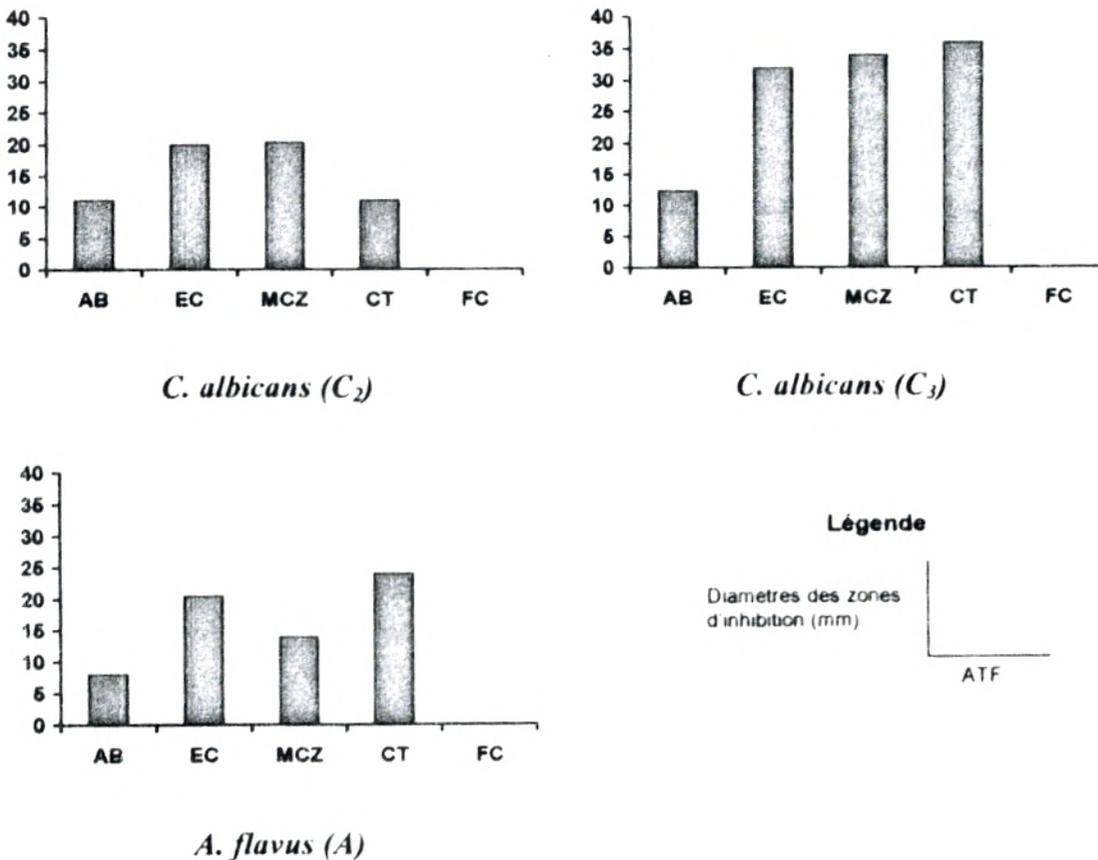


Fig 16 : Antifongigramme : Diamètres (en mm) des zones d'inhibition des différentes souches en fonction des antifongiques testés

• **Discussion :**

En absence de toutes normes officielles de référence en matière d'interprétation de ce test, on peut néanmoins subjectivement et par analogie avec celles établies pour

l'antibiogramme courant, sélectionner les produits en fonction de leur pouvoir antifongique vis-à-vis des différentes souches testées

Si l'on considère l'ensemble des résultats, il ressort que l'amphotéricine B et la 5-fluorocytosine sont inactives sur toutes les souches testées

En ce qui concerne la réactivité des espèces, on constate que *Aspergillus flavus* et *Candida albicans* C₂ sont intermédiaires vis-à-vis des autres antifongiques testés, contrairement au *Candida albicans* C₃ qui se révèle résistante à ces derniers (Figure 15)

3 – TECHNIQUES D'ETUDE DU POUVOIR ANTIMICROBIEN DES HUILES ESSENTIELLES D'AMMOIDES VERTICILLATA

a – Méthode de contact direct :

Les résultats obtenus par la technique de contact direct sont résumés dans le tableau 31

Tableau 31 : Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* selon la méthode de contact direct.

Souches	Dilutions	Témoin	Solution mère	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
				2324,3 µg/ml	232,43 µg/ml	23,243 µg/ml	2,3243 µg/ml
P ₁		++	-	-	++	++	++
P ₂		++	-	-	++	++	++
P ₃		++	-	-	++	++	++
E ₁		++	-	-	+	++	++
E ₂		++	-	-	+	++	++
E ₃		++	-	-	+	++	++
E ₄		++	-	-	+	++	++
E ₅		++	-	-	+	++	++
KL		++	-	-	++	++	++
SL		++	-	-	+ -	++	++
Ci		++	-	-	+	++	++
St ₁		++	-	-	+	++	++
St ₂		++	-	-	+	++	++
L ₁		++	-	-	+	++	++
L ₂		++	-	-	+	++	++
C ₂		++	-	-	+ -	++	++
C ₃		++	-	-	+ -	++	++
A		++	-	-	+ -	++	++

- Pas de croissance + Croissance
+ - Croissance faible ++ Croissance importante

• **Discussion :**

On note la croissance de tous les germes dans le témoin, par contre il y a absence de toutes les souches au niveau de la solution mère contenant 23243 µg/ml d'huile essentielle.

On constate la croissance de toutes les souches testées à partir de la dilution 10^{-2} (232,43 µg/ml).

Ainsi, la sensibilité de toutes les souches se situe entre les dilutions 10^{-1} et 10^{-2} (soit entre 2324,3 et 232,24 µg/ml d'huile essentielle dans le milieu).

Nous avons obtenu les mêmes résultats que **Mekadder en 1995** et ceci pour les souches citées dans la méthode de Vincent.

Par ailleurs, **Daïne E. et Mostefaï N. (1998)**, révèlent une sensibilité entre 10^{-1} et 10^{-2} pour les *E. coli* et les staphylocoques, une sensibilité entre la solution mère et 10^{-1} pour *klebsiella pneumoneae*, par contre les *pseudomonas aeruginosa* poussent même dans la solution mère.

Ainsi, on a obtenu des résultats plus intéressants.

b – Méthode de Vincent : Il est à rappeler que l'huile essentielle est déposée sous volume de 3 µl sur des disques de 6mm de diamètre stériles. Les résultats obtenus figurent dans le tableau 32.

Tableau 32 : Antibio-aromatogramme : Les moyennes des diamètres des zones d'inhibitions des différentes souches (en mm) selon la méthode de Vincent.

	Pierre du Chat	Tégma	Ben-Sakrane	Sabra	Meffrouche	Maghnia	Béni-Saf	Moyennes générales
<i>P₂</i>	23	22,7	22	20,7	19,3	19	18,7	20,8
<i>P₃</i>	23,3	22,7	21	20	19,7	19,3	19,3	20,8
<i>P₁</i>	24	23,3	22	22	21,3	20,7	20	21,9
<i>KL</i>	25,3	24,3	22,7	22	22	21,3	20,7	22,7
<i>E₅</i>	26	25,7	24	24	23,3	22,7	22,7	24,1
<i>E₃</i>	26,3	26	25,3	25,3	24,6	24	24	25,1
<i>Ci</i>	27,3	26,7	26,7	26	25,3	24,7	24,3	25,9
<i>L₁</i>	28,3	28	26,7	26	26	26	25,3	26,7
<i>L₂</i>	30,3	29,3	28,3	27,3	27,3	27,3	26	28
<i>E₄</i>	30	29,3	28,7	28	28	26,7	26,7	28,2
<i>St₁</i>	30,7	30,7	30	29,3	29,3	28,7	28,7	29,7
<i>St₂</i>	31,3	33,3	31,3	30,7	30,7	29,3	28,7	30,8
<i>E₂</i>	32	34	33,7	31,3	31,3	30,3	30	31,8
<i>E₁</i>	34,7	36,7	34,7	34	33,3	30	31,3	33,5
<i>SL</i>	38	38	36,7	34,7	34	33,3	32,7	35,3
<i>A</i>	40	39,3	38,7	36	35,3	34,7	34,7	36,9
<i>C₃</i>	41,3	39,3	39,3	38,7	38,7	37,3	36	38,7
<i>C₂</i>	41,3	41,3	40	40	39,3	39,3	38	39,9

• **Discussion :**

Si l'on considère les résultats fournis par la technique de Vincent (tableau 32), on observe de larges écarts dans les diamètres des zones d'inhibition obtenus, allant de 18,66 à 41,33 mm selon les souches. Par ailleurs, les différences sont significatives (Voir page 55) entre l'ensemble des stations sauf entre Pierre du Chat, Tégma et Ben-Sakrane puis entre Sabra, Meffrouche, Maghnia et Beni-Saf, et ceci pour une même souche. Par contre les différences ne sont pas significatives entre l'ensemble des stations, si on ne prend pas en considération les souches.

Selon **Pellecuer J. et al. (1980)**, et en absence de toutes normes officielles de références en matière d'interprétation de ce test, on peut néanmoins, subjectivement et par analogie avec celles établies pour l'antibiogramme courant sélectionner les souches sensibles, intermédiaires et résistantes (tableau 33).

Tableau 33 : Antibio-aromatogramme : Résultats exprimés en pourcentages de souches

Zone d'inhibition (mm)	Pourcentage	Souches
≤ 20	0	
20 à 25	22,3	<i>Pseudomonas</i> , <i>Klebsiella</i> et <i>E coli E₅</i>
≥ 25	77,7	Les autres souches

On constate que l'ensemble des souches sont sensibles sauf les souches de *Pseudomonas*, de *Klebsiella* et d'*E. coli E₅*.

Nous pouvons constater également que nos échantillons d'huiles essentielles sont plus actives sur les levures et moisissures que sur les bactéries.

Tableau 34 : Comparaison du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* de la région de Tlemcen par les techniques de Vincent avec les deux travaux antérieurs

Travaux de Mekadder (1995)		Travaux de Daine et Mostefai (1998)		Travaux personnels	
Souches	Ø (mm)	Souches	Ø (mm)	Souches	Ø (mm)
<i>E. Coli I</i>	30,03	<i>E. Coli I</i>	23	<i>E₅</i>	24,1
<i>E. Coli K12</i>	27,83	<i>E. Coli II</i>	23,35	<i>E₃</i>	25,1
		<i>E. Coli III</i>	30	<i>E₄</i>	28,2
				<i>E₂</i>	31,8
				<i>E₁</i>	33,5
<i>SL I</i>	43,22	<i>S paratyphi</i>	22	<i>SL</i>	35,3
<i>SL II</i>	22,87				
<i>St. aureus</i>	27,25	<i>St. aureus I</i>	20,25	<i>St₁</i>	29,7
		<i>St. aureus II</i>	10,5	<i>St₂</i>	30,8
		<i>St. aureus III</i>	17		
		<i>Ps aeruginosa I</i>	7,66	<i>P₂</i>	20,8
		<i>Ps aeruginosa II</i>	7,5	<i>P₃</i>	20,8
		<i>Ps aeruginosa III</i>	12,83	<i>P₁</i>	21,9

		<i>Kl. Pneumoneae</i>	16	KL	22,7
<i>L. monocytogenes</i>	23,65			L ₁	26,7
				L ₂	28
<i>C. albicans</i>	28,12	<i>C. albicans I</i>	14	C ₃	38,7
		<i>C. albicans II</i>	17,7	C ₂	39,9
		<i>C. albicans III</i>	18,7		

La comparaison de nos résultats à ceux de Mekadder en 1995 et de Daïne É. et Mostefaï N. en 1998 révèle que l'activité de nos échantillons d'huile essentielle sont plus intéressantes et ceci vis-à-vis des différentes souches.

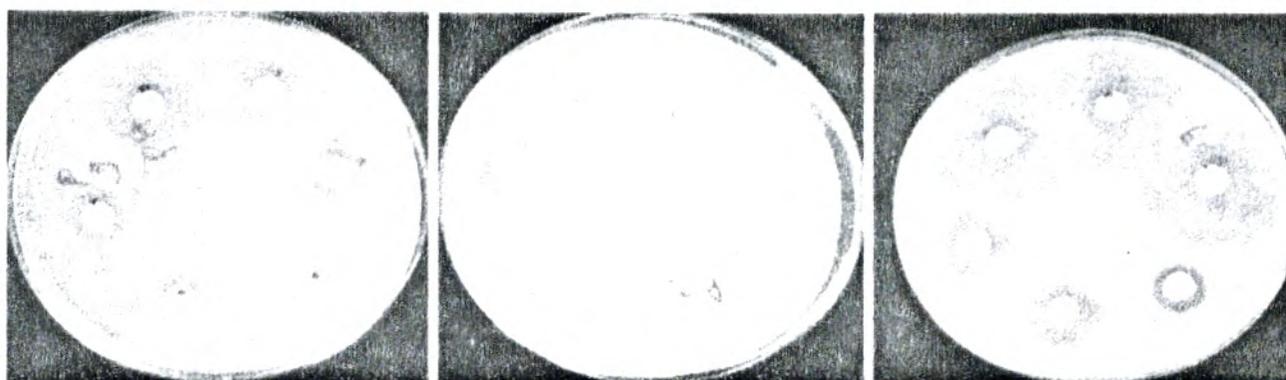


Photo 2

Photo 3

Photo 4



Photo 5

Photo 6

Photo 7

Photo 2 : Antibiogramme : *Pseudomonas aeruginosa* (P₂)

Photo 3 : Antifongogramme : *Candida albicans* (C₂)

Photo 4 : Antibiogramme : *Staphylococcus aureus* (St₁)

Photo 5 : Antibio-aromatogramme : *Escherichia coli* (E₄)

Photo 6 : Antibio-aromatogramme : *Pseudomonas aeruginosa* (P₂)

Photo 7 : Antibio-aromatogramme : *Klebsiella pneumoniae* (KL)

Par ailleurs, cette activité s'avère plus intéressante par rapport à l'action antimicrobienne des antibiotiques et des antifongiques testés. En effet, tous les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (antibio-aromatogramme) sont supérieures ou égales à 25 mm à l'exception des souches de *Pseudomonas*, de *Klebsiella*, et d'*Escherichia E₃* dont les

diamètres (antibio-aromatogramme) varient entre 20 et 25 mm, sont largement supérieures aux diamètres des zones d'inhibition obtenues avec l'antibiogramme

c – Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

Nous rapportons dans le tableau 35 les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* obtenues par la méthode de contact direct en milieu gélosé.

Tableau 35 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* relatives aux souches testées

Souches microbiennes	Concentration minimale inhibitrice (CMI) (µg/ml)
<i>P₂</i>	≤ 2208 100
<i>P₃</i>	2184 860
<i>P₁</i>	2115 140
<i>KL</i>	1998 918
<i>E₅</i>	1278 300
<i>E₃</i>	1045,900
<i>Ci</i>	1045 900
<i>L₁</i>	1045 900
<i>L₂</i>	1045 900
<i>E₄</i>	790 270
<i>St₁</i>	650 810
<i>St₂</i>	650 810
<i>E₂</i>	604 320
<i>E₁</i>	557 830
<i>SL</i>	464 860
<i>A</i>	395 130
<i>C₃</i>	371 890
<i>C₂</i>	302 160

• **Discussion :**

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Klebsiella pneumoniae* sont les plus résistantes inhibées à des concentrations très élevées d'huile essentielle *P₂* : 2208,1 µg/ml, *P₃* : 2184,86 µg/ml, *P₁* : 2115,14 µg/ml et *KL* : 1998,918 µg/ml

Les souches de *Listeria monocytogenes*, de *Citrobacter* et d'*E. coli E.* sont inhibées à partir d'un même seuil de concentrations d'huile essentielle soit 1045,9 µg/ml

La même observation est faite pour les staphylocoques, mais à des CMI plus faibles soit 650,81 µg/ml.

De la même façon, les micro-organismes les plus sensibles sont les champignons, inhibés à des CMI nettement inférieures à celles obtenues avec les bactéries soit: A : 395,13 µg/ml ; C₃ : 371,89 ; C₂ : 302,16 ; µg/ml.

Ainsi, l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est sans réserve très active sur l'ensemble des souches testées.

d – Détermination du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* en fonction du temps selon la méthode de contact direct :

Nous avons testé le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* obtenue après une semaine d'extraction et celle conservée après 20 mois vis-à-vis des souches citées précédemment afin de déterminer l'action antimicrobienne de l'huile essentielle en fonction du temps.

La comparaison entre les 2 huiles essentielles nous a révélé les mêmes résultats sauf que pour l'huile essentielle conservée après 20 mois, nous avons augmenté la quantité du Tween 80 (soit 3,5 ml de Tween est étendue à 90 ml d'eau distillée au lieu de 2,5 ml) pour avoir une solution homogène. Ceci est due probablement à la résinification de l'huile essentielle.

Remarque : Il est à noter que le Tween80 est inactif à des concentrations inférieures à 10% (Bourrel C. et al., 1995).

CONCLUSION

Ainsi utilisées depuis la plus haute antiquité, les plantes n'ont cessé de jouer un rôle de plus en plus important en médecine. Grâce au développement de la chimie, la plupart des principes actifs de ces plantes ont pu être extraits à l'état pur. Souvent ces principes actifs ont justifié a posteriori le bien-fondé de certains remèdes anciens ou populaires.

Le présent travail portant sur les huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* (Nunkha), récoltées dans sept stations d'étude proposées, nous a permis de conclure que :

- Notre plante renferme une teneur en huile essentielle très élevée, soit 5,3%. Par ailleurs, l'extraction par l'hydrodistillation est la méthode la plus intéressante du point de vue rendement.
- Le rendement varie considérablement d'une station à une autre. Ainsi, ceux de Pierre du Chat, de Meffrouche, de Ben-Sakrane et de Beni-Saf sont les plus importants.
- La période optimale de sa récolte se situe à la fin du mois de mai et au début du mois de juin. Ainsi, cette période est la plus propice pour l'extraction des huiles essentielles.

D'autre part, l'étude des caractères physico-chimiques nous a révélé de faibles différences avec les travaux antérieurs, ceci est dû probablement aux principaux facteurs géographiques qui sont le climat (précipitations, températures, vents, radiation solaire), le sol et l'altitude.

D'après nos résultats, l'analyse chromatographique en phase gazeuse des huiles essentielles de cette espèce, a permis de mettre en évidence un maximum de 20 constituants chimiques dont 12 ont été identifiés. Parmi ces composés, 5 constituants chimiques n'ont pas été identifiés précédemment. Ces composés sont le myrcène, le thujone, le terpinène 4-ol, l' α -terpinéol et le β -caryophyllène.

La comparaison entre la composition chimique des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* des différentes stations, laisse supposer la présence d'une seule race chimique - chimiotype à thymol.

Parallèlement, l'examen de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* des différentes stations, nous permet d'avancer que l'huile essentielle de Meffrouche et celle de Tegma contiennent le plus de composés.

L'étude de l'évolution de la composition chimique de l'huile essentielle de la station de Beni-Saf, a permis de constater une composition plus ou moins stable qualitativement au cours du cycle végétatif de la plante.

À la lumière des résultats obtenus par l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* des différentes stations, on constate qu'elles sont plus actives sur les champignons que sur les bactéries testées. En effet, les souches les plus résistantes sont les

Pseudomonas avec une CMI variant entre 2208,1 à 2115,14 µg/ml et les souches les plus sensibles sont les deux levures et la moisissure avec une CMI respectivement de 371,89 µg/ml, 302,16 µg/ml et 395,13µg/ml.

D'autre part, la comparaison du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* des différentes stations, nous a permis d'avancer que le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de Pierre du chat est le plus important. Ceci est du probablement a sa richesse en thymol qui est doté d'une activité antimicrobienne considérable.

Parallèlement, l'étude du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* en fonction du temps, a permis de constater qu'elle a la même activité même après 2 ans, en respectant les conditions de conservation.

En tenant compte de l'importance phytothérapeutique de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*, il apparaît nécessaire d'approfondir cette étude :

- Par une analyse chromatographique en phase gazeuse en utilisant des colonnes polaires et apolaires
- Il serait plus intéressant d'utiliser aussi une chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse afin de confirmer la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*.
- Une étude de l'évolution de la composition chimique des huiles essentielles au cours du cycle végétatif de la plante des différentes stations.
- Faire un fractionnement de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* et tester chaque fraction individuellement pour déterminer le où les principes actifs, puis faire des synergies
- De même, il serait intéressant de voir l'effet de cette huile sur d'autres micro-organismes pathogènes et faire des essais in vivo.

Enfin, nous espérons par cette étude donner de l'importance aux plantes spontanées et endémiques, car cette plante nous réserve encore assurément beaucoup de secrets et de surprises.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- **Adzet T. ; Passet J.** : Exposé communiqué à la journée de l'aromatique. Laumarin 8 mai 1971, chimiotaxonomie du genre *Stureiacalamintha*, EPPOS (Luglio), p 1-5, 1972.
- **AFNOR** : Recueil des normes françaises ; huiles essentielles ; 1992.
- **AFNOR** : Recueil des normes françaises ; huiles essentielles ; Détermination de la densité relative à 20°C ; NFT 75 111, juin, 1982.
- **AFNOR** : Recueil des normes françaises ; huiles essentielles ; Détermination du pouvoir rotatoire ; NFT 75 113, Juin, 1982.
- **AFNOR** : Recueil des normes françaises ; huiles essentielles ; Détermination de l'indice de réfraction ; NFT 75 112, Août, 1977.
- **AFNOR** : Recueil des normes françaises ; huiles essentielles ; Détermination du point de congélation ; NFT 75 102, sept., 1969.
- **AFNOR** : Recueil des normes françaises ; huiles essentielles ; Détermination de l'indice d'acide ; NFT 75 103, juin, 1982.
- **AFNOR** : Recueil des normes françaises ; huiles essentielles ; Détermination de l'indice d'ester ; NFT 75 104, juin, 1982.
- **AFNOR** : Recueil des normes françaises ; huiles essentielles ; Détermination de l'indice de carbonyle ; NFT 75 114, février, 1984.
- **AFNOR** : Recueil des normes françaises ; huiles essentielles ; Evaluation de la miscibilité à l'éthanol ; NFT 75 101, juin, 1982.
- **Ahmed Brahim M. ; Haddam M.R.** : Influence du cycle végétatif et lieux de récolte sur l'aspect qualitatif et quantitatif de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nounkha) de la région de Tlemcen. Mém. D'ingénieur d'état. univ. de Tlemcen, département de biologie, 1998.
- **Ashraf M. ; Bhatti M.K.** : Studies on the essential oils of the Pakistan species of the family umbelliferae. 1. *Trachyspermum Ammi* (L.) Sprague (Ajowan) seed oil. Pakistan. J. Sci. Ind. Res., p18, 232-235, 1975.
- **Badjah H.A.T.** : Extraction, analyse et évolution de la qualité des huiles essentielles des lavandes Algériennes. Thèse de Magister. faculté des Sciences de l'Université d'Alger, 1987.
- **Banquour N.** : Etude de l'effet de thym (décoction) et son huile essentielle sur l'évolution de la flore microbienne et quelques paramètres chimiques du smen au cours de son évolution. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle en microbiologie. Université Cadi Ayed, faculté des Sciences, Marrakech, 1984.

- **Bardeau F.** : La médecine par les fleurs. Ed. Robert Laffont, 1976
- **Barnett H.L.; Barry B.H.** Illustrated general of imperfect fungi. P. Burges Publishing company, 3rd Ed. Minnesota, USA, p225, 1972
- **Baspeyras M. ; Créteil** Tempo medico. Laboratoires Cilag, 1987
- **Battandier ; Trabut** La flore analytique et synoptique de l'Algérie et de la Tunisie. 1^{er} flore, 1902
- **Bekkouche A.** : Contribution a une etude des especes considerees endemiques dans la region de Tlemcen. Ing. D'état en ecologie et env. , 2000
- **Belaïche P.** : Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Ed. Maloine S A , Tome I, 1979
- **Bendjillali B. ; Tataoui Elaraki A. ; Ismaïli Alaoui N. ; Ayadi A.** Methodes d'etude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact directe en milieu gelose. Plante médicinales et phytothérapie, 1986
- **Béniston WS et NT** Fleurs d'Algérie. Ed. Entreprise nationale du livre, 1984
- **Benmansour A.** : Etude et valorisation de l'armoise blanche de l'Ouest Algérien et des noyaux de deux varietes de dattes Algeriennes. These de doctorat d'etat, univ. Tlemcen, Faculté des sciences, 1998
- **Benmerabet K. ; Abed L.** : Quelques aspects de la pharmacopée traditionnelle Algérienne. Le pharmacien du Maghreb, Special N°2, 1982
- **Berrahma L. ; Saadit** Investigation sur les huiles essentielles. Memoire d'Ingenieur d'Etat, U.S.T Oran, 1989
- **Beylier-Maurel F.** Activites bacteriostatiques des matieres premieres de parfumerie. Rivista Italiana EPPOS, p 58-283-286, 1976
- **Bezanger-Beauquesne L. ; Pinkas M. ; Torck M.** Les plantes dans la therapeutique moderne. Maloine S A. editeur, 1975
- **Bourel C.; Vilarem G.; Michel G. ; Gaset A.** Etude des proprietes bacteriostatiques et fongistatiques en milieu solide de 24 huiles essentielles prealablement analysees. Rivista Italiana EPPOS sedicesimo numero, 1995
- **Brun N** : Biosynthese des monoterpenes chez les labiees. Rapport bibliographique de D.E.A., université Claude Bernard, Lyon I, 1987
- **Bruneton J.** : Elements de phytochimie et pharmacognosie. Ed. Lavoisier, tec et doc., 1987.
- **Bruneton J.** Pharmacognosie phytochimie. Plantes medicinales. Tec et Doc. Lavoisier, 1993.
- **Bruneton J.** Pharmacognosie Phytochimie plantes medicinales. 3^{eme} ed. Doc et Tec. Lavoisier, 1999

- **Brunke E.J.** : Progress in essential oil. Proceeding of the international symposium on essential oils. Federal republic of Germany, p53, 1985.
- **Busta F. ; Foegeding P.M.** : Chemical food preservatives in S. block : « Desinfection, sterilization and preservation ». Lea and Febiger Ed., p 256-694, 1983.
- **Caree P.** : Précis de technologie et de chimie industrielle. Ed. Ballière J.B. et fils, T3, 1953.
- **Chabert Y.A.** : Données actuelles sur la résistance des bactéries aux antibiotiques, extrait des actualités pharmacologiques, 1973.
- **Chiali A. ; Elaïhar K.** : Contribution à l'étude des caractères physico-chimiques et l'analyse chromatographique de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nounkha) récoltée dans trois stations de la région de Tlemcen. D.E.S. en Biologie, physiologie végétale, Université Aboubakr Belkaïd de Tlemcen, 2000.
- **Chiali L.** : Essai d'une analyse syntaxonomique des groupements à Matorral dans la région de Tlemcen., Mém. Ing. Eco. Univ. Tlemcen, p139, 1999.
- **Chiej R.** : Les plantes médicinales. Ed. Solar, 1982.
- **Courvallin P.; Goldstein F.; Philppon A.; Sirot J.**: l'antibiogramme. MPC, Videom, Paris, 1985.
- **Croteau R. ; Loomis D.W.** : Biochemistry and Physiology of Lower terpenoïdes. Académie press, New York, p 6-147-182, 1973.
- **Daïne E.A. ; Mostefaï M.** : Contribution à l'étude du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* (Nounkha) de la région de Tlemcen et comparaison avec l'effet antiseptique du thymol et des antibiotiques. Mémoire d'ingénieur d'état, Université Aboubakr Belkaïd de Tlemcen, département de biologie, 1998.
- **De Boucheberg M.S. ; Allegrini J. ; Bessvere C. ; Ahisso M. ; Passet J. ; Granger R.** : Propriétés microbiologiques des huiles essentielles de chimiotype de *Thymus vulgaris linnalus*. Rivista Italiana EPPoS, p 58-527-536, 1976.
- **Debuige G.** : Larousse des plantes qui guérissent. Librairie Larousse, 1984.
- **Demalsy-Feller P. et M.J.** : les plantes à graines : Structure-Biologie-Développement. Armand Colin, 1990.
- **Domar A. ; Bourneuf J.** : Nouveau Larousse médical. 1990.
- **Duquenois P.** : L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'Europe du médicament. Parf. Cosm. Sav., p 11-414-418, 1968.
- **Frantisek Stary, ; Vaclav Jirasek** : Plantes médicinales, Atlas illustré. 1973.

- **Frontier S.** : Stratégie d'échantillonnage en écologie. Edition Masson et Cie. Coll. d'écologie. Press. Univ. De Laval (Québec), p 26-48. 1983.
- **Garnero J.** : Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention, du contrôle et de l'étude de la composition d'une huile essentielle. EPPOS., Nice. La communication présentée aux journées de dermopharmacies, Nice, 22-23 mai (1975), p. 1-23, 1976.
- **Garnero J.** : Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. techn. Encyclo. Me. Nat., (Paris-France), Phytothérapie-Aromathérapie, 1991.
- **Georgiev E.** : Recherche sur les fumures azotées de la menthe. Zemishat Sofia, tome III, 1959.
- **Gounot M.** : Méthodes d'étude quantitative de la végétation. Ed. Masson, Paris, p314, 1969.
- **Guenther E.** : The essential oils. Ed Kreiger R., 1950.
- **Guenther E.** : The essential oil origin in plants production analysis (I). Ed. Kreiger R., 1972.
- **Guignard J.L.** : Botanique, 10^{ème} éd. Masson, 1996.
- **Guinochet M. ; Vilmorin R.** : Flore de France. Ed. C.N.R.S., fascicule 2. 1975.
- **Harris W.** :

هاري وسيلي و بول ح فان ديمارك : ترجمة عبد الحفيظ ف مهاي و محمد مبارك الكائنات الحية... علماء الدار العربية للنشر و التوزيع، بغداد، 1989.

- **Ismaili Allaoui M.** : Pouvoir antiseptique de l'huile essentielle de thym sur les micro-organismes du smen. Mémoire de fin d'étude, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Rabat, 1983.
- **Jacob M. ; Pellecuer J. ; Tomei R.** : Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique. Rivista Italiana EPPOS, p 11-26-30, 1979.
- **Katzer G.** : Ajowan (*carum copticum* [L.] Benth et Hook) pant part, Family, Aroma, constituents, origin, Report problems and suggestions, 1998.
- **Khelfane F. ; Yousfi A.** : Extraction et analyse chromatographique de l'huile essentielle d'Eucalyptus globus. Thèse d'ingénieur : E.N.P., Alger, 1987.
- **Kurita N. ; Koike S.** : Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils componements . Agric. Biol. Chem., p 46-159-165, 1982.

- **Lawrence B.M.** : The existence of intraspecific differences in specific general in the labiateac family. Paper presented at VII international congress of essential oils (Cannes), p 118-123, 1980.
- **Legrand G.** : Manuel préparatoire en pharmacie. 8^{ème} éd. Masson, 1978.
- **Lemberg S.** : « Armoire » *Artémisia herba alba*. Perfumer flavorist, 1982.
- **Long G.** : Diagnostic phyto-écologique et aménagement du territoire. Tome I, principes généraux et méthodes. Ed. Masson, Paris, p256, 1974.
- **Mehta R.L.; Zayas J.F.** : Ajowan as a source of natural lipid antioxidant. Department of foods and nutrition, Justin Hall, Kansas state university, Manhattan, 1994.
- **Mehta R.L. ; Zayas J.F.** : Antioxidative effect of Ajowan in a model system. Department of foods and nutrition, Justin Hall, Manhattan, 1995.
- **Mekadder A.** : Contribution à l'étude qualitative et quantitative de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nounkha) de la région de Tlemcen et de son pouvoir antimicrobien. Mémoire d'Ingénieur, Institut de Biologie, Université de Tlemcen, 1995.
- **Merad R.** : Contribution à la connaissance de la pharmacopée traditionnelle Algérienne. Les inventaires du grand Alger. Thèse d'Etat. Univ. Alger. Institut des sciences médicales, Tome II, p 312, 1973.
- **Narasimha Char B.L.; Azeemoddin G. ; Thirumala Rao S.D.** : Composition and characteristics of wheat bran and wheat germ and their oils. Oil technological research institute, Anantapur, India, 1983.
- **Narayana C.; Somayajulu B.A.R.; Thirumala Rao S.D.** : Recovery of fatty-oil from spent seeds of Ajowan (*trachyspermum ammi* Linn). Oil technological research Institute, Anantapur, 1967.
- **Narayana C. ; Wiswanadham R.K.; Thirumala Rao S.D.** : Screw pressing of Ajowan (*trachyspermum ammi* linn) seeds. Oil technological research institute, Anantapur, 1968.
- **Négre N.** : Petite flore des régions arides du Maroc occidental. Ed. C.N.R.S., tome II, 1962.
- **Nigram C. ; Shakum W. ; Levi L.** : Determination of trace constituents of oil of Ajowan. Parfum. Essent. Oil Rec., p54, 25-28, 1963.
- **Padrini F. ; Lucheroni M.T.** : Le grand livre des huiles essentielles. Ed. de Vecchi, 1996.
- **Pellecuer J. ; Allegrini J. ; De Boucheberg M.S.** : Huile essentielle bactéricides et fongicides. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon, p 9-135-159, 1976.

- **Pellecuer J. ; Jacob M. ; Simeon De Boucheberg M. ; Dusart G. ; Atisso M. ; Barthez M. ; Gourgas L. ; Pascal B. ; Tomei R. :** Essais d'utilisation d'huile essentielle de plantes aromatiques méditerranéennes en odontologie conservatrice. Plantes médicinales et phytothérapie, 1980.
- **Perrin A. ; Colsan M. :** L'appareil sécréteur chez les menthes : modalité de stockage des essences dans les glandes à tête pluricellulaire. Acte du colloque : Les menthes en France, aspect scientifique, économique et industriel. Université Claude Bernard, Lyon I, 1983.
- **Quezel P. ; Santa S. :** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. C.N.R.S., 1963.
- **Ramachandriah O.S. ; Atchyuta Ramaiah D. ; Azeennoddin G. ; Thirumala Rao S.D.:** Essential oils from post-harvest-wastes of Ajowan and coriander. Oil technological research institute, Anantapur, India, 1983.
- **Remmal A. ; Bouchikhi T. ; Rhayour K. and Ettaybi M. :** Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. J. Essent. Oil Res., p5, 179-184, 1993.
- **Rubin M. ; Messali J.P. :** Abrégé de phytothérapie pratique. Ed. Doin, 1988.
- **Sijelmassi A. :** Les plantes médicinales du Maroc. 2^{ème} Ed. Le Fennec, 1991.
- **Singh A.K. ; Dikshit A. ; Dixit S.M. :** Fungitoxic properties of essential oil of *mentha arvensis varpepiraxens*. Perfumer and flavorist, p 8-55-58, 1983.
- **Tataoui Elaraki A. ; Errifi A. ; Bendjillali B. ; Lallaoui N. :** Antimicrobial activity of four chemically different essential oils. Rivista Italiana EPPOS sesto numero, 1992.
- **Tranchant J. :** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Ed. Masson, 1982.
- **Valnet J. :** Aromathérapie - Traitement des maladies par les essences des plantes. Ed. Maloine S.A., N°10, 1984.
- **Volak J. ; Stodola J. :** Les plantes médicinales. Guind, 1983.
- **Wehmer C. :** Die Planzestoffe ; Zweiter Band, 1931.
- **Wichtel M. ; Anton R. :** Plantes thérapeutiques : tradition pratique, officinale, science et thérapeutique. Ed. Tech. et Doc., 1999.
- **Ziyyat A. ; Legssyer A. ; Mekhefi H. ; Dassouli A. ; Serhrouchni M ; Bendjelloun W. :** Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco, journal of Ethnopharmacology, Elsevier, 1997.

ANNEXES

ANNEXE I :

MODE D'EMPLOI DES PLANTES MEDICINALES :

a – La décoction :

Se pratique habituellement sur les végétaux qui présentent des principes actifs difficiles à extraire, en particulier, ceux qui contiennent une forte proportion de mucilage, car ça nécessite une longue période d'échauffement.

Le processus d'extraction par décoction consiste à faire bouillir, dans de l'eau, une partie ou la totalité de la plante, pendant un temps déterminé (10 à 30 mn), de la laisser ensuite macérer pendant un autre laps de temps et de procéder enfin au filtrage à l'aide d'un papier spécial ou d'une toile à trame fine (Chiej R., 1982).

On prend, généralement, 10g d'eau pour un gramme de produit végétal (Volak J., Stodola., 1983).

b – L'infusion :

Cette méthode ne permet pas l'extraction des principes, qui requièrent une chaleur élevée et continue. En effet, lorsqu'il s'agit de traiter des parties très fragiles de la plante, tels que les feuilles et les fleurs, ce procédé est certainement le plus adapté pour en extraire les principes actifs.

L'infusion s'obtient en versant de l'eau bouillante sur une quantité déterminée de plante. Le récipient sera en terre cuite ou en verre afin d'éviter la formation de tannate de fer, qui se dépose sur les ustensiles métalliques et qui est provoqué par la présence de tanin dans les plantes. Après avoir versé l'eau bouillante, on recouvrira aussitôt le récipient de son couvercle, afin de provoquer la condensation des vapeurs riches en produits volatils et leur retombée dans le liquide d'infusion. Après un laps de temps variable selon la nature de la plante : de dix minutes à une heure, on effectuera le filtrage indispensable avant toute utilisation (Chiej R., 1982).

On emploie, en général, comme pour la décoction, une part de produit végétal pour dix parts d'eau.

c – La macération :

La macération s'applique aux plantes médicinales dont les principes actifs sont solubles à l'eau froide (Chiej R., 1982).

Cette préparation s'obtient en mettant les plantes, en contact, à froid, avec un liquide quelconque. Ce liquide peut être du vin, de l'alcool, de l'eau ou de l'huile. Le temps de

contact est parfois très long, en effet, les plantes aromatiques ou amères devront macérer entre deux et douze heures. Les macérations à l'eau sont plus rarement employées, car elle ont l'inconvénient de fermenter facilement, ne doivent pas, de toute manière, excéder une dizaine d'heures (**Debuigue G., 1984**).

Sauf indication médicale, les macérations se préparent à raison d'une part de plante pour vingt parts de liquide (**Volak J. ; Stodola J., 1983**).

Les produits obtenus par ces trois préparations donnent lieu cependant à des critiques fondées : ainsi, les travaux de W. Hameister (**in Wichtel M. ; Anton R,1999**) montrent que l'ébullition d'une plante conduit à une infusion bactériologiquement propre ; par contre, le nombre de germes est élevé pour les extraits aqueux préparés par décoction et encore plus pour les extraits préparés à froid (macération).

d – L'extraction des sucs :

Ce procédé exige que les plantes soient absolument fraîches et riches en humidité. Les sucs contiennent les sels minéraux, les vitamines que la plante a élaboré, ainsi que les autres substances obtenues par pression. Par cette méthode, on n'obtient pas tous les principes actifs, mais la structure des composants sensibles à la chaleur ne sera pas modifiée. Pour une utilisation domestique, on peut extraire les sucs en procédant à une ébullition rapide de la plante fraîche, suivie de pressions successives, faites à l'aide d'un appareil approprié, telle une petite presse, ou grâce à une centrifugeuse moderne qui permet la récupération de presque tous les sucs contenus dans la plante. (**Chiej R.,1982**)

e – Autres modes de préparation :

En dehors des trois préparations classiques des plantes médicinales par les procédés d'infusion, de macération et de décoction, on utilise encore les plantes sous forme de poudre, de cataplasme ou de fumigation.

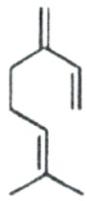
e.1 – Poudre : Les plantes desséchées (entières ou feuilles, graines, racines ou écorces) sont broyées, puis incorporées aux aliments (marmelade, confiture).

e.2 – Cataplasme : Il consiste à appliquer sur la peau des préparations de consistance molle et pâteuse ou encore des préparations de plantes râpées ou écrasées. On utilise aussi des plantes amollies par infusion ou par décoction, dont on fait une espèce de coussin introduit entre deux linges et qu'on applique sur la partie malade.

Les cataplasmes peuvent être émollients, maturatifs, résolutifs, calmants, ou rubéfiants. (**Debuigue G.,1984**)

e.3 – Fumigation : On fait bouillir ou brûler des plantes, de façon à bénéficier des propriétés thérapeutiques des vapeurs ou fumées produites. Ces vapeurs des plantes aromatiques ont un grand pouvoir désinfectant. Cependant, le malade, parfois, doit humer directement ces vapeurs bienfaisantes en se plaçant au-dessus du récipient retiré du feu, la tête recouverte d'une serviette : il inspire à fond et fait alors une inhalation.

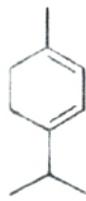
Aussi, la fumée qui se dégage lorsqu'on fait brûler lentement les plantes, sur les braises du foyer, sert à purifier l'air des chambres des malades. **(Debuigue G.,1984)**



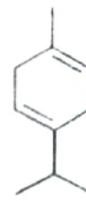
myrcène



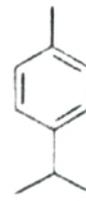
ocimène



α-terpinène



γ-terpinène



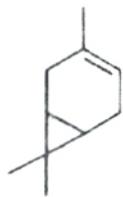
p-cymène



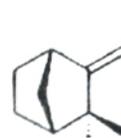
(-)-α-pinène



(+)-β-pinène



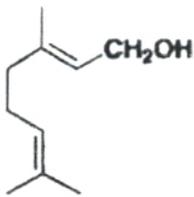
3-carène



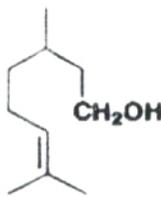
(+)-camphène



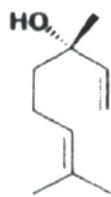
(+)-sabinène



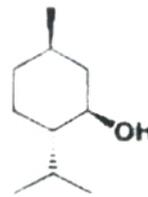
géraniol



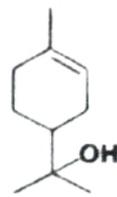
citronellol



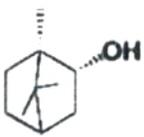
(+)-linalol



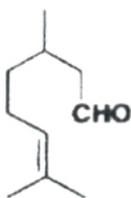
(-)-menthol



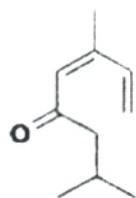
α-terpinéol



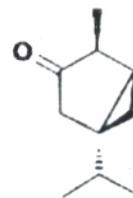
(-)-bornéol



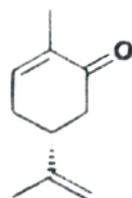
citronellal



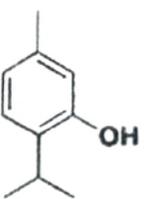
tagétone



(+)-3-thuyone



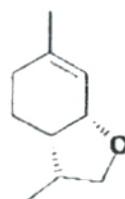
(-)-carvone



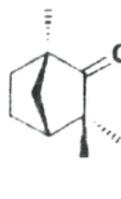
thymol



ascardol



diit-éter

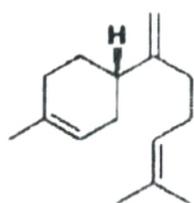


(+)-fenchone

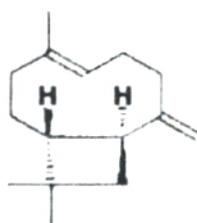


1,8-cinéole

Schéma 1 : Exemples de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrées dans les huiles essentielles.
(Bruneton J., 1999)



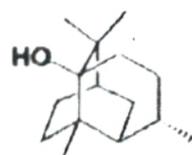
β-bisabolène



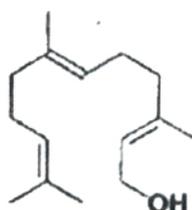
β-caryophyllène



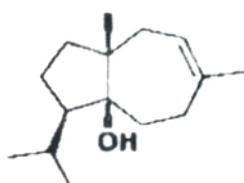
longifolène



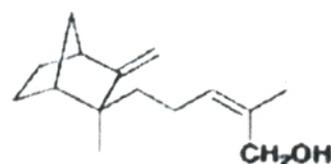
patchoulol



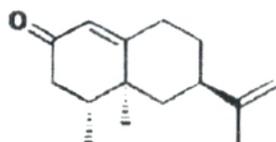
trans, trans-farnésol



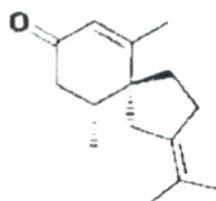
carotol



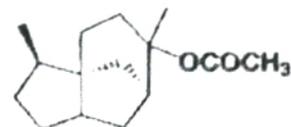
β-santalol



(+)-nootkatone

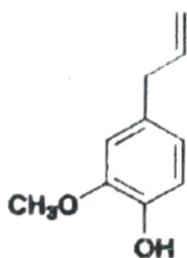


β-vétivone

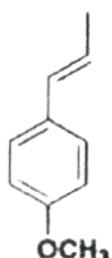


acétate de cédryle

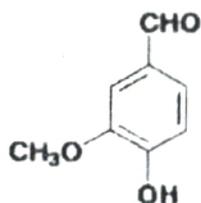
Schéma 2 : Exemples de structures de sesquiterpènes rencontrées dans les huiles essentielles. (Bruneton J., 1999)



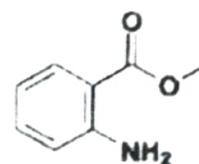
eugénoïl



E-anéthole



vanilline



anthranilate de méthyle

Schéma 3 : Exemples de structures de composés aromatiques rencontrées dans les huiles essentielles. (Bruneton J., 1999)

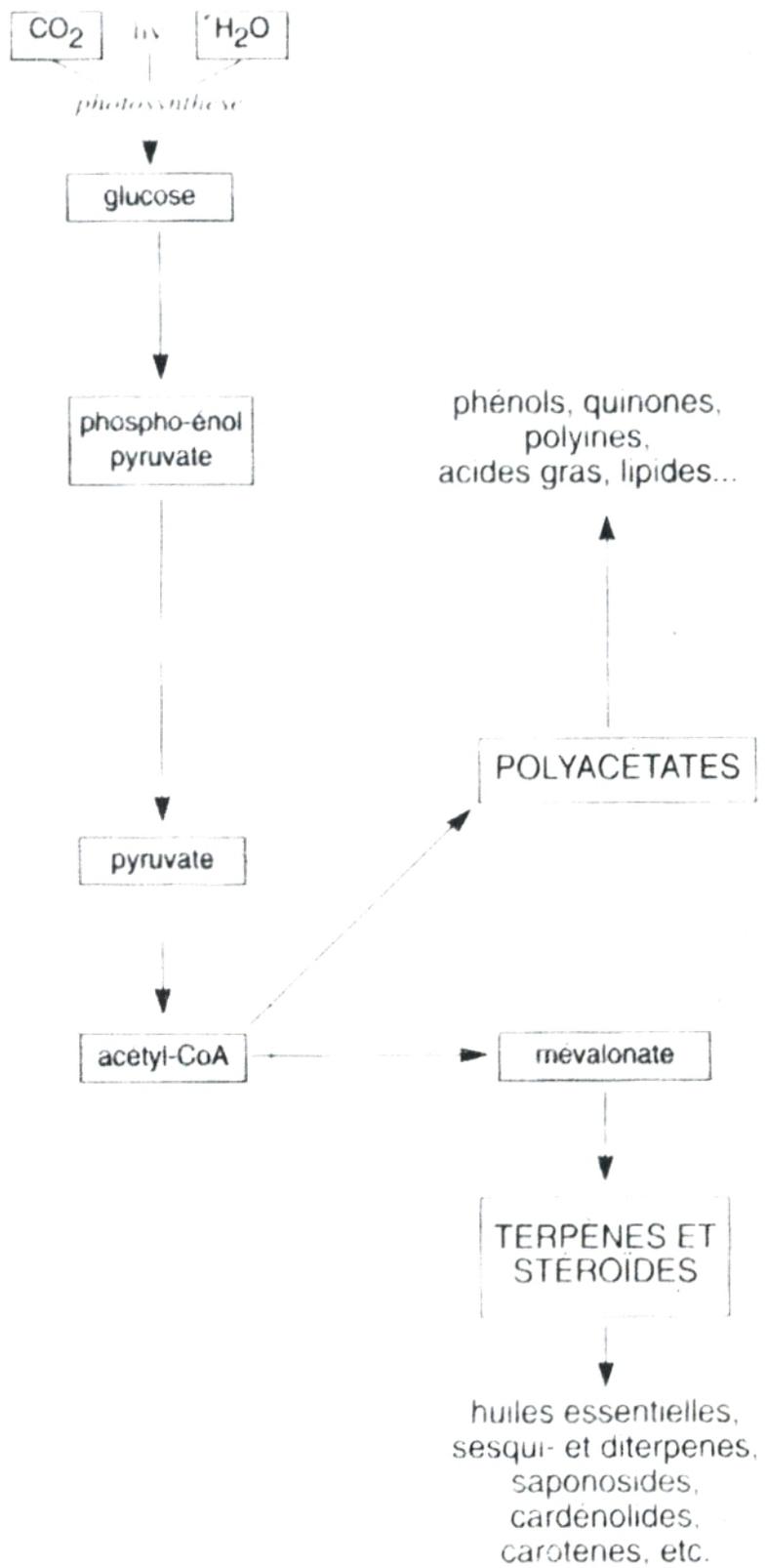
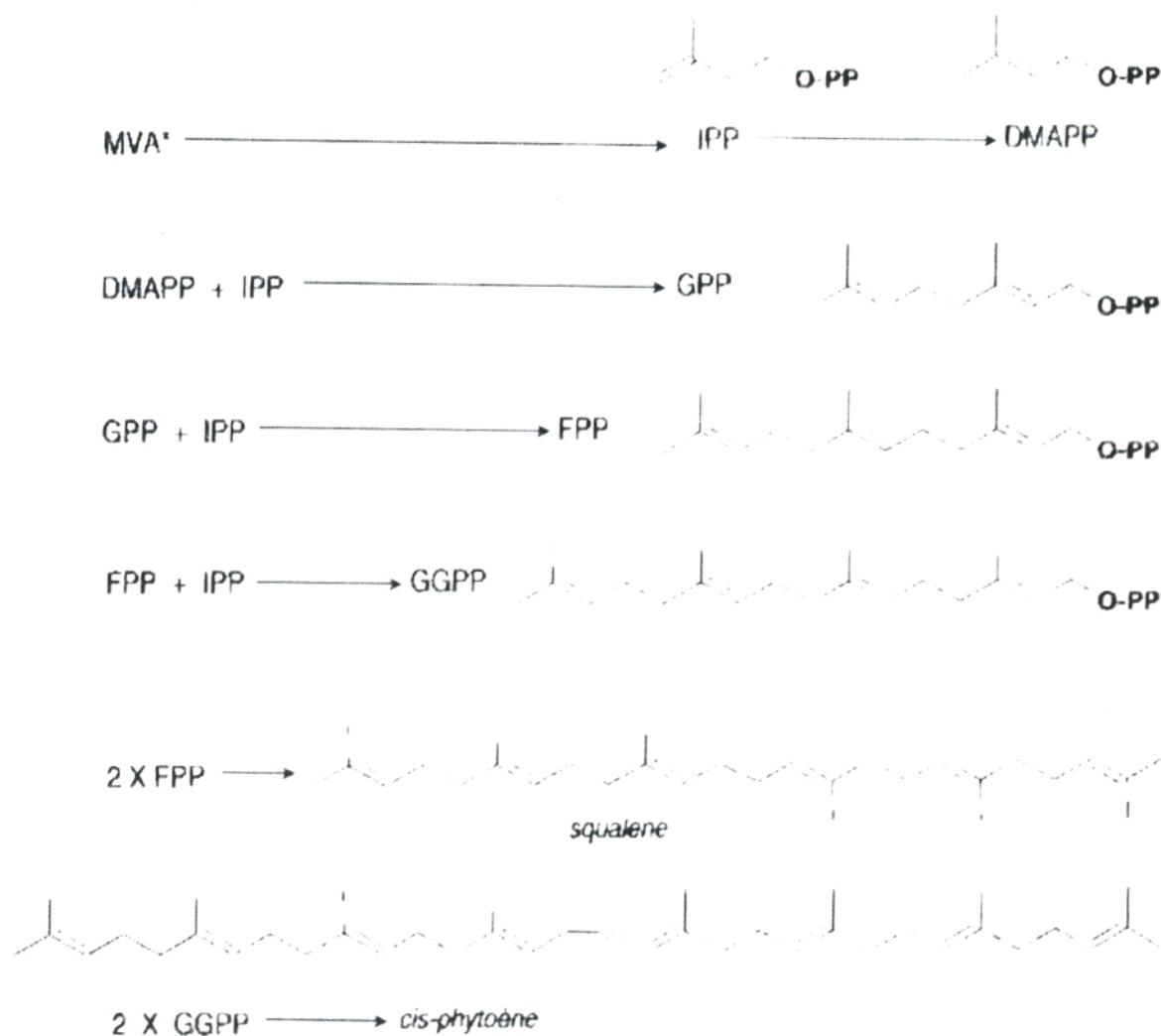


Fig. 2 : Schéma général de la biosynthèse des huiles essentielles
(Bruneton J., 1999)



* MVA = acide mévalonique ; IPP = isopenténylpyrophosphate ; DMAPP = diméthylallylpyrophosphate ;
 FPP = farnésylpyrophosphate ; GPP = geranylpyrophosphate ; GGPP = géranylgeranylpyrophosphate.

Fig. 3 : Origine des terpènes : formation des précurseurs de chaque classe. (Bruneton J., 1999)

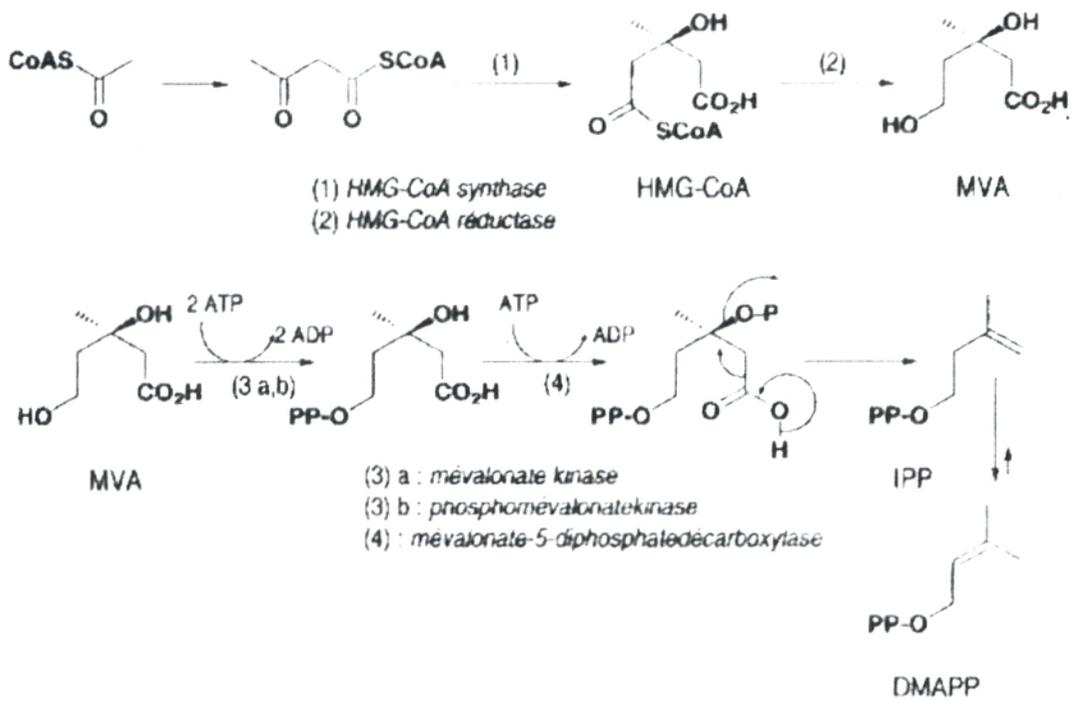


Fig. 4 : Biosynthèse des terpènes : origine des unités en C5
 (Bruneton J., 1999)

MODES D'EMPLOI DES HUILES ESSENTIELLES :

a – La prise par voie orale :

Le contact des essences avec les délicates muqueuses digestives peut être irritant, en outre, les dosages doivent être établis avec soin afin d'éviter le risque d'intoxication aiguë ou chronique. Le dosage des essences administrées par voie interne est en moyenne de 3 gouttes par prise (mélangées dans une petite cuillerée de miel vierge) pour un total maximum par jour oscillant entre 5 et 20 gouttes, selon les essences utilisées, à prendre avant ou pendant les repas. (Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996)

La prise par voie orale doit être envisagée uniquement lorsqu'elle est nécessaire, c'est-à-dire, pour le traitement proprement dit de certaines maladies, tandis que la prévention, la stimulation énergétique et la vitalisation du corps seront obtenues de préférence par l'application par voie externe.

b – L'utilisation par voie externe :

La voie externe est préférable car elle est plus sûre et plus commode. En outre, avec une application locale, les essences pénètrent immédiatement à travers la peau et agissent directement sur les organes se trouvant dans la zone située sous la peau. La dose journalière est de 10 gouttes. (Padrini F. ; Lucheroni M.T. , 1996)

b.1 – Massage : Pour un massage, on ajoute une ou plusieurs essences à l'huile de base qui servira de véhicule pour les essences sur la peau, les diluera pour éviter des phénomènes d'irritation et permettra des mouvements de massage plus déliés. Les huiles de base devront avoir une grande affinité avec la peau telles que les huiles végétales (l'huile de germe de blé, l'huile d'amande douce, l'huile de noisette, l'huile d'olive...).

Les pourcentages de dilution sont les suivants : le contenu d'huile essentielle dans un mélange devrait osciller entre 1 et 3%, selon le type de troubles.

b.2 – Bain : Pour un bain aromatique, la température de l'eau doit être chaude sans excès. On ajoutera les essences juste au moment d'entrer dans la baignoire afin de pouvoir tirer l'effet maximum de l'évaporation des composants volatils. Ajoutez 4 ou 5 gouttes de l'essence choisie.

b.3 – Compresse : Dans un bol d'eau chaude ou froide selon les besoins, versez 5 à 8 gouttes d'essence. Utilisez de l'eau chaude pour les douleurs musculaires et de l'eau froide pour les foulures, les fièvres, migraines. Les compresses aux essences peuvent atténuer la douleur ou les gonflements.

b.4 – Evaporation : Versez 3 ou 4 gouttes d'essence dans un diffuseur, constitué d'une source de chaleur (petite lampe ou bougie) sur laquelle se trouve une coupelle avec un peu d'eau. Sous l'effet de la chaleur, l'eau s'évapore et l'essence se volatilise. On peut également verser quelques gouttes d'essence dans un humidificateur prévu à cet effet ou dans un nébuliseur de spray. La nébulisation d'essences dans l'atmosphère a un pouvoir antiseptique puissant et elle est particulièrement recommandée dans les chambres des malades pour purifier l'air.

b.5 – Fumigations et inhalations : Ajoutez de 5 à 8 gouttes d'essence dans une petite cuvette d'eau bouillante et respirez-en les vapeurs après vous être recouvert la tête d'une serviette de bain. Cette méthode est très efficace pour le traitement des affections des voies respiratoires.

b.6 – Frictions : 2 ou 3 gouttes d'essence diluées dans une base alcoolisée que l'on frictionnera sur la région cutanée correspondant à l'organe touché (par exemple sur le thorax pour une toux, une bronchite, etc.), jusqu'à ce que cette partie soit réchauffée.

b.7 – Rinçages et gargarismes : Ajoutez 2 ou 3 gouttes d'essence dans un verre d'eau bouillie pour des rinçages ou des gargarismes en cas d'inflammation des muqueuses de la bouche ou de la gorge.

ANNEXE II :

DETERMINATION DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES :

1 – Caractéristiques physiques :

a – Densité relative :

a.1 – Mode opératoire :

Nettoyer soigneusement puis rincer le pycnomètre, par exemple, au moyen d'éthanol puis d'acétone, et le sécher en faisant passer un courant d'air sec. Si nécessaire, essuyer l'extérieur du pycnomètre avec un chiffon sec ou un papier filtre.

- Peser le pycnomètre avec de l'eau distillée récemment bouillie, puis refroidie aux environs de 20°C.
- Peser le pycnomètre plein, muni de son bouchon, à 1 mg près.
- Vider le pycnomètre, puis le rincer et le sécher.
- Effectuer les mêmes opérations en remplaçant l'eau par l'huile essentielle.

a.2 – Matériel utilisé :

- Pycnomètre.
- Balance analytique.
- Thermomètre.

b – Pouvoir rotatoire :

b.1 – Matériel utilisé :

- Solvant (de préférence l'éthanol à 95% ou le tétrachlorure de carbone. Il est recommandé de vérifier que le solvant utilisé a un pouvoir rotatoire nul).
- Eau distillée.
- Polarimètre (de type Schmidt + Haensch) réglé de façon à donner 0° et 180° avec l'eau.
- Lampe.

c – Point de congélation :

c.1 – Matériel utilisé :

- Tube à essai

Dispositif pour la détermination (Voir schéma page 112).

- Tube en verre (A) d'environ 20 mm de diamètre et 10 mm de longueur fixé par un bouchon de liège ou de caoutchouc dans le tube (B).

- Tube en verre (B) à paroi épaisse d'environ 30 mm de diamètre et de 125 mm de longueur fixé au moyen d'un bouchon de liège ou de caoutchouc dans un récipient (C).
- Récipient (C) de 500 ml environ à large ouverture, destiné à recevoir le tube (B).
- Agitateur annulaire.
- Thermomètre

c.2 – Mode opératoire :

- Refroidir quelques millilitres dans un tube à essai et agiter à l'aide d'un agitateur annulaire jusqu'à solidification.
- Remplir le récipient (C) d'eau, de glace fondante ou d'un mélange frigorigène de manière à abaisser la température jusqu'à 5°C en dessous de celle notée lors de l'essai préliminaire. Assembler le tube (B) et le récipient (C).
- Dans le tube (A), introduire 10 ml de l'huile essentielle à analyser, puis y placer le thermomètre et refroidir avec précaution jusqu'à la température notée lors de l'essai préliminaire. Introduire alors le tube (A) dans le tube (B) et attendre que la température se soit encore abaissée de 2°C.
- Amorcer la solidification avec une trace de l'huile essentielle utilisée au cours de l'essai préliminaire et agiter modérément à l'aide de l'agitateur annulaire en ayant soin d'éviter que des particules adhèrent aux parois du tube.
- Noter la température observée quand la courbe de température en fonction du temps présente un maximum ou un palier et l'exprimer en degrés Celsius avec une décimale. Poursuivre la mesure jusqu'à ce que 2 résultats consécutifs ne diffèrent pas plus de 0,2°C.

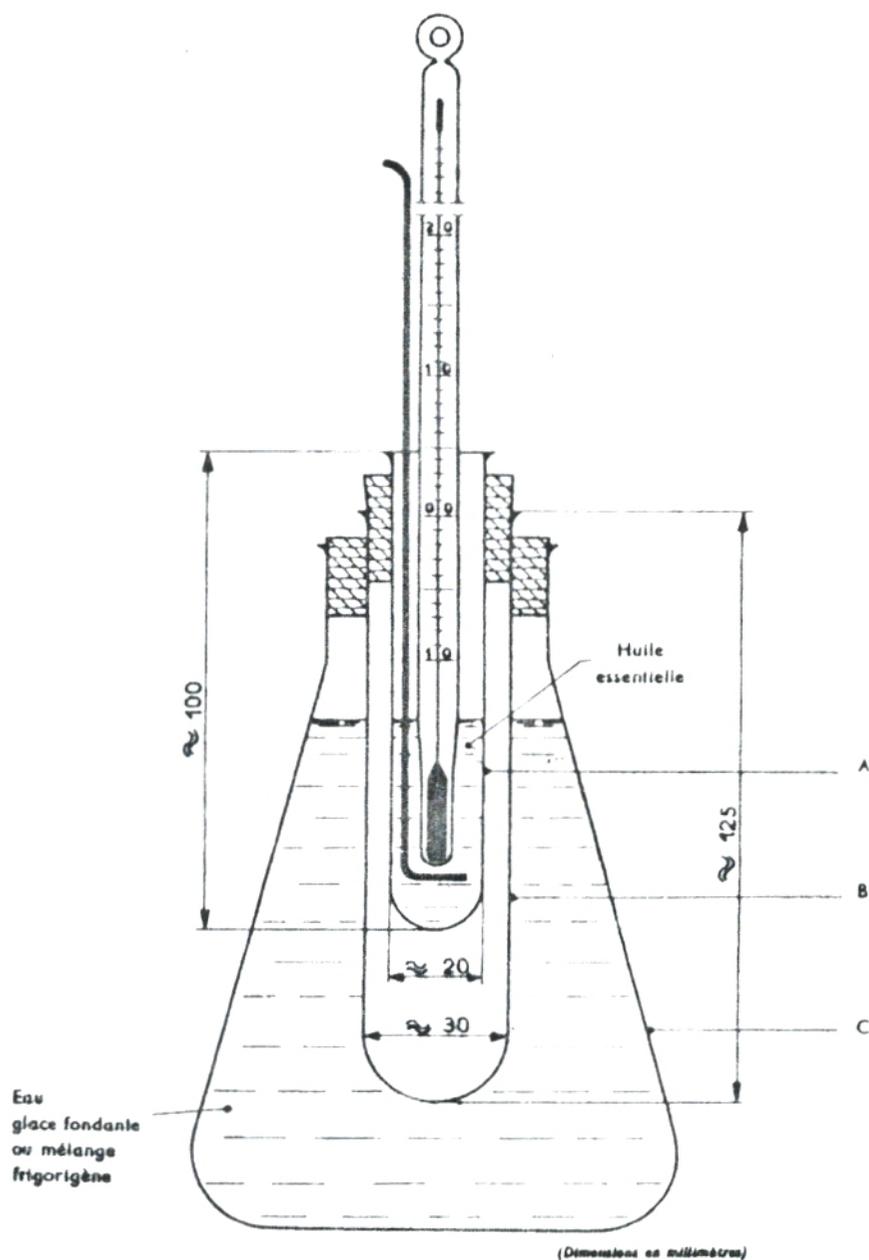


Schéma 3 : Dispositif pour la détermination du point de congélation

d – Indice de réfraction :

d.1 – Mode opératoire :

- Quelques gouttes d'huile essentielle, sont déposées dans l'appareil et la lecture de l'indice de réfraction se fait comme suit :

On règle le réfractomètre de manière à obtenir une moitié supérieure claire et une autre moitié inférieure sombre et ceci au niveau du cadran.

L'appareil utilisé est de type Paralux optique de précision 68600 (Lustiner France)

2 – Caractéristiques chimiques :

a – Miscibilité à l'éthanol :

a.1 – Matériel utilisé :

- Burette, de capacité 25 ml.
- Pipette de 1 ml.
- Fiole ou un tube à essai.
- Mélanges hydro-éthaloniques à 50 – 55 – 60 – 65 – 70 – 75 – 80 – 85 – 90 – 95%.

a.2 – Mode opératoire :

- Introduire, dans la fiole ou le tube à essais, 1 ml d'huile essentielle.
- Ajouter, à l'aide de la burette, un mélange hydro-éthalonique de titre alcoolo-métrique déterminé, par fraction de 0,1 ml jusqu'à miscibilité complète, en agitant énergiquement après chaque addition. Lorsque le mélange est parfaitement limpide, noter le volume du mélange hydro-éthalonique utilisé.
- Poursuive l'addition du mélange hydro-éthalonique, par fractions de 0,1 ml jusqu'à un total de 20 ml, en n'oubliant pas d'agiter après chaque addition. S'il se produit un trouble avant l'addition complète, noter le volume qui a provoqué ce trouble, et, éventuellement, le volume avec lequel celui-ci disparaît.
- Dans le cas où une solution limpide n'est pas obtenue après l'addition des 20 ml de solvant, utiliser le mélange hydro-éthalonique de titre alcoolo-métrique immédiatement supérieur.

b – L'indice d'acide :

b.1 – Matériel utilisé :

- Fiole de 100 ml.
- Eprouvette, de capacité de 5 ml.
- Burette, de capacité de 25 ml.
- Balance analytique.
- Ethanol à 95%.
- Hydroxyde de potassium : solution éthalonique titrée, $C(\text{KOH}) = 0.1 \text{ mole/l}$.
- Indicateur coloré :
 - Phénolphaléine, solution à 2 g/l dans de l'éthanol.
 - Ou si l'huile essentielle à analyser renferme des constituants contenant des groupes phénoliques : rouge de phénol, solution à 0.4 g/l dans de l'éthanol à 20%.

b.2 – Mode opératoire :

- Peser 2 g d'huile essentielle, et l'introduire dans la fiole.
- Ajouter 5 ml d'éthanol et 5 gouttes de l'indicateur coloré.
- Neutraliser le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium contenue dans la burette, jusqu'à l'obtention d'une coloration rose qui ne persiste que quelques minutes avant de reprendre sa couleur initiale (jaune).
- Préserver la fiole avec son contenu pour la détermination de l'indice d'ester.

Note : l'huile essentielle de Nûnkha contient le thymol (composé phénolique) comme composé majoritaire, pour cela, on a utilisé le rouge de phénol comme indicateur coloré.

c – L'indice d'ester :

c.1 – Matériel utilisé :

- Ethanol à 95%.
- Hydroxyde de potassium, solution éthanolique titrée, $C(\text{KOH}) = 0,5 \text{ mole/l}$.
- Acide chlorhydrique, solution titrée, $C(\text{HCl}) = 0,5 \text{ mole/l}$.
- Indicateur coloré :
 - Phénolphthaléine à 2 g/l.
 - Rouge de phénol à 0,4 g/l dans de l'éthanol à 20%.
- Fiole.
- Eprouvette, de capacité 5ml.
- Balance analytique.
- Burette, de capacité 25 ml.
- Chauffe-ballon.
- Pierre ponce, eau distillée.

c.2 – Mode opératoire :

- Dans la fiole, introduire la prise d'essai (2 g), ajouter 25 ml de la solution d'hydroxyde de potassium et des fragments de pierre ponce.
- Adapter le réfrigérant et placer la fiole dans un chauffe-ballon. Le chauffage dure près d'une heure à partir de l'ébullition. Cette durée est suffisante pour permettre la libération des acides par l'hydrolyse des esters.
- Laisser refroidir, démonter le réfrigérant et ajouter 20 ml d'eau puis 5 gouttes de l'indicateur coloré.
- Parallèlement, on réalise la même expérience mais sans la prise d'essai, ce qui constitue l'essai à blanc.
- Titrer l'excès d'hydroxyde de potassium avec la solution d'acide chlorhydrique.

Note : cette détermination peut être effectuée sur la solution provenant de la détermination de l'indice d'acide, à condition d'ajouter 5 ml d'éthanol dans l'essai à blanc avant les 25 ml d'hydroxyde de potassium.

d – Dosage des constituants carbonylés :

d.1 – Matériel utilisé :

- Ethanol à 95%.
- Hydroxyde de potassium, solution titrée $C(\text{KOH}) = 0,5$ mole/l dans de l'éthanol à 95%.
- Acide chlorhydrique, solution titrée $C(\text{HCl}) = 0,5$ mole/l.
- Bleu de Bromophénol : dissoudre, à chaud, 0,2 g de bleu de bromophénol dans 3 ml d'hydroxyde de potassium en solution étalonique. $C(\text{KOH}) = 0,1$ mole/l et 10 ml d'éthanol à 95% (V/V). Après refroidissement, diluer à 100 ml avec le même éthanol.
- Chlorure d'hydroxylammonium ; solution étalonique : dissoudre 50 mg de chlorure d'hydroxylammonium dans environ, ajouter 800 ml d'éthanol à 95%, puis ajouter 10 ml de la solution étalonique de bleu de bromophénol, et diluer à 1000 ml avec de l'éthanol à 95% (V/V). Ajouter la solution étalonique d'hydroxyde de potassium jusqu'au virage au vert si le liquide est observé sous faible épaisseur, ou jusqu'au virage au rouge si l'épaisseur est forte. Une couleur jaune citron doit être obtenue lorsqu'on ajoute 0,05 ml de la solution d'acide chlorhydrique à 20 ml de la solution.
- Burette, de capacité 25 ml.
- Fiole.
- Balance analytique.

d.2 – Mode opératoire :

- Peser dans la fiole 2 g d'huile essentielle.
- Ajouter 25 ml de chlorure d'hydroxylammonium.
- Laisser reposer pendant 3 heures.
- Titrer avec la solution d'hydroxyde de potassium jusqu'à l'obtention d'une coloration bleue persistant pendant 5 minutes.

ANNEXE III :

RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE

Par Hydrodistillation

Tableau 9 : Rendements en huile essentielle des différentes stations
(Extraction par hydrodistillation)

Stations	Poids du végétal (g)	Poids d'huile (g)	Rendements (%)	Rendements moyens (%)
<i>Pierre du chat</i>	100	4,8	4,8	5,3
	100	5	5	
	100	5,9	5,9	
	100	5,5	5,5	
<i>Tégma</i>	100	3,2	3,2	3,3
	100	3,4	3,4	
	100	3,6	3,6	
	100	3	3	
<i>Ben-Sakrane</i>	100	3,5	3,5	4,2
	100	4,9	4,9	
	100	4,2	4,2	
	100	4,2	4,2	
<i>Béni-Saf</i>	100	5,1	5,1	5,1
	100	5,1	5,1	
	100	4,9	4,9	
	100	5,3	5,3	
<i>Maghnia</i>	100	2,2	2,2	2,9
	100	3,7	3,7	
	100	3,3	3,3	
	100	2,4	2,4	
<i>Sabra</i>	100	2,7	2,7	2,7
	100	2,8	2,8	
	100	2,5	2,5	
	100	2,8	2,8	
<i>Meffrouche</i>	100	5	5	5,2
	100	5,4	5,4	
	100	5,5	5,5	
	100	4,9	4,9	

Par entraînement à la vapeur d'eau :

Tableau 10 : Rendements en huiles essentielles des différentes stations
(Extraction par entraînement à la vapeur d'eau)

Stations	Poids du végétal (g)	Poids d'huile (g)	Rendements (%)	Rendements moyens (%)
<i>Pierre du chat</i>	200	7,8	3,9	3,8
	200	7,6	3,8	
	200	7	3,5	
	200	8	4	
<i>Tégma</i>	200	5	2,5	2,6
	200	5,4	2,7	
	200	5,1	2,55	
	200	5,3	2,65	
<i>Ben-Sakrane</i>	200	7,2	3,6	3,7
	200	7,6	3,8	
	200	7,3	3,65	
	200	7,5	3,75	
<i>Béni-Saf</i>	200	6,8	3,4	3,5
	200	7,2	3,6	
	200	7	3,5	
	200	7	3,5	
<i>Maghnia</i>	200	5	2,5	2,6
	200	5,2	2,6	
	200	5,3	2,65	
	200	5,3	2,65	
<i>Sabra</i>	200	4,6	2,3	2,2
	200	4,4	2,2	
	200	4,1	2,05	
	200	4,5	2,25	
<i>Meffrouche</i>	200	7,8	3,9	3,9
	200	8	4	
	200	7,5	3,75	
	200	7,9	3,95	

Evolution du rendement en huile essentielle au cours du cycle végétatif de la plante :

Par hydrodistillation :

Tableau 11 : Rendements en huile essentielle obtenus au cours du cycle végétatif par la méthode d'hydrodistillation (station de Béni-Saf).

Périodes	Poids du végétal (g)	Poids d'huile essentielle (g)	Rendements (%)	Rendements moyens (%)
1 ^{ère} cueillette	100	2,9	2,9	2,8
11/05/2001	100	2,7	2,7	
2 ^{ème} cueillette	100	3,2	3,2	3,4
18/05/2001	100	3,6	3,6	
3 ^{ème} cueillette	100	4,8	4,8	4,2
25/05/2001	100	3,6	3,6	
4 ^{ème} cueillette	100	5	5	4,6
01/06/2001	100	4,2	4,2	
5 ^{ème} cueillette	100	4,3	4,3	4,1
08/06/2001	100	3,9	3,9	
6 ^{ème} cueillette	100	4	4	3,9
15/06/2001	100	3,8	3,8	
7 ^{ème} cueillette	100	3,8	3,8	3,5
22/06/2001	100	3,2	3,2	

Tableau 12 : Rendements en huile essentielle obtenus au cours du cycle végétatif par la méthode d'hydrodistillation (station de Béni-Saf).

Périodes	Poids du végétal (g)	Poids d'huile essentielle (g)	Rendements (%)	Rendements moyens (%)
1 ^{ère} cueillette	100	3,8	3,8	3,8
17/05/1999	100	3,8	3,8	
2 ^{ème} cueillette	100	5,2	5,2	5,1
27/05/1999	100	5	5	
3 ^{ème} cueillette	100	5,3	5,3	5,1
06/06/1999	100	4,9	4,9	
4 ^{ème} cueillette	100	4,4	4,4	4,5
16/06/1999	100	4,6	4,6	

Par entraînement à la vapeur d'eau :

Tableau 13 : Rendements en huile essentielle obtenus au cours du cycle végétatif par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau (station de Béni-Saf).

Périodes	Poids du végétal (g)	Poids d'huile essentielle (g)	Rendements (%)	Rendements moyens (%)
1^{ère} cueillette	200	2,6	1,3	1,1
11/05/2001	200	1,8	0,9	
2^{ème} cueillette	200	4,8	2,4	1,7
18/05/2001	200	2,2	1,1	
3^{ème} cueillette	200	5	2,5	2,1
25/05/2001	200	3,4	1,7	
4^{ème} cueillette	200	4,8	2,4	2,4
01/06/2001	200	4,8	2,4	
5^{ème} cueillette	200	4,4	2,2	2,05
08/06/2001	200	3,2	1,96	
6^{ème} cueillette	200	4,4	2,2	2
15/06/2001	200	3,6	1,8	
7^{ème} cueillette	200	3	1,5	1,8
22/06/2001	200	4,2	2,1	

Pour chaque période, les rendements obtenus sont résumés dans le tableau 13.

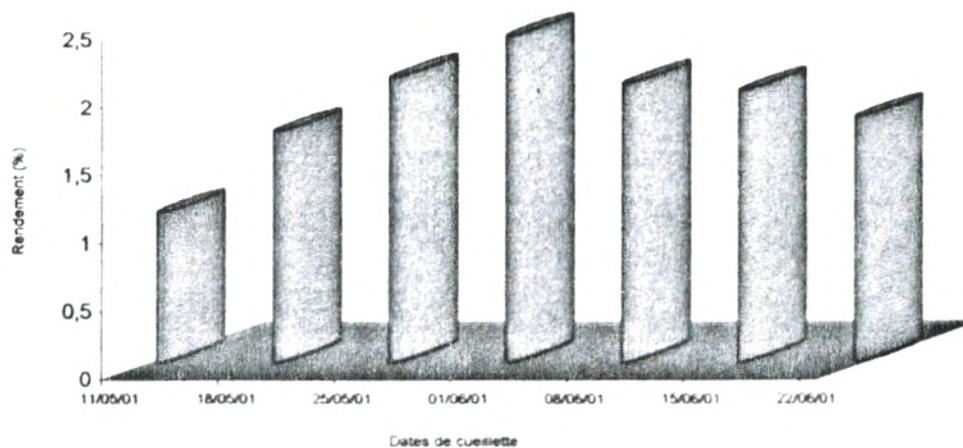
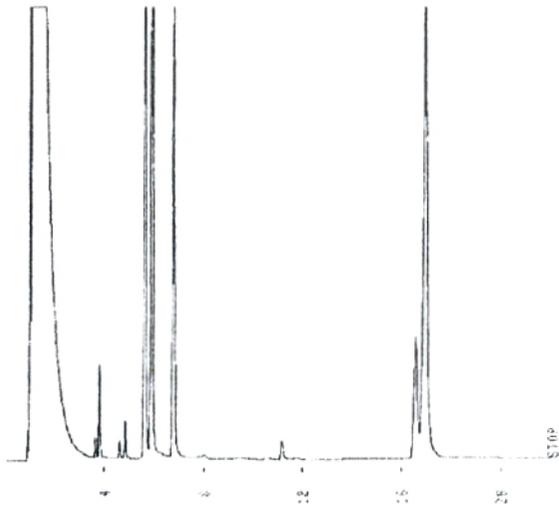
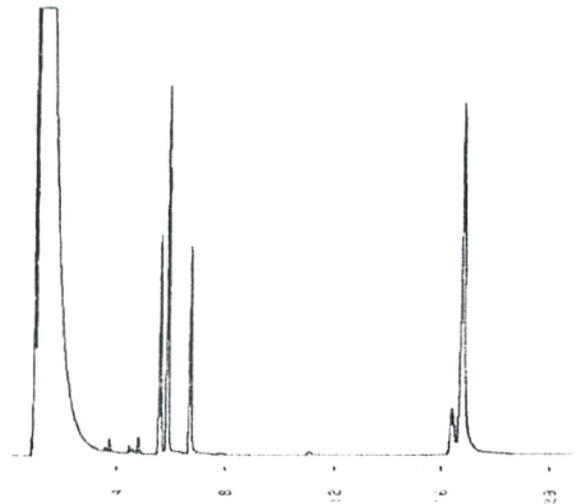


Fig. 10 : Rendements en huile essentielle obtenus par entraînement à la vapeur d'eau (Station de Béni-Saf)

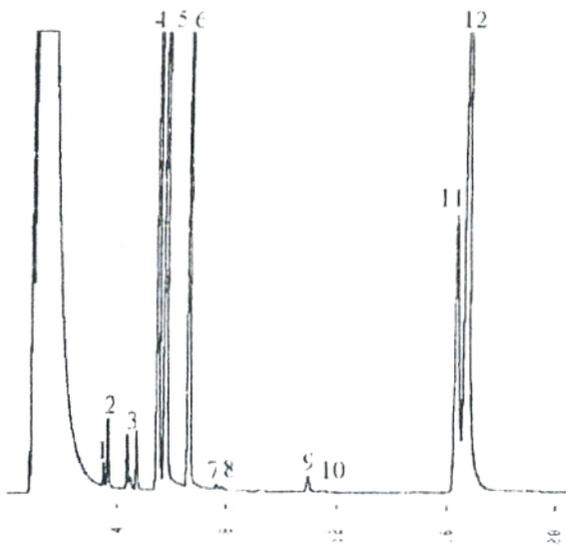
ANNEXE IV :



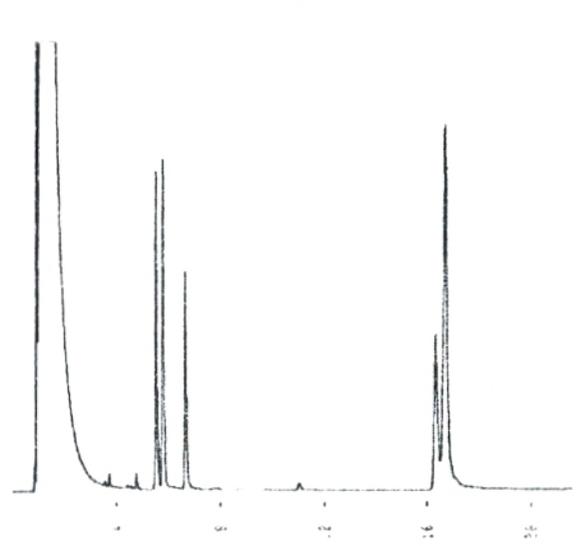
Chromatogramme 7



Chromatogramme 8



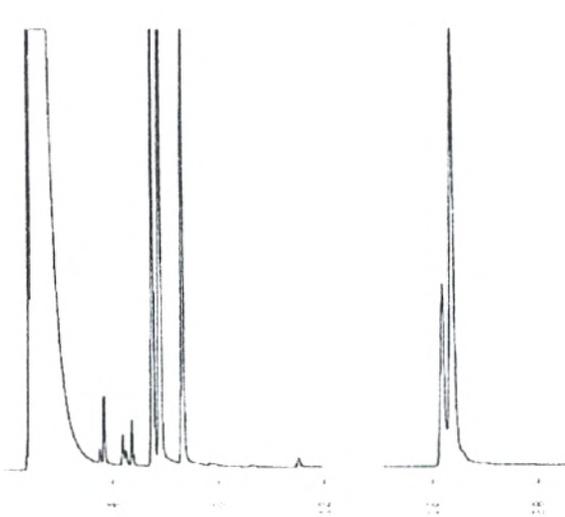
Chromatogramme 9



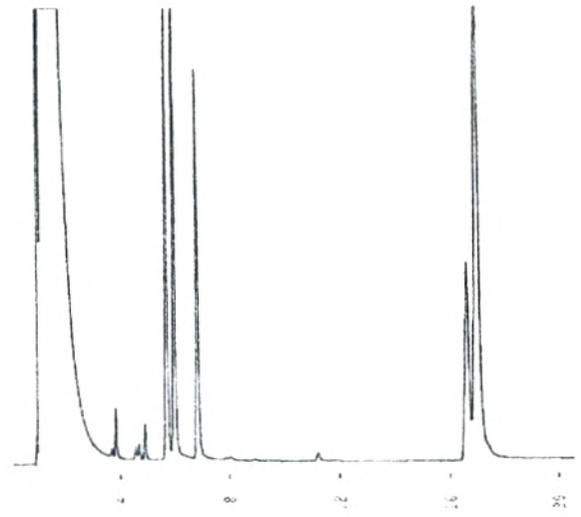
Chromatogramme 10

1 : Camphène
2 : α -pinène
3 : β -pinène
4 : p-cymène
5 : limonène
6 : γ -terpinène

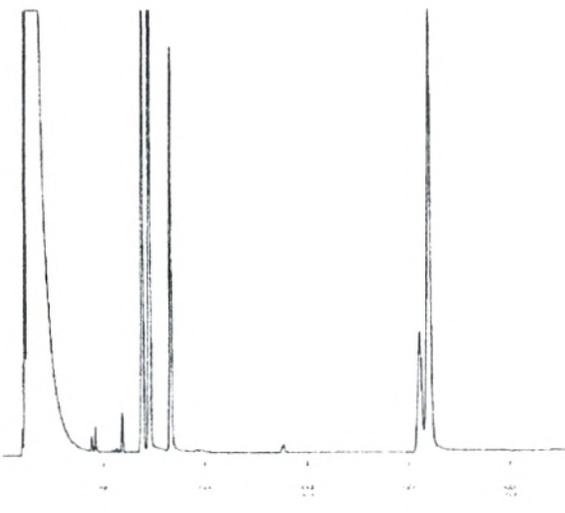
7 : thujone
8 : myrcène
9 : terpinène 4ol
10 : α -terpinéol
11 : β -caryophyllène
12 : thymol



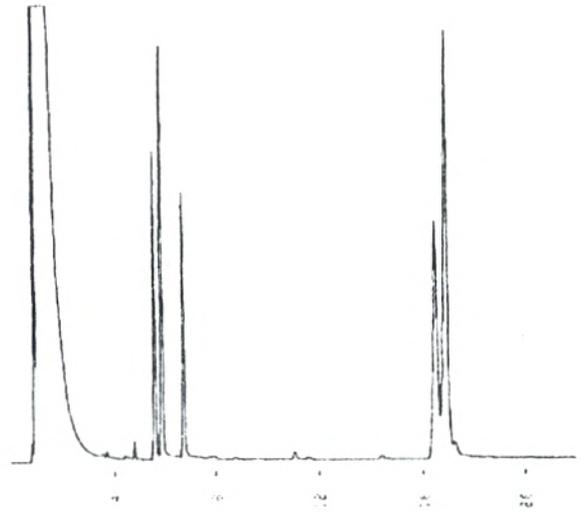
Chromatogramme 11



Chromatogramme 12

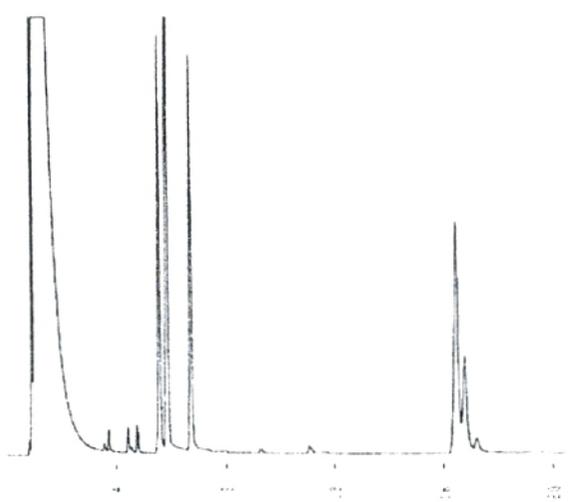


Chromatogramme 13

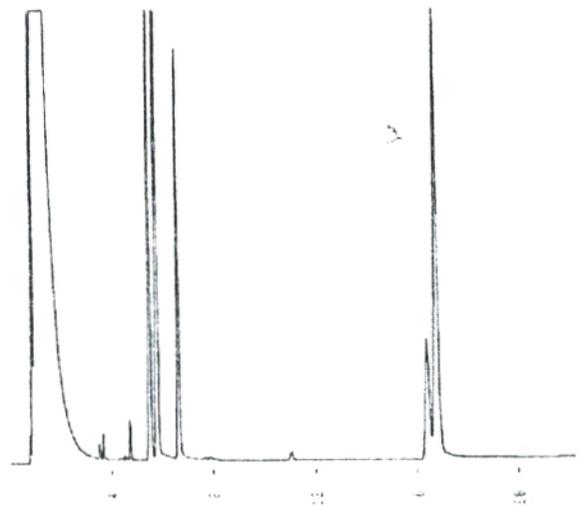


Chromatogramme 14

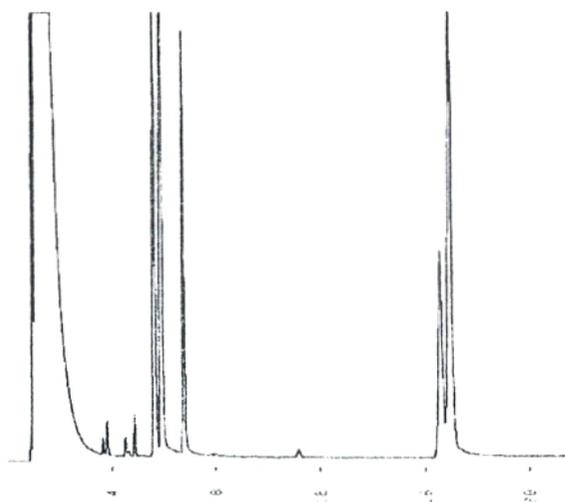
- Chromatogramme 7 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Tégma (Hydrodistillation).
- Chromatogramme 8 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Tégma (Entraînement à la vapeur d'eau).
- Chromatogramme 9 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Ben-Sakrane (Hydrodistillation).
- Chromatogramme 10 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Ben-Sakrane (Entraînement à la vapeur d'eau).
- Chromatogramme 11 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Sabra (Hydrodistillation).
- Chromatogramme 12 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Sabra (Entraînement à la vapeur d'eau).
- Chromatogramme 13 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf (Hydrodistillation).
- Chromatogramme 14 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf (Entraînement à la vapeur d'eau).



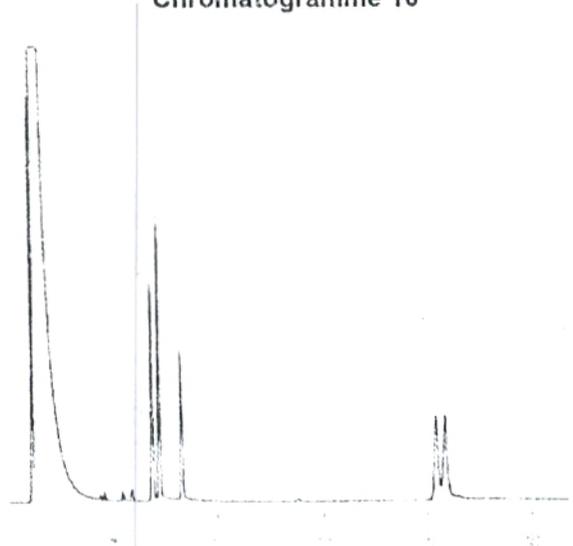
Chromatogramme 15



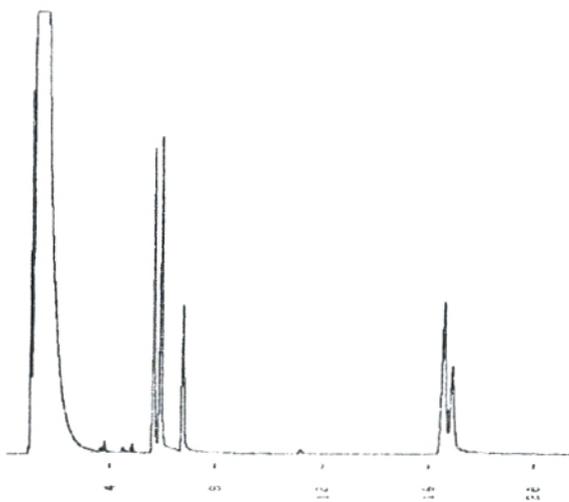
Chromatogramme 16



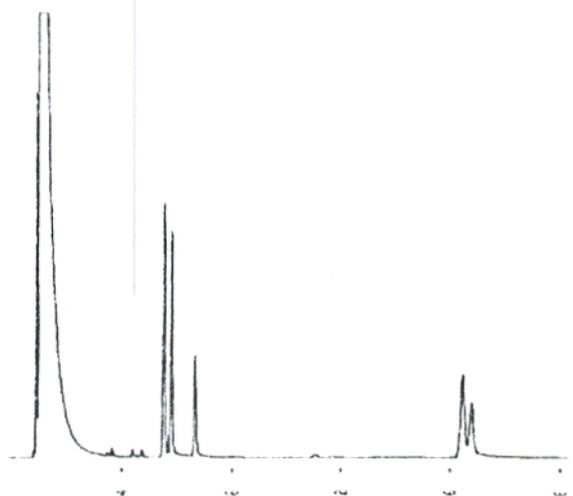
Chromatogramme 17



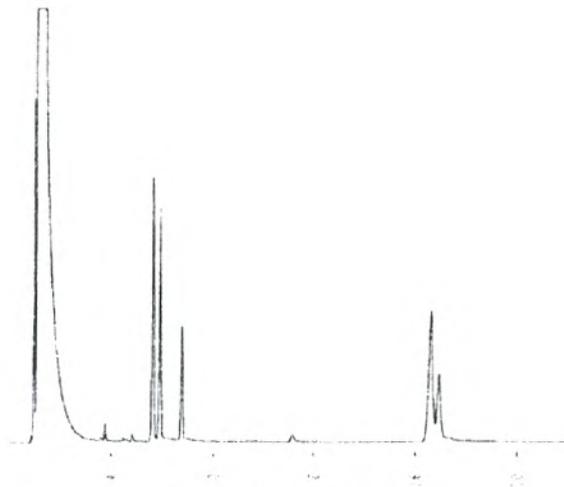
Chromatogramme 18



Chromatogramme 19



Chromatogramme 20



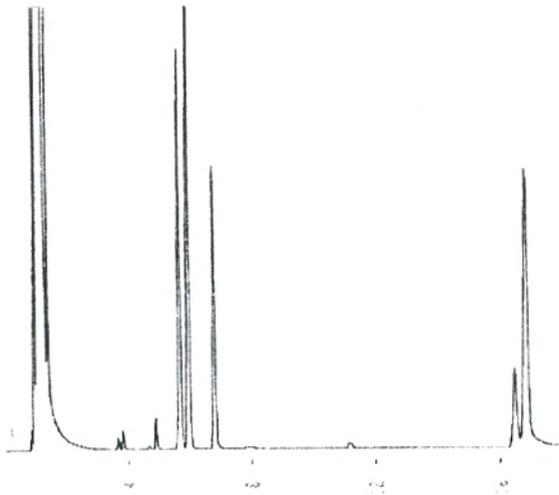
Chromatogramme 21

- Chromatogramme 15 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (1^{ère} cueillette : 11/05/2001).
- Chromatogramme 16 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (2^{ème} cueillette : 18/05/2001).
- Chromatogramme 17 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (3^{ème} cueillette : 25/05/2001).
- Chromatogramme 18 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (4^{ème} cueillette : 01/06/2001).
- Chromatogramme 19 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (5^{ème} cueillette : 08/06/2001).
- Chromatogramme 20 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (6^{ème} cueillette : 15/06/2001).
- Chromatogramme 21 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (7^{ème} cueillette : 22/06/2001).

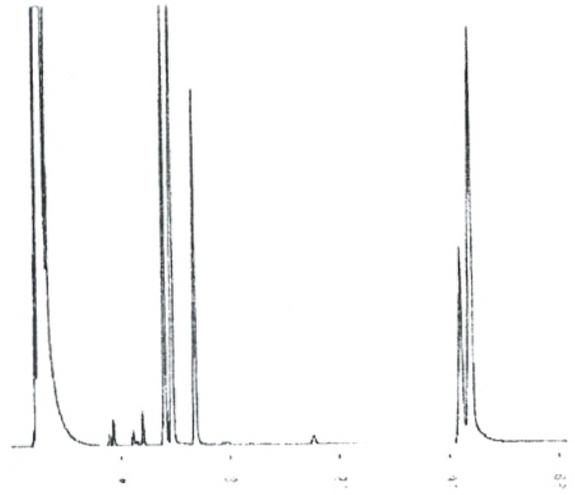
Tableau 22 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (hydrodistillation)

- Année 1999 -

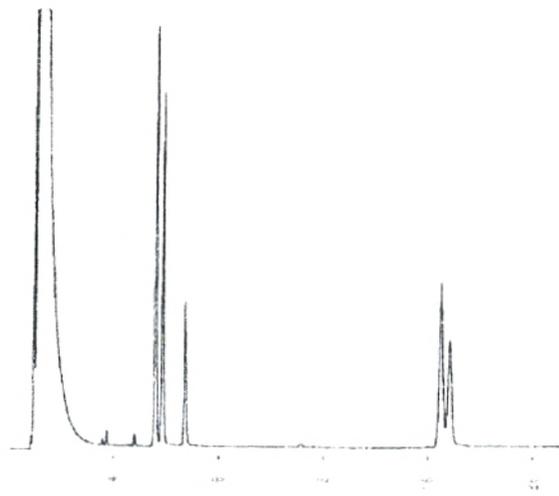
	Temps de rétention (mn)	Teneurs en constituants en (%)			
		1 ^{ère} cueillette	2 ^{ème} cueillette	3 ^{ème} cueillette	4 ^{ème} cueillette
Camphène	3,6-3,63	0,39	0,32	0,36	0,37
α -pinène	3,75-3,78	0,08	0,65	0,81	0,89
Non identifié	4,45	-	0,44	-	-
β -pinène	4,59-4,61	0,18	0,15	0,16	0,15
Non identifié	4,82-4,84	1,28	1,03	0,87	0,76
<i>p</i> -cymène	5,61-5,64	18,97	19,91	28,28	28,69
Limonène	5,89-5,91	30,15	23,83	24,13	24,03
γ -terpinène	6,74-6,77	14,97	13,13	11,01	10,36
Myrcène	7,92-7,94	0,16	0,14	-	-
Terpinène 4ol	11,11-11,15	0,41	0,44	0,50	0,62
β -caryophyllène	16,44-16,53	6,89	11,97	19,20	19,95
Thymol	16,82-16,87	25,87	27,94	14,52	14,13



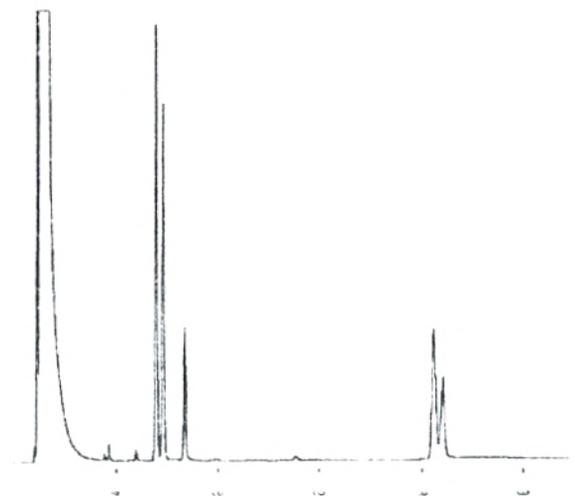
Chromatogramme 22



Chromatogramme 23



Chromatogramme 24



Chromatogramme 25

- Chromatogramme 22 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (1ère cueillette : 17/05/1999).
- Chromatogramme 23 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (2ème cueillette : 27/05/1999).
- Chromatogramme 24 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (3ème cueillette : 06/06/1999).
- Chromatogramme 25 : Chromatogramme enregistré par CPG de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de la station de Béni-Saf au cours de son cycle végétatif (4ème cueillette : 16/06/1999).

ANNEXE V :

Tableau 28 : Antibiogramme : souches (à Gram négatif) résistantes, intermédiaires et sensibles

ATB	AM	SXT	CF	AMX	PEF	TM	TE	NA	PIP	CB	AN
<i>Souches</i>											
<i>P₁</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>P₂</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>P₃</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S
<i>E₁</i>	R	I	R	R	I	S	I	I	R	S	S
<i>E₂</i>	R	S	R	R	I	S	S	I	I	S	I
<i>E₃</i>	R	R	R	R	S	I	R	I	R	R	I
<i>E₄</i>	R	S	R	R	S	R	R	I	R	S	R
<i>E₆</i>	R	S	I	R	S	S	I	I	R	R	S
<i>KL</i>	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>SL</i>	I	R	I	R	R	I	S	I	R	S	I
<i>Ci</i>	R	S	R	R	S	S	I	I	R	S	S

R : Résistant.

S : Sensible.

I : Intermédiaire.

Tableau 29 : Antibiogramme : Souches (à Gram positif) résistantes, intermédiaires et sensibles

ATB	AM	SXT	CF	AMX	PEF	RA	S	VA	CZ	CC	E	C	GM
<i>Souches</i>													
<i>St₁</i>	S	S	S	S	R	S	I	S	S	S	I	S	S
<i>St₂</i>	S	S	S	S	R	R	I	S	S	S	I	S	S
<i>L₁</i>	S	R	R	S	R	I	R	R	R	R	I	R	R
<i>L₂</i>	S	R	R	S	R	I	R	R	R	R	I	R	R

R : Résistant.

S : Sensible.

I : Intermédiaire.

Tableau 30 : Antifongigramme : diamètre (en mm) des zones d'inhibition des différentes souches

ATF	AB	EC	MCZ	CTR	FC
<i>Souches</i>					
<i>C₂</i>	11	20	20,33	11	-
<i>C₃</i>	12,33	32	34	36	-
<i>A</i>	8	20,5	14	24	-

- : Absence de zone d'inhibition.

Tableau 36 : Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* selon la méthode de contact direct

	Pierre du Chat	Tégma	Ben-Sakrane	Sabra	Meffrouche	Maghnia	Béni-Saf	Moyennes générales
P_2	22 21 23 26	22 22,7 24	22 20 22 24	22 20 29,7 20	20 18 40,2 20	20 19 18 19	20 18 18,7 18	20,75
P_3	24 23 23,3 23	22 22,7 24	24 20 21 19	18 22 20 20	19 20 19,7 20	20 20 19,3 18	20 20 19,3 18	20,75
P_1	26 22 24 24	26 24 23,3 20	22 24 22 20	20 24 22 22	22 20 21,3 22	24 20 20,7 18	20 22 20 18	21,9
KL	26 24 25,3 26	24 24 24,3 25	20 26 22,7 22	24 22 22 20	22 20 22 24	20 24 21,3 20	22 20 20,7 20	22,7
E_5	24 26 26 28	24 28 25,7 25	22 24 24 26	22 26 24 24	24 24 23,3 22	22 24 22,7 22	24 22 22,7 22	24,1
E_3	26 28 26,3 25	24 26 26 28	22 28 25,3 26	26 24 25,3 26	24 24 24,6 26	22 26 24 24	22 26 24 24	25,1
Cl	28 26 27,3 28	26 26 26,7 28	26 26 26,7 28	26 24 26 28	26 26 25,3 24	26 24 24,7 24	24 24 24,3 25	25,9
L_1	28 30 28,3 27	28 26 28 30	26 30 26,7 24	26 28 26 24	28 24 26 26	24 24 26 28	27 23 25,3 26	26,7
L_2	26 32 30,3 33	32 28 29,3 28	27 30 28,3 28	26 28 27,3 28	28 28 27,3 26	28 26 27,3 28	26 24 26 28	28
E_4	32 30 30 28	28 28 29,3 32	28 30 28,7 28	26 30 28 28	28 28 28 28	26 26 26,7 28	26 26 26,7 28	28,2
St_1	32 30 30,7 30	30 30 30,7 32	28 32 30 30	32 28 29,3 28	28 32 29,3 28	28 30 28,7 28	30 28 28,7 28	29,7
St_2	30 34 31,3 30	32 32 33,3 36	30 30 31,3 34	29 32 30,7 31	34 30 30,7 28	28 30 29,3 30	28 28 28,7 30	30,75
E_2	34 32 32 30	32 34 34 36	32 34 33,7 35	30 34 31,3 30	30 30 31,3 34	31 28 30,3 32	28 32 30 30	31,8
E_1	34 38 34,7 32	38 38 36,7 34	34 38 34,7 32	34 36 34 32	32 36 33,3 32	28 30 30 32	32 32 31,3 30	33,5
SL	40 36 38 38	40 36 38 38	38 36 36,7 36	32 36 34,7 36	34 36 34 32	34 30 33,3 36	30 36 32,7 32	35,3
A	40 42 40 38	38 38 39,3 42	38 38 38,7 40	34 38 36 36	32 36 35,3 38	34 34 34,7 36	36 34 34,7 34	36,9
C_3	42 42 41,3 40	38 40 39,3 40	40 40 39,3 38	38 38 38,7 40	38 40 38,7 38	40 36 37,3 36	36 38 36 34	38,7
C_2	44 38 41,3 42	44 42 41,3 38	42 40 40 38	42 38 40 40	38 38 39,3 42	40 40 39,3 38	38 40 38 36	39,9