

N°d'ordre : 3919

THÈSE

en vue de l'obtention du : DOCTORAT

Centre de Recherche : CERNE2D
Structure de Recherche : LS3MN2E
Discipline : Chimie
Spécialité : Chimie Organique et analytique

Présentée et Soutenue le : 15 / 05 / 2024

par :

Abdellah EL MAKAOUI

Etude de la Composition Chimique et des Propriétés Biologiques des Huiles
Essentielles de *Lavandula multifida* et *Pistachier Atlantique* de la Région de
Zaïre (Rommani)

Devant le JURY :

Mohamed TABYAOUI	PES, Faculté des sciences, Université Mohammed V- Rabat	Président
Najoua LABJAR	PH, ENSAM, Université Mohammed V- Rabat	Rapporteur/examineur
Hamid NASRELLAH	PH, ESEF, Université Chouaib Doukkali- El Jadida	Rapporteur/examineur
Meriem BAMAAROUF	PES, EST-Salé, Université Mohammed V- Rabat	Rapporteur/examineur
Ilham BOURAIS	PH, Faculté des sciences, Université Mohammed V- Rabat	Examineur
Houda DAMOUR	PA, CNRST, Rabat	Co-Directrice de thèse
Souad ELHAJJAJI	PES, Faculté des sciences, Université Mohammed V- Rabat	Directrice de thèse

Année Universitaire : 2023 – 24

Dédicace

Je dédie ce travail à :

A Mes parents **Abdeslam et Fatna** qui sacrifiaient pour moi et m'aide
depuis j'étais enfant

A ma chère épouse **Naima** qui me donne toujours du courage

A Mes enfants **Ismail, Bilal, Hafsa, Mohammed et Najoua**
Avec mes vœux de pleine réussite dans leur vie

A Mes chers frères qui je souhaite tout le bonheur du monde

A Mes chères sœurs pour leur soutien illimité

A Tout ma famille

Ainsi qu'à tous mes amis(es) du laboratoire de recherche

A tous ceux qui me sont chers

Abdellah

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier, Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui j'ai donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Les travaux de recherches de cette thèse ont été réalisés au Laboratoire de Spectroscopie, Modélisation Moléculaire, Matériaux, Nanomatériaux, Eau et Environnement (LS3MN2E - CERNE2D) au département de Chimie de la Faculté des Sciences de Rabat, sous la direction au Madame **Souad El HAJJAJI** Professeur de l'enseignement supérieur, à qui je tiens à exprimer ma sincère gratitude pour l'honneur qu'elle m'a fait en m'acceptant parmi ses chercheurs.

Mes sincères remerciements s'adressent à Madame **Souad El HAJJAJI** Professeur à la faculté des sciences de l'université Mohammed V de Rabat et directrice de thèse, pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail tout au long de ces années de recherches. Son expérience, sa patience et sa disponibilité m'ont été bénéfiques. Ses précieux conseils et sa gentillesse à mon égard ont contribué au bon déroulement de ce travail de recherche. Qu'elle trouve ici toute mon affection et mes remerciements pour sa présence permanente.

Je tiens à exprimer mon respect et mes sincères remerciements au Professeur **Houda DAMOUR** du Centre National de la Recherche Scientifique et Technique de Rabat, Maroc, mon Co-encadrant, dont les encouragements constants, les conseils et la gentillesse tout au long de la période de recherche m'ont donné de l'espoir et m'ont permis de mener à bien ce travail. Vos qualités scientifiques et humanitaires augmentent ma reconnaissance et mon respect.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur **Mohamed TABYAOUI** Professeur à la faculté des sciences de l'université Mohammed V de Rabat pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse. C'est un honneur pour moi de vous compter parmi mon jury, veuillez croire en mes sentiments respectueux.

Ma reconnaissance est adressée au Madame **Najoua LABJAR** Professeur à l'École Nationale Supérieure d'Arts et Métiers de Rabat d'avoir accepté de juger ce travail en tant que rapportrice. Je suis honoré de sa présence parmi les membres de jury de cette thèse.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur **Hamid NASRELLAH** Professeur à l'École Supérieure d'Éducation et de Formation d'El Jadida d'avoir accepté de faire partie du jury de

thèse en tant que rapporteur, merci pour les encouragements, les conseils et l'attention que vous portée à mon égard.

Ma reconnaissance est adressée au Madame **Meriem BAMAAROUF** Professeur à l'Ecole Supérieure de Technologie de Salé (ESTS) d'avoir accepté de juger ce travail en tant que rapportrice.

J'adresse aussi mes vifs remerciements au Madame **Ilham BOURAIS** de la Faculté des Sciences de Rabat, pour son aide précieuse durant tous les travaux de cette thèse et dans la finalisation des publications, je profite de cette occasion pour saluer ses précieuses qualités scientifiques et humaines. Je suis honoré de la compter parmi les membres du jury de cette thèse en tant qu'examinatrice.

Mes remerciements vont également à mes collègues de laboratoire et à mes amies chercheuses **Abdelali ELFAKIR, Malika SABIHA,** et **Asmae OUBIHI** pour leur soutien illimité et leurs aides précieuses.

PUBLICATIONS

- ❖ **Elmakaoui, A., Bourais, I., Oubihi, A., Nassif, A., Bezinar, T., Shariati, M.A., Blinov, A.V., Hleba, L., Hajjaji, S.E., 2022.** Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Lavandula Multifida*. J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci. 11, e7559. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.7559>.
- ❖ **Abdellah Elmakaoui, Houda Damour, Ilham Bourais, Bouabid Badaoui, Hamada Imtara, Karima El kabous, Asmaa Oubihi, Omar M. Noman, Mahmoud Tarayrah and Souad El hajjaji 2024 ACG Publications.** Chemical Composition, Antioxidant Potential and Antibacterial Activity of *Pistacia atlantica* Desf. Essential Oil Leaves, with A Focus on Variations in The Main Trunk Diameter. <http://doi.org/10.25135/rnp.447.2311.2984>.

COMMUNICATIONS

- ❖ **Abdellah Elmakaoui, Ilham Bourais, Souad ELHajjaji (2023).** Activités biologiques et antioxydantes de l'huile essentielle de feuilles de *Pistachier atlantique*. Journées doctorales du centre d'études doctorales en sciences et technologie, Mai 2023 – FSR.
- ❖ **Abdellah Elmakaoui, Souad ELHajjaji (2022).** Criblage phytochimique des extraits éthanoliques de feuilles de *Pistachier atlantique*. Journées doctorales du centre d'études doctorales en sciences et technologie, Juillet 2022 – FSR.
- ❖ **Abdellah Elmakaoui, Souad ELHajjaji (2022).** Compositions chimiques, Activités biologiques de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* la 1^{ère} édition des journées doctorales pluridisciplinaires, Janvier 2022 – FSK.
- ❖ **Abdellah Elmakaoui, Ihssane Quassor, Younes Aquil, Walid Belmaghraoui, Souad ELHajjaji (2019).** Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés, et de l'activité antioxydante d'extraits de *Lavandula multifida* (2019). 6^{ème} colloque international environnement et développement durable, Octobre 2019 – FSR.

Liste des abréviations

A_{blanc} : Absorbance du blanc

A_{échantillon} : Absorbance de la solution à tester

AFNOR : Association française de normalisation

CFU : Unités formant colonie

CI50 : Concentration inhibitrice de 50% de DPPH

CID : Processus d'extraction par détente instantanée contrôlée

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CPG-SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse

d : densité

DIC : Extraction contrôlée par détente instantanée

DMSO : diméthylsulfoxyde

DPPH : 1,1- Diphényl-2-Picrylhydrazyle.

EAG : Equivalent d'acide gallique

EAU : Extraction assisté par ultrason

EC : Equivalent catéchine

EMSF : Extraction assistée par micro-ondes sans solvant

EQ : Equivalent quercitrine

ES : Extraction par solvant

Et OH : Ethanol

EV : Entrainement à la vapeur

Ex-OH : Extrait éthanolique

FRAP : Paramètre antioxydant réducteur d'ions ferrique

HD : Hydrodistillation

HE : Huile essentielle.

I% : Pourcentage d'inhibition du DPPH

IA : Indice d'acidité

IK : Index de Kovats

INRA : Institut national de la recherche agronomique

IP : Indice de peroxyde

MDG : Méthode de diffusion sur gélose

MH : Monoterpènes hydrocarbure
MO : Monoterpènes oxygénés
O : Alcools monoterpéniques
OMS : Organisation mondiale de la santé
PAM : Plantes aromatiques et médicinales
S-CO₂ : CO₂ super critique
SH : Sesquiterpènes Hydrocarbures
SO : Sesquiterpènes oxygénés
SU : Sonde ultrasonique
T : Température
TFC : Teneur totale en flavonoïdes
THD : Turbo hydrodistillation
TPC : Teneur totale en composés phénoliques
TPTZ-Fe²⁺ : Tripyridyltriazine ferreux
Tr : Temps de rétention
TTC : Teneur totale en tanins
U.V : Ultra-Violet
 μ_{corps} : masse volumique du liquide
 μ_{eau} : masse volumique de l'eau

Liste des figures

Figure 1 : Type des métabolismes.....	7
Figure 2 : Partie aérienne de <i>Lavandula multifida</i>	13
Figure 3 : Distribution géographique de la famille des Anacardiacees.....	16
Figure 4 : Feuillage du Pistachier atlantique.....	21
Figure 5 : Fleurs de Pistachier atlantique.....	22
Figure 6 : Fruits de Pistachier atlantique.....	23
Figure 7 : Distribution géographique de Pistachier atlantique dans le monde.....	26
Figure 8 : Répartition du Pistachier atlantique au Maroc.....	26
Figure 9 : Procédés conventionnelles d'extraction.....	30
Figure 10 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.....	31
Figure 11 : Montage de l'hydro-diffusion.....	32
Figure 12 : Montage de l'hydrodistillation.....	33
Figure 13 : Technique d'extraction récents des produits bioactifs.....	35
Figure 14 : Technique de la turbo hydrodistillation.....	36
Figure 15 : Méthode d'extraction du CO ₂ supercritique.....	37
Figure 16 : Montage de l'hydrodistillation assistée par micro-ondes.....	40
Figure 17 : Montage d'extraction par micro-ondes.....	41
Figure 18 : Hydro-diffusion par micro-ondes.....	42
Figure 19 : Extraction assistée par micro-ondes sans solvant.....	43
Figure 20 : Mécanisme de formation des terpènes	49
Figure 21 : Quelques monoterpènes cycliques et acycliques présent dans les huiles... ..	50
Figure 22 : Quelques sesquiterpènes présent dans les huiles essentielles.....	51
Figure 23 : Quelques Phénylpropanoïdes rencontrés dans les huiles essentiels.....	52
Figure 24 : Localisation de la commune de Rommani dans la province de Khemisset.....	65
Figure 25 : Partie airienne de <i>Lavandula multifida</i> et feuilles de Pistachier atlantique sèches.....	68
Figure 26 : (a) avant et (b) après un certain volume de KOH.....	75

Figure 27 : Principaux familles des molécules de la partie aérienne de <i>Lavandula multifida</i>	94
Figure 28 : Structures chimiques des composés majoritaires dans la partie aérienne de <i>Lavandula multifida</i>	95
Figure 29 : % d'inhibition du DPPH par concentration de l'huile essentielle du <i>Lavandula multifida</i>	99
Figure 30 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	102
Figure 31 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	103
Figure 32 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.....	104
Figure 33 : Antibiogramme des extraits hydroalcooliques.....	107
Figure 34 : Activité antioxydante du <i>Lavandula multifida</i>	108
Figure 35 : Valeurs des IC ₅₀ de test DPPH des extraits et de l'acide ascorbique.....	108
Figure 36 : Valeurs des IC ₅₀ de test FRAP des extraits et de l'acide ascorbique.....	109
Figure 37 : Structures chimiques des principaux composés des huiles essentielles.....	116
Figure 38 : Réduction de DPPH°.....	120
Figure 39 : Corrélation entre les paramètres expérimentaux des huiles essentielles.....	124
Figure 40 : Corrélation entre les différentes variables.....	125
Figure 41 : Cos ² des variables à dimension $\Phi 1$ et $\Phi 2$	126
Figure 42 : Variables – ACP.....	126
Figure 43 : Taux de rendement des deux extraits du Pistachier atlantique.....	127

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification du <i>Lavandula multifida</i>	13
Tableau 2 : Famille Anacardiaceae dans son ensemble.....	15
Tableau 3 : Classification du Pistachier atlantique.....	24
Tableau 4 : Fiche produit.....	24
Tableau 5 : Utilisations thérapeutiques dans le monde.....	28
Tableau 6 : Comparatif des techniques d'extraction avec et sans micro-ondes.....	44
Tableau 7 : Avantages et les inconvénients des différentes techniques d'extraction de pointe et traditionnelles.....	45
Tableau 8 : Données de la littérature sur certaines HE utilisant HD et SFME.....	46
Tableau 9 : Températures moyennes pour la période 2000-2020 (L'INRA)	66
Tableau 10 : Précipitations pour la période 2000-2020 (INRA)	67
Tableau 11 : Situation géographique du site choisi	67
Tableau 12 : Conditions d'injections	76
Tableau 13 : Conditions de séparation.....	76
Tableau 14 : Souches bactériennes testées.....	81
Tableau 15 : Taux d'extraction	87
Tableau 16 : Rendements des huiles essentielles de <i>Lavandula multifida</i> marocaine.....	88
Tableau 17 : Quelques rendements d'extraction de <i>Lavandula multifida</i> du nord de l'Afrique.....	89
Tableau 18 : Principaux composés de l'huile essentielle de <i>L. multifida</i>	92
Tableau 19 : Composition chimique de la partie aérienne de <i>Lavandula multifida</i>	93
Tableau 20 : Activité antibactérienne par la méthode de diffusion en gélose de l'huile essentielle de <i>Lavandula multifida</i>	96
Tableau 21 : Concentration minimale inhibitrice et bactéricide de l'huile essentielle de <i>Lavandula multifida</i>	97
Tableau 22 : Activité antioxydante de l'huile essentielle par rapport aux standards.....	98
Tableau 23 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de <i>Lavandula multifida</i>	98
Tableau 24 : Comparaison (CMI) et (CMB) des huiles de deux huiles essentielles de lavandes (<i>L. dentata</i> et <i>L. steochas</i>) et l'huile étudiée de <i>L. multifida</i>	99

Tableau 25 : Taux d'extraction.....	100
Tableau 26 : Criblage phytochimique des extraits hydroalcooliques.....	101
Tableau 27 : Composés phénoliques dans la partie aérienne de <i>Lavandula multifida</i>	103
Tableau 28 : Teneur en flavonoïdes dans la partie aérienne de <i>Lavandula multifida</i>	104
Tableau 29 : Contenu en tanins totaux dans la partie aérienne de <i>Lavandula multifida</i>	105
Tableau 30 : Rendement en huile essentielle de feuilles de Pistachier atlantique.....	110
Tableau 31 : Quelques rendements d'extraction de Pistachier atlantique	111
Tableau 32 : Caractéristiques organoleptiques des H. Es de Pistachier atlantique.....	112
Tableau 33 : Propriétés physiques et chimiques moyennes des H.E pour les feuilles de Pistachier atlantique.....	112
Tableau 34 : Composition chimique des feuilles d'huile essentielle	113
Tableau 35 : Sous-classes de Terpènes de l'huile essentielle de Pistachier de l'atlas.....	117
Tableau 36 : Comparaison de diamètre des zones d'inhibition	118
Tableau 37 : Comparaison de CMI et CMB.....	119
Tableau 38 : Activité antioxydante de l'huile essentielle selon le protocole DPPH.....	120
Tableau 39 : Activité antioxydante de l'huile essentielle selon le protocole FRAP.....	121
Tableau 40 : Comparaison des valeurs des tests DPPH et FRAP	122
Tableau 41 : Activité antioxydante de quelques antioxydants synthétiques	122
Tableau 42 : Coefficient de la matrice de corrélation de Pearson et valeurs p entre les indices de qualité (<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> Résistant à la méticilline, <i>K. Pneumoniae</i> , <i>A. baumannii</i>), DPPH et FRAP des cinq huiles étudiées.....	123
Tableau 43 : Criblage phytochimique des extraits eau- éthanol.....	128
Tableau 44 : Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes, des tanins condensés.....	129
Tableau 45 : Activité antibactérienne des extrait éthanoliques.....	130

Sommaire

Dédicace	i
Remerciements	ii
Publications et Communications	iv
Liste des abréviations.....	v
Liste des figures.....	vii
Liste des tableaux.....	ix
Sommaire.....	xi
Introduction générale.....	1

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction.....	4
I. Plantes aromatiques et médicinales	4
I.1. Richesse de la végétation marocaine.....	4
I.1.1. Importance des plantes médicinales et aromatiques.....	5
I.1.2. Classification.....	6
a. En fonction de la substance active.....	6
b. En fonction de de traitement.....	6
c. En fonction des échanges commerciaux.....	6
I.2. Métabolites secondaires.....	7
I.3. Famille des lamiacées.....	8
I.3.1. Généralités sur les lamiacées.....	8
1.3.2. Description botanique des lamiacées.....	8
a. Appareil végétatif	9
b. Appareil de reproduction.....	9
I.4. Etude botanique de lavande.....	9
I.4.1. Répartition géographique.....	10
I.4.2. Composants chimique.....	11
I.4.3. Principes types de lavande.....	11
I.4.4. Propriétés thérapeutiques.....	12
I.4.5. Généralité sur Lavandula multifida.....	12
I.5. Famille des Anacardiacees.....	14

I.5.1. Etymologie.....	14
I.5.2. Classification systématique, description botanique et distribution.....	15
a. Description botanique.....	15
b. Distribution.....	16
c. Applications médicales et effets pharmacologiques et biologiques.....	17
I.5.3. Genre Pistachier	17
a. Applications médicinales, effets biologiques et pharmacologiques.....	18
b. Etudes phytochimiques et l'isolement des métabolites secondaires principaux.....	19
I.5.4. Pistachier atlantique.....	19
a. Généralités sur le Pistachier atlantique	19
b. Description morphologique	20
c. Classification du Pistachier atlantique.....	24
I.5.5. Caractères écologique et aire de répartition.....	24
a. Caractères écologiques	24
b. Répartition	25
I.5.6. Importance socio-économique et utilisations.....	27
a. Valeur économique.....	27
b. Importance en médecine traditionnelle.....	27
II. Méthodes d'extraction.....	29
II.1. Techniques d'extractions conventionnelles.....	29
a. Extraction par l'eau gazeuse.....	30
b. Hydro-diffusion	31
c. Hydrodistillation	32
d. Extraction par les solvants organiques.....	33
e. Expression par voie froide.....	34
f. Enfleurage.....	34
II.2. Nouvelles méthodes d'extraction.....	34
II.2.1. Distillation hydro-turbo	36
II.2.2. Extraction effectuée à l'aide d'un fluide supercritique.....	37
II.2.3. Extraction contrôlée par détente instantanée	38
II.2.4. Extraction à l'aide d'ultrasons	38
II.2.5. Extraction à l'aide de micro-ondes.....	39
a. Hydrodistillation avec support micro-ondes.....	40

b. Extraction par solvant avec micro-ondes.....	41
c. Hydro-diffusion à l'aide de la gravité et des micro-ondes.....	42
d. Extraction assistée par micro-ondes sans solvant	43
II.3. Comparaison entre les extractions par micro-ondes et les extractions traditionnelles.....	44
II.4. Composition chimiques et rôles des huiles	48
II.4.1. Terpènes.....	49
II.4.2. Composés aromatiques	51
II.4.3. Composants de diverses origines.....	52
II.5. Facteurs affectant la composition de ses huiles essentielles.....	53
II.6. Rôle des huiles essentielles chez les plantes.....	54
II.7. Propriétés des huiles essentielles.....	54
II.8. Principaux domaines d'applications des huiles essentielles.....	55
Conclusion.....	56
Références bibliographiques	57

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

Introduction.....	65
I. Matériels végétales, Phytochimique et extraction	65
I.1. Présentation de la zone de collecte des plantes.....	65
I.1.1. Données climatiques.....	66
I.1.2. Collecte des matériels végétaux	67
I.1.3. Protocole d'extraction.....	68
a. Extraction assistée par ultrasons	69
b. Extraction assistée par Sonde ultrasonique	69
c. Extraction des huiles essentielles	70
I.2. Analyse qualitative et quantitative	70
I.2.1. Extraits	70
a. Criblage phytochimique.....	70
b. Dosage des composés majeur.....	72
I.2.2. Huiles essentielles.....	73
a. Propriétés physico-chimiques.....	73
II. Compositions chimiques et effets biologiques	75
II.1. Composantes chimiques des huiles essentielles.....	75
II.1.1. Lavandula multifida	75

II.1.2. Pistachier atlantique.....	76
II.2. Activités biologiques et pharmacologiques	77
II.2.1. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	77
a. Pouvoir antioxydant par le test DPPH.....	77
b. Pouvoir antioxydant par le test FRAP	78
II.2.2. Activité antibactérienne	78
a. Présentation des bactéries.....	79
b. Détermination des activités antibactériennes par diffusion en gélose.....	82
c. Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides	82
d. Évaluation de l'activité microbiologique.....	83
Conclusion	84
Références bibliographiques.....	85

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSION

Introduction.....	87
I. Étude des pouvoirs antioxydant et antimicrobien de <i>Lavandula multifida</i>	87
I.1. Huile essentielle de la partie aérienne de <i>Lavandula multifida</i>	87
I.1.1. Taux d'extraction.....	87
I.1.2. Composition physico-chimique de l'huile essentielle	90
a. Indice d'acidité.....	90
b. Indice de réfraction.....	91
c. Densité.....	91
I.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle.....	91
I.1.4. Activité antibactérienne de l'huile de <i>Lavandula multifida</i>	95
I.1.5. Activité antioxydante de l'huile de <i>Lavandula multifida</i>	97
I.2. Extraits hydroalcooliques de la partie aérienne de <i>Lavandula multifida</i>	100
I.2.1. Rendement d'extraction.....	100
I.2.2. Screening phytochimique.....	101
I.2.3. Dosage des composés majeurs	102
a. Dosage des polyphénols totaux.....	102
b. Dosage des flavonoïdes totaux	103
c. Teneur en tanins condensés.....	104
I.2.4. Étude de l'activité antimicrobienne des extraits.....	105
I.2.5. Étude de l'activité antioxydante.....	107

a. Test du piégeage du radical libre DPPH.....	107
b. Réduction de fer (FRAP)	109
II. Étude biologique de pistachier atlantique.....	110
II.1. Huile essentielle de feuilles de Pistachier atlantique.....	110
II.1.1. Taux d'extraction.....	110
II.2. Caractérisation des huiles essentielles.....	112
II.2.1. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles	112
II.2.2. Analyses physiques des huiles essentielles.....	112
II.3. Etude biologique des huiles essentielles des feuilles de Pistachier atlantique.....	113
II.3.1. Composition chimique	113
II.3.2. Activité antibactérienne.....	117
II.3.3. Activité antioxydante.....	120
a. Activité anti-radicalaire grâce aux tests DPPH.....	120
b. Activité anti-radicalaire grâce aux tests FRAP.....	121
II.4. Matrice des corrélations.....	122
II.4.1. Analyse des composants principaux.....	124
II.5. Préparation des extraits et dosages.....	127
II.5.1. Détermination du rendement.....	127
II.5.2. Criblage phytochimique	128
II.5.3. Dosage des polyphénols, des flavonoïdes, et des tanins	128
II.5.4. Activité antibactérienne des extraits éthanoliques des feuilles du P. atlantique	129
Conclusion.....	130
Conclusion générale et perspectives.....	132
Références bibliographiques	134

Introduction générale

Depuis toujours, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) ont été utilisées par l'Homme pour se soigner et combattre les maladies [1]. Cette utilisation est attestée dans toutes les civilisations anciennes et sur tous les continents. De cette manière, même aujourd'hui, malgré les avancées de la pharmacologie, l'utilisation des plantes en tant que médicaments est largement répandue dans certains pays, en particulier dans les pays en développement [2].

Au cours des dernières années, on a plus entendu parler de phytothérapie et de soins par les plantes. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % des habitants de la planète utilisent principalement les médecines traditionnelles pour leurs problèmes de santé [3]. En effet, sur les 300 000 espèces végétales décrites sur la planète, plus de 200 000 espèces vivant dans les pays tropicaux d'Afrique possèdent des vertus médicinales [4].

Par conséquent, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a élaboré une stratégie pour la médecine traditionnelle dans le but de maximiser les avantages de cette méthode en tant que source de soins de santé, tout en préservant la matière première, en particulier dans le cas des plantes (OMS, 2002). De plus, l'OMS suggère aux pays en développement d'entreprendre des initiatives visant à identifier, préparer, cultiver et conserver les plantes médicinales, ainsi qu'à évaluer la qualité et l'efficacité des remèdes à base de plantes en utilisant des méthodes modernes.

Dans ce domaine, l'approche ethnobotanique revêt une grande importance. Elle offre la possibilité de recenser les traitements contre de nombreuses affections et de créer une base de données de plantes médicinales pour préserver un savoir ancestral basé principalement sur une tradition orale. Des études ethnopharmacologique et ethnobotaniques ont récemment été réalisées dans diverses régions du Maroc [5] afin de préserver les connaissances autochtones et de mettre en place une stratégie de préservation de la biodiversité floristique.

La région de Zaïre comme toutes les autres régions des pays en voie de développement, les PAM occupent une place très importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée pour assurer leurs subsistances et leurs problèmes de santé. Les remèdes utilisant les PAM sont considérés comme : moins chers, sans effets indésirables et ont tendance à être plus employés dans de nombreux maux quotidiens [6] qui vont des simples troubles digestifs jusqu'à le traitement des maladies chroniques comme la tuberculose, le cancer, l'ulcère, le diabète, les calculs rénaux...etc. Cette utilisation peut être liée en grande partie à des facteurs socioculturels, économiques, religieux et à la facilité d'acquisition.

Zaïre est l'une des régions biologiquement les plus variées au Maroc, avec des zones biogéographiques parmi les plus rares au monde et une biodiversité considérable avec de nombreuses plantes thérapeutiques. Ainsi, cette région est l'origine de nombreuses plantes médicinales qui sont commercialisées dans tout le Maroc et à l'étranger. L'utilisation des plantes en pharmacopée traditionnelle est encore très répandue et profondément ancrée dans la culture médicinale des Zaïrains. Dans certaines régions du Zaïre, la médecine traditionnelle à base de plantes est la principale source de soins et constitue l'ultime solution en cas d'échec de la médecine moderne.

De plus, il y a peu de données sur les plantes médicinales dans cette région et elles sont peu nombreuses. Afin de combler des recherches partielles et fragmentaires menées un peu partout au Zaïre, il est donc indispensable de les réaliser afin de recenser les usages locaux des plantes. C'est dans cette perspective qu'une étude floristique et ethnomédicinale a été menée dans la région de Rommani, qui possède une variété lithologique, structurelle et floristique suffisante pour établir le catalogue des plantes aromatiques et médicinales utilisées dans le traitement traditionnel des maladies, dans le but de les valoriser, de les préserver et de les utiliser de manière rationnelle, en introduisant deux plantes aromatiques et médicinales qui ont fait l'objet de notre étude.

Les plantes médicinales sont des plantes qui possèdent des propriétés médicinales et des bienfaits grâce à l'action de leurs métabolites secondaires, qui empêchent le développement de parasites pathogènes.

L'utilisation des antibiotiques dans le domaine pharmaceutique, afin d'empêcher la croissance des microorganismes, entraîne l'accroissement du taux des infections par les microorganismes résistants, et l'élévation de la consommation des additifs chimiques.

L'utilisation fréquente d'antioxydants synthétiques entraîne une augmentation du stress oxydatif et peut perturber les processus biologiques normaux de l'organisme. On peut donc remplacer ces produits chimiques manufacturés par des matières naturelles, comme des plantes aromatiques et médicinales. Grâce à leurs composés bioactifs et leurs propriétés protectrices. Ces plantes contiennent des métabolites secondaires, notamment les huiles essentielles et les composés phénoliques.

Devant cette problématique, nous nous sommes fixés l'objectif de contribuer à la valorisation des feuilles de *Pistachier atlantique*, et les parties aériennes de *Lavandula multifida*, donc pour cela nous avons étudié leurs compositions chimiques, et leurs Propriétés Biologiques.

Ce mémoire de thèse est organisé en trois grands chapitres :

- ❖ Dans le premier chapitre, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur deux plantes, nous donnerons également un aperçu sur les huiles essentielles en décrivant les méthodes d'extraction et la composition chimique. Pour finir ce chapitre, nous présenterons le rôle et quelques propriétés des huiles essentielles.
- ❖ Le deuxième chapitre sera consacré aux matériels qui ont été utilisés au cours de ce travail, ainsi que les méthodes suivies pour la réalisation de notre travail.
- ❖ Le troisième chapitre traite des résultats obtenus et leurs discussions.

Nous terminerons ce manuscrit par une conclusion ainsi que des perspectives.

CHAPITRE I :
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

Les plantes médicinales sont des plantes qui contiennent un ou plusieurs produits chimiques dans l'une de leurs parties, telles que les racines, les feuilles, les fleurs et autres, et sont capables de traiter une ou plusieurs maladies, tandis que les herbes aromatiques sont celles qui contiennent une ou toutes leurs parties des huiles essentielles volatiles utilisées dans différents domaines.

L'une des méthodes les plus anciennes utilisées par l'homme antique comme solution pour traiter de nombreuses maladies est le traitement des herbes médicinales et aromatiques, car ces herbes sont considérées comme des médicaments et /ou des aliments, et leurs nombreux bienfaits sont maintenant apparus comme des médicaments sur notre corps.

I. Plantes aromatiques et médicinales

I.1. Richesse de la végétation marocaine

Les précipitations et la température sont les deux principaux facteurs définissant les deux subtilités du climat méditerranéen marocain. Ils jouent un rôle majeur dans la détermination de la distribution de la fleur. Les régions désertiques, arides, semi-arides, semi-humides et humides sont les cinq divisions possibles du bioclimat [7].

- **Bioclimat des hautes montagnes :** Il se distingue par ses structures arborescentes adaptées au froid extrême, telles que le genre thurifère *Juniperus*, et sa canopée bourgeonnante formée de plusieurs xérophytes épineuses.
- **Les bioclimats comprennent les zones humides et subhumides :** Les zones forestières du Maroc sont situées au sommet des montagnes.
- **Le bioclimat semi-aride :** La majeure partie de l'océan Atlantique à partir de Rabat à Agadir, le littoral méditerranéen (Hoceima, Nador et Saïdia) ainsi que la plupart des sommets des chaînes montagneuses sur des bandes plus ou moins étendues, font partie de cet ensemble.
- **Le bioclimat sec :** Ses domaines sont les hauts plateaux de l'est, notamment le Haouz de Marrakech et la région d'Agadir.
- **Le bioclimat saharien :** couvre près de la moitié du territoire, soit toutes les régions situées au sud d'une ligne qui s'étend de Figuig à Wadi Draa.

Le Maroc possède un écosystème diversifié en raison de sa situation stratégique, caractérisée par la présence des chaînes de montagnes de l'Atlas et du Rif, qui agissent comme une barrière et un filtre pour le climat en plus du fait qu'il est caractérisé par un littoral de plus de 3 500 km un groupe de plaines entre l'Atlantique et l'Atlas connaît de fortes précipitations, tandis que la

chaîne sud et est de l'Atlas ne reçoit que des quantités modérées à douces. Cette différence de terrain et de climat donne au Maroc une diversité végétale différente.

Les plantes marocaines contiennent environ 7000 espèces connues. Certaines d'entre elles ne sont pas encore bien classées et leurs caractéristiques géographiques et biologiques sont encore incomplètes, et je citerai en particulier les végétaux inférieurs (algues et champignons). Quant aux plantes vasculaires, le stock est relativement bien établi, Elle compte environ 4 500 espèces, appartenant à 940 genres et 135 familles, dont environ 1/4 des espèces endémiques [8].

Environ 9.038.000 hectares sont occupés par la forêt marocaine, ce qui représente 12,7% du territoire national. Les forêts du Maroc sont composées de forêts naturelles composées de feuillus (Chêne Vert, Chêne-liège, Chêne Tauzin, Arganier, Caroubier, ...) et de résineux (Cèdre de l'Atlas, Thuya de Berbérie, Pin d'Alep, Pin Maritime, Pin Noir, Genévrier Thurifère, Genévrier Rouge,...) qui se trouvent dans divers étages bioclimatiques, allant du semi-aride aux régions montagneuses du Moyen Atlas et du Rif sont contrôlées par la Cédraie, L'arganier est endémique du Maroc et seul pays au monde à posséder cette espèce et est inscrit au patrimoine mondial de l'UNESCO. Pour le côté fleurs, on y retrouve : la rose, la violette, le bougainvillier, le laurier, le jasmin, le genêt, la lavande... et de nombreuses variétés de cactées.

I.1.1. Importance des plantes médicinales et aromatiques

Les plantes médicinales et aromatiques peuvent être utilisées dans les domaines suivants :

- ***Cosmétiques*** : De nombreuses herbes sont utilisées dans la préparation de poudres et de crèmes cosmétiques spéciales, ce qui augmente l'efficacité de ces préparations.
- ***Préparation des parfums*** : Certaines plantes ont une odeur distinctive, belle et parfumée, ce qui a accru l'intérêt pour elles et la fabrication de nombreux parfums tels que la rose, le jasmin et d'autres.
- ***Préparation de pesticides*** : Dans certaines plantes, il existe des substances toxiques efficaces pour se défendre. Ces substances ont été extraites et des pesticides non nocifs pour la santé humaine et animale et l'environnement ont été préparés à partir de plantes telles que les plantes à fumée, le henné et autres.
- ***Industrie des épices*** : De nombreuses plantes se caractérisent par une odeur agréable qui est utilisée comme épices et agents aromatisants dans de nombreux aliments.

Aujourd'hui encore, une grande partie de la population mondiale, en particulier dans les pays en développement, dépend des remèdes traditionnels à base de plantes de plus, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) ont un impact financier significatif sur les industries culinaire, cosmétique, parfum et pharmaceutique. En effet, grâce à l'abondance

de substances actives qu'elles contiennent comme les terpènes, les stéroïdes, les alcaloïdes et leurs dérivés, les produits chimiques polyphénoliques et les huiles essentielles des plantes constituent une réserve durable de médecine traditionnelle et efficace [9].

I.1.2. Classification

a. En fonction de la substance active

La présence de l'ingrédient actif affecte la façon dont les plantes se divisent :

- La substance active se trouve dans les fleurs telles que la camomille.
- La substance active se trouve dans les feuilles telles que la menthe, le thé et le henné.
- La substance active se trouve dans les fruits tels que le carvi.
- La substance active se trouve dans ses graines, comme la nigelle et le café.
- La substance active est présente dans son écorce, comme le saule et la cannelle.
- La substance active se trouve dans ses racines, comme la réglisse.
- La substance active est présente dans toutes les parties de la plante, comme le datura.

b. En fonction du traitement

Il existe plusieurs plantes, dont chacune diffère en termes de but pour lequel elles sont utilisées en thérapie [10] :

- Plantes laxatives comme le ricin.
- Plantes antalgiques comme le saule.
- Plantes qui empêchent la rupture capillaire, comme les agrumes.
- Plantes cardio-stimulantes telles que le laurier-rose.

c. En fonction des échanges commerciaux

- Les plantes médicinales telles que la menthe et autres sont utilisées commercialement à des fins de fabrication médicinale.
- Plantes épicées telles que la noix de muscade, le cumin qui sont utilisées par les commerçants pour rendre les aliments frais et parfumés.
- Plantes aromatiques telles que les roses, le basilic et autres, qui sont utilisées commercialement dans la fabrication de parfums et de cosmétiques.
- Des plantes résistantes telles que le pyrèthre, qui sont utilisées commercialement dans la fabrication d'insecticides.
- Des plantes juteuses telles que le thé, la camomille et d'autres qui sont utilisées commercialement dans l'industrie des boissons.

Les huiles essentielles (HEs) sont aujourd'hui considérées en raison de leurs multiples propriétés : sensuelles, aromatiques, thérapeutiques, ... ainsi qu'à travers leurs diverses applications dans le secteur industriel [11], les spécialistes (agronomes, biologistes, botanistes, chimistes, écologistes, économistes et pharmaciens) intéressés la valeur et l'efficacité des herbes thérapeutiques

I.2. Métabolites secondaires

Un métabolite est une substance organique qui est produite à la suite du métabolisme.

Le métabolisme est un ensemble d'événements biologiques qui se produisent dans la cellule et entraînent la formation de métabolites, qui sont de petites molécules.

Chez les végétaux, il existe deux types de métabolismes/métabolites (Figure 1) :

- **Métabolisme primaire**, qui produit des métabolites primaires.
- **Métabolisme secondaire**, qui produit des métabolites secondaires.

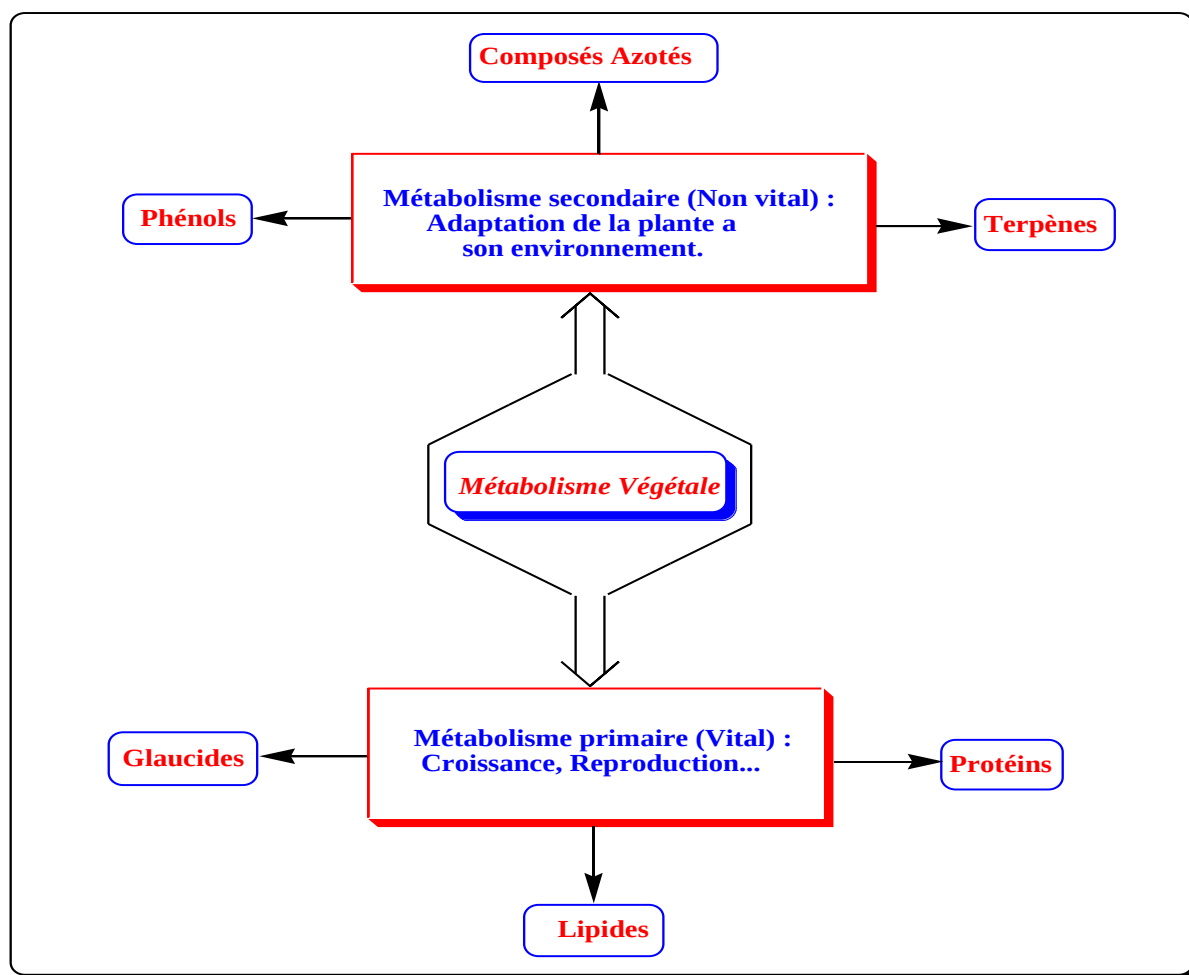


Figure 1 : Type des métabolismes

Le métabolisme secondaire (également appelé métabolisme spécialisé) est un terme désignant les voies et les petites molécules produites par le métabolisme. Ils sont des composés qui ne

sont pas directement impliqués dans la croissance, le développement et la reproduction d'un organisme. Mais ils sont importants pour de nombreuses fonctions supplémentaires telles que la protection, la compétition et les interactions entre les espèces. Ils proviennent des voies métaboliques primaires en tant que sous-produits. Cependant, contrairement aux métabolites primaires, ils ne sont pas nécessaires au maintien de la vie cellulaire. Ces produits à structure chimique souvent complexe sont très différents selon les espèces et c'est seulement à partir de la seconde moitié du 20^{ème} siècle, qu'il y a eu une explosion des recherches dans ce domaine, grâce à l'évolution du système d'analyse, comme les différents types de chromatographies, la résonance magnétique, la spectrographie de masse, la spectrophotométrie, etc...

Il existe environ 2.10^5 métabolites secondaires classés selon leurs propriétés chimiques (acétyléniques, mycotoxines, phénoliques, terpènes, alcaloïdes, amines et polyamines, glycosides etc...) [12].

Les huiles essentielles sont aujourd'hui considérées en raison de leurs multiples propriétés : sensuelles, aromatiques, thérapeutiques, ... ainsi qu'à travers leurs diverses applications dans le secteur industriel [13], les spécialistes (agronomes, biologistes, botanistes, chimistes, écologistes, économistes et pharmaciens) intéressés la valeur et l'efficacité des herbes thérapeutiques.

Nous aborderons d'abord les propriétés de ces huiles avant de détailler les principales techniques pour obtenir leurs composants.

I.3. Famille des Lamiacées

I.3 .1. Généralités sur les Lamiacées

Les plantes herbacées et arbustes du monde entier appartiennent à la famille des Lamiacées, souvent appelées Labiacées. Il y a environ 6500 espèces dans cette famille et environ 200 genres très variés qui sont spécifiques aux climats méditerranéens. La famille Lamiacée est facilement identifiable car elle est très homogène.

Le même nom familier dans cette famille est souvent utilisé pour décrire plusieurs espèces du même genre, comme le basilic, la lavande, la menthe. De nombreuses plantes sont utilisées comme médicaments. Cette famille a été étudiée à l'intérieur, en particulier sur *Lavandula multifida*.

I.3 .2. Description botanique des Lamiacées

La famille des Lamiacées a une description botanique assez approfondie.

a. Appareil végétatif

- Les tiges ont généralement une forme quadrangulaire avec de nombreuses branches.
- Les feuilles sont taillées et orientées dans des sens opposés.

En touchant les feuilles ou les tiges des plantes de cette famille, on peut sentir leur odeur. Extérieurement, derrière la cuticule en croissance, les huiles essentielles de Lamiacées sont générées dans les poils essentiels.

b. Appareil de reproduction

- **L'inflorescence** : Les fleurs sont toutes de forme cyme et se trouvent à l'aisselle des feuilles supérieures. Elles sont initialement bipares, mais ensuite unipares en raison d'un manque de place. Il arrive fréquemment qu'elles se condensent en glomérules et qu'elles forment souvent un verticille de fleurs sur la tige.
- **Les fleurs** : Ont des formes insolites.
- Cette famille est appelée labiée car elle présente souvent une corolle à deux lèvres. En raison de la forme des fleurs, qui ont cinq sépales fusionnés pour créer un calice bilabié, le nom dérive du mot latin labium, qui signifie « lèvre ».
- La corolle de l'androcée est composée de quatre ou deux étamines fusionnées, mais certaines espèces telles que la Sauge et le Romarin n'en ont que deux, tandis que certaines Lamiacées tropicales en ont une cinquième.
- Le gynécée possède deux carpelles soudés qui, ils se divisent en deux demi-loges grâce à la cloison.
- Un calice persistant abrite un fruit tétrakène, produit par chaque demi-carpelle et se développant en un akène élémentaire.

I .4. Etude botanique de la lavande

Le mot « Lavande » provient du mot latin « Lavare », qui signifie « laver ». Au Moyen Âge, la lavande était utilisée pour parfumer les maisons et les églises et pour prévenir la peste.

Au XVI^{ème} siècle, les propriétés de la lavande ont été étudiées à la faculté de Montpellier, où elle a été décrite comme tonique, antidiabétique et désinfectante.

Le genre *Lavandula* est l'un des plus importants genres de la famille des Lamiacées et riche en plantes à usage multiple, alimentaire, fourrager, aromatique, cosmétique et médicinal. Au Maroc, la bibliographie mentionne plusieurs espèces de ce type, souvent appelées lavandes, qui

ont une écologie et une phytogéographie variées. La distinction taxinomique est difficile et il n'y a pas d'investissement dans l'éventuel usage différent selon les localités et les espèces.

Sur le terrain, il y a des espèces spontanées telles que : *Lavandula multifida* L ; *Lavandula Steochas* L ; *Lavandula atlantica* Braun-Blanq ; *Lavandula pedunculata* Mill ; *Lavandula dentata* L et *Lavandula maroccana* Murb.

L'aire de répartition et de distribution des lavandes comprend les zones montagneuses du Rif, le moyen Atlas et le haut Atlas.

Les lavandes peuvent être des herbes annuelles ou des arbustes ligneux, parfumés, touffus et vivaces qui mesurent de 30 à 90 cm de hauteur. Ils ont des feuilles persistantes et opposées, qui peuvent être entières ou avec des dents. Elles ont la particularité de disposer leurs fleurs en inflorescence mixte. L'inflorescence primaire ressemble donc à un épi lâche. À la base de chaque cyme, qui est l'inflorescence secondaire, se trouvent des bractées. Le type de fruit est le tétrakène. La floraison abonde au printemps et est de couleur bleu violet clair. La corolle inversée à un seul pétale an un tube plus long que le calice, un limbe insuffisamment séparé en deux lèvres et cinq lobes inégalement arrondis et inégalement larges.

I.4.1. Répartition géographique

La lavande est une plante à fleurs de la famille de la menthe qui est facilement reconnaissable pour son arôme distinctif. On pense qu'elle est originaire de la Méditerranée, du Moyen-Orient et de l'Inde. Son histoire remonte à il y a 2500 ans, lorsqu'elle était utilisée comme herbe sacrée, et a également été utilisé pour conférer un parfum léger distinctif. Pour les vêtements et les cheveux, la lavande est utilisée comme épice pour les aliments et les boissons, comme parfum dans les savons et autres produits de beauté, et peut être bue comme un thé. La lavande est également couramment utilisée pour ses bienfaits médicaux et thérapeutiques [14].

La lignée des Lamiacées comprend 39 espèces de plantes connues sous le nom de lavande. Ces plantes se distinguent par leurs fleurs pittoresques et leurs feuilles parfumées, parce qu'elle est utilisée pour aromatiser divers types de produits.

La lavande est un arbuste herbacé vivace qui appartient aux plantes à fleurs, et ses buissons se caractérisent par leurs petites tailles et leurs multiples branches, couvertes de feuilles gris verdâtre, avec des fleurs et de longs bourgeons poussant sur leurs bords.

La plante de lavande produit des feuilles d'espèces simples ou plumeuses, qui varient entre 30 et 50 mm de longueur, et produit des fleurs qui poussent sur des bourgeons ou des épines, qui atteignent une longueur comprise entre 20 et 40 cm, et ont des couleurs violettes ou bleues attrayantes. Les buissons de lavande atteignent une hauteur d'environ 90 cm et peuvent survivre

jusqu'à 30 ans [15]. Étant donné que les plantes de lavande aiment les climats chauds et poussent mieux sur des sols rocheux, salins ou secs, son habitat d'origine peut être trouvé dans les régions côtières méditerranéennes [16].

I.4.2. Composants chimiques

Les lavandes sont des petits arbustes aromatiques cultivés dans le monde entier pour leurs huiles essentielles, qui sont un mélange de monoterpènes, sesquiterpènes, alcools, esters, oxydes et cétones. Les polyphénols, y compris les tanins et les flavonoïdes, ainsi que les terpénoïdes, selon une étude phytochimique.

I.4.3. Principaux types de lavande

La lavande est classée en six (6) types principaux, qui sont les suivants :

- ***Lavandula angustifolia*** : Est connue sous le nom de vraie lavande ou lavande commune, qui est d'origine de la région méditerranéenne, et les fleurs de lavande angustifolia ont des couleurs étonnantes entre le bleu-violet ou le blanc-rose.

Les fleurs s'épanouissent au bout des tiges de lavande du début au milieu de l'été, et ces fleurs laissent un parfum aromatique lorsqu'elles sont touchées ou écrasées. Tiges de 30 à 90 cm de haut, semi-persistantes et semi-ligneuses [17].

- ***Lavandula dentata*** : Elle est également connue sous le nom de lavande dorée en raison de ses feuilles dentelées aux extrémités qui dégagent une odeur parfumée ressemblant au romarin. C'est une plante herbacée à feuilles persistantes originaire de l'est et du sud de l'Espagne.

Les fleurs compactes de couleur violet clair sur la tête de la lavande française ne sont pas aromatiques et fleurissent du début de l'été à l'automne et tout au long de l'année si les bonnes conditions sont réunies, telles que la lumière et la chaleur suffisantes. Les feuilles dentelées de la lavande dentata sont vert grisâtre et le buisson pousse droit. Il mesure environ 90 cm de hauteur.

- ***Lavandula latifolia*** : Elle est appelée lavande aspic, et elle vient de la région occidentale de la Méditerranée, et a un fort parfum aromatique, et produit des fleurs violettes qui fleurissent abondamment à la fin du printemps et jusqu'à la fin de l'été. Les feuilles de lavande aspic a une couleur verte permanenté et une texture grossière, et le buisson de **lavande** pousse jusqu'à atteindre une longueur comprise entre 30 et 90 cm.

- ***Lavandula stoechas*** : Également connue sous le nom de lavande papillon, est originaire de la Méditerranée et de l'Afrique du Nord, et est généralement cultivée dans le but d'utiliser ses feuilles aromatiques pour fabriquer des huiles essentielles. Elle a une couleur pourpre

foncé, et le processus de floraison se produit abondamment et continuellement, du milieu du printemps à la fin de l'été. Elle atteint une hauteur de 45 à 60 cm.

- ***Lavandula intermedia*** : C'est une lavande hybride, qui combine les caractéristiques de la lavande angustifolia et du lavande aspic, et produit des fleurs avec une odeur aromatique piquante, qui sont violet foncé et blanc, et fleurissent abondamment du milieu à la fin de l'été, avec des feuilles vert grisâtre, et poussent à une hauteur d'environ 75 cm.
- ***Lavandula multifida*** : Il est endémique du Maghreb et de certaines parties du sud de l'Europe. Ce type fera l'objet de nos recherches.

I.4.4. Propriétés thérapeutiques

Au XX^{ème} siècle, le parfumeur-chimiste René-Maurice Gatte Fossé, l'un des pères fondateurs de l'aromathérapie, avait des brûlures très graves sur les mains. Il a réussi à empêcher la gangrène de s'installer en les rinçant avec de l'essence de lavande. Les hôpitaux français ont commencé à utiliser des huiles essentielles, y compris la lavande, pour nettoyer l'air et prévenir les infections microbiennes et fongiques.

La lavande est connue pour ses propriétés médicinales. Outre ses qualités calmantes, elle est utilisée pour soigner les blessures superficielles et les brûlures. Il possède également des qualités antidépressives, antibactériennes, antifongiques, antioxydantes, anticancéreuses, antivirales et anti-inflammatoires.

Lavandula multifida est souvent utilisée dans le traitement des rhumatismes et de la grippe car elle a une activité hypoglycémisante et des propriétés anti-inflammatoires [18].

I.4.5. Généralités sur *Lavandula multifida*

Les fleurs de *Lavandula multifida* sont violacées et mesurent environ 7 à 8 mm de long. Les épis ne mesurent guère plus de 3 cm (Figure 2). La famille des Lamiacées est une plante semi-persistante qui a des feuilles au contour ovale et des faux verticilles de seulement deux fleurs. Ses feuilles sont très multifides et constituées de plusieurs petites feuilles. Elle pousse naturellement dans les zones côtières de la Méditerranée et de l'Afrique tropicale, tandis qu'elle est principalement présente dans les régions présahariennes sur des formations rocailleuses et des sols calcaires drainés.

Pour se protéger contre les pucerons, elle colonise fréquemment les frontières entre les rosiers et les rivières au Maroc. *Lavandula multifida* joue un rôle important dans la médecine traditionnelle marocaine. Elle est utilisée pour traiter un ensemble des maladies, y compris les problèmes gastriques, l'hémorragie, la guérison des plaies, les rhumatismes, la grippe et la polyarthrite. Le rendement de l'huile essentielle de cette espèce était de 2,4 %. Les analyses

chromatographiques (CG et CG-SM) effectuées sur cette huile ont révélé 28 composants, qui représentent plus de 90 % de la composition totale de l'huile essentielle, avec le carvacrol en tant que constituant principal. L'huile essentielle de *L. multifida* est également recommandée pour son utilisation en phyto-aromathérapie. Des études pharmacologiques récentes se rapportant à *Lavandula multifida* ont révélé un large spectre d'activités biologiques principalement les propriétés antibactériens, hypoglycémiantes, antifongiques, antitumorale, antimicrobienne, anti-inflammatoire. Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a réalisé auparavant sur l'effet de cette huile essentielle sur l'activité antioxydant, antidépresseurs, et pesticide. Par conséquent, l'objectif de cette étude est la caractérisation de la composition chimique de l'HEs de *Lavandula multifida* de la région de Zaïre et l'étude de ses effets antioxydant, et antibactérienne.



Figure 2 : Partie aérienne de *Lavandula multifida*

Le tableau 1 ci-dessus, résume la taxonomie du *Lavandula multifida*.

Tableau 1 : Classification

Embranchement	Spermatophytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous Classe	Asteridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	Lavandula
Espèce	Lavandula multifida

I.5. Famille des anacardiées

I.5.1. Etymologie

Les Anacardiées (Tableau 2), sont un petit groupe d'arbre de dicotylédones avec 600 espèces dans 70 genres, mais quatre-vingts espèces ont été identifiées par d'autres auteurs [19 ;20]. La plupart des types d'espèces de cette famille proviennent de régions tropicales [21]. La famille est divisée en cinq tribus, selon la classification la plus fréquemment reconnue : *Anacardieae*, *Dobineae*, *Rhoeae*, *Semecarpeae* et *Spondiadeae* [22], avec le genre Pistachier attribué à la tribu *Rhoeae* [23]. Les fleurs sont unisexuées ou bisexuées et se présentent sous de minuscules formes en grappes ramifiées (panicules). Les drupes sont le type de fruit le plus courant [24]. La Malaisie compte plus de genres de cette famille que n'importe quel autre endroit au monde, s'étendant de la péninsule malaise à l'archipel Bismarck dans l'est de la Nouvelle-Guinée.

En termes de genres, la zone phytogéographique malaisienne compte plus de genres que tout autre endroit sur terre [25]. De nombreuses espèces d'arbres d'importance commerciale font partie de cette famille. Les noix de cajou (*Anacardium occidentale* L.) et le mombin violet et jaune (*Spondias purpurea* L. et *mombin* L.) font partie de la famille des plantes Anacardiées. Originaires d'Afrique du Sud, les plantes kaffir (*Harpephyllum caffrum* Bernh.) et marula (*Sclerocarya caffra* Sond.) sont communes. Les espèces de mangue *Mangifera indica*, de pomme Cythère (*S. dulcis* Forst) et du genre *Bouea* ont leur origine en Asie du Sud-Est. Le Pistachier est probablement apparu pour la première fois en Iran et en Asie centrale. Les Anacardiées sont cultivées pour produire des produits en bois et secondaires, notamment des gencives et des résines, de la cire et du vernis (*Rhus* et *mélanorrhée*) et des composants debronzage (*Mangifera*, *Rhus* et *Schinus*) [26]. Il est bien connu que plusieurs espèces, comme *Gluta* d'Asie du Sud-Est et *Rhus* sp. D'Amérique du Nord, peut provoquer une grave irritation cutanée lorsqu'on l'approche. La sève et le pollen de certaines espèces, notamment *Mangifera* et *Schinus* sp., peuvent provoquer des réactions allergiques extrêmement graves.

Presque toutes les régions tropicales et subtropicales de la terre abritent la majeure partie des espèces d'Anacardiées. Cependant certaines espèces, comme les Pistachiers prospèrent dans les zones méditerranéennes, qui feront l'objet d'une partie de nos recherches.

Tableau 2 : Famille Anacardiaceae dans son ensemble

Embranchement	Spermatophytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Sous Classe	Malvidés
Super-ordre	Rutanées
Ordre	Rutales
Famille	Anacardiacées

I.5.2. Classification systématique, description botanique et distribution

La famille Anacardiacées a été nommée pour la première fois par le botaniste Lindley en 1830, mais les individus ont été placés dans d'autres familles, comme les *Blé pharocaryacées*, la *Comocladaceae*, la *Julianiaceae*, la *Pistaciaceae*, la *Podoaceae*, la *Rhoaceae*, la *Schinaceae*, la *Spondiadeae* et la *Terebinthaceae*.

En 1892, Engler a divisé la famille en cinq catégories : Spondieae, Semecarpeae, Rhoideae, Mangifera et Dobineae [27]. Il les a décrits en termes d'une variété de traits observés dans les fleurs et les fruits, notamment la quantité de carpelles, la manière dont les ovules sont insérés dans le placenta, le nombre de verticilles d'étamines, la complexité des feuilles, la quantité de cellules dans l'ovaire et le fruit, la morphologie de l'embryon et le style d'insertion de l'ovule. Les travaux de Ding (1978) sont mis à jour par Mitchell et Mori en utilisant la classification d'Engler. Wannan et Quinn [28] ont étudié la taxonomie des Anacardiacées en utilisant la structure des fleurs et les informations sur les bi flavonoïdes, l'anatomie du bois et le péricarpe. Ils se sont efforcés de séparer les deux groupes, A et B, en sous-groupes 1 et 2. Toutes les tribus Engler sont incluses dans le groupe A, à l'exception d'Androtium, Buchanania, Campnosperma et Pentaspadon. Les familles Anacardiacées, Dobineae, Rhoaeae et Semécarpées. Le groupe B comprend les quatre genres (deux de chacun, Anacardieae et Rhoaeae) et tous les Spondiadeae.

a. Description botanique

Les arbres et arbustes de la famille Anacardiacées ont généralement des arbustes sarmenteux, des herbes grimpantes ou des lianes, ainsi que des tubes transparents et résineux à sève laiteuse qui, dans certains cas, est toxique et peut provoquer de graves dermatites au contact. La sève laiteuse peut devenir noire lorsqu'elle est exposée à l'air. Les fleurs actinomorphes sont bisexuelles ou parfois unisexes sont minuscules et discrètes, et elles peuvent être solitaires, en grappes, en fascicules ou panicules, épis, thyrses ou grappes, axillaires ou terminaux. Les feuilles sont larges, alternées, typiquement pennées, rarement opposées (*Abrahamia*, *Belpharocarya*, *Bouea*) et parfois simples (*Anacardium*, *Continus*, *Mangifera*). Le fruit est

généralement drupacé et indéhiscent, bien qu'il existe des variétés occasionnelles, telles que des akènes (*Apterokarpos*), des samaroïdes à une aile (*Faguetia*, *Loxopterygium*) et des samaroïdes à deux ailes (*Campylopetalum*, *Dobinea* et *Laurophyllus*).

b. Distribution

Les Anacardiaceae sont présentes dans les hémisphères est et ouest, avec une répartition presque uniforme en Afrique, en Amérique du Sud et en Asie. Selon Takhtajan, de nombreux types de plantes proviennent à partir d'Asie et des Amériques, comme *Cotinus*, *Rhus* et *Pistacia*. Le ménage a visité la Malaisie, à South Africa, en Amérique du Sud, en Europe centrale et en Afrique centrale, à Madagascar et en Indochine. Avec 200 espèces, le *Rhus* est le plus grand genre de cette famille qui se trouve dans les zones tempérées et tropicales des deux hémisphères (Figure 3).

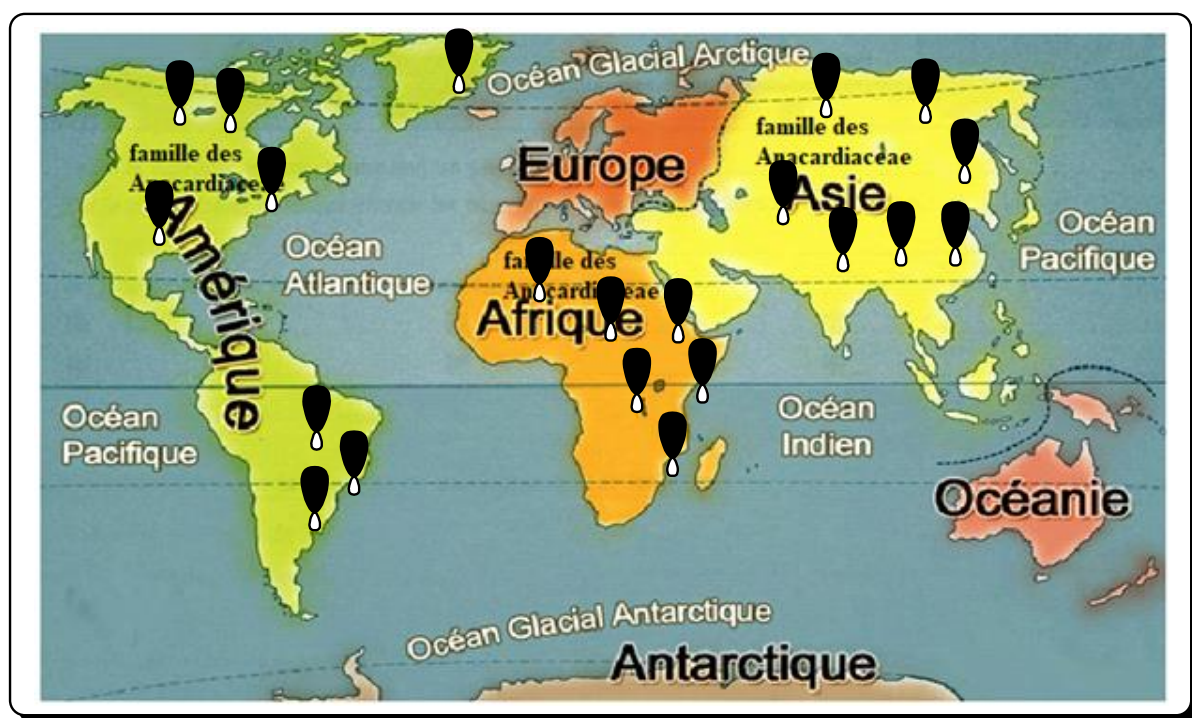


Figure 3 : Distribution géographique de la famille des Anacardiaceae

Au niveau économique, les pistaches, les baies roses, les noix de cajou et les mangues sont les produits agricoles les plus importantes de la famille des Anacardiaceae, néanmoins, beaucoup de taxons ont des parties comestibles à haute valeur régionale, telles que *Antrocaryon*, *Spondias*, *Tapirira*, et *Trichoscypha*. Le fruit de marula est utilisé pour produire de la crème d'amarula [29].

Les confiseries vendent des noix de cajou crues ou grillées. Localement, les pommes de cajou sont plus importantes que dans le monde et sont consommées fraîches, sous forme de jus. La

noix de cajou produit trois produits économiques majeurs : La liqueur de cajou est utilisée pour fabriquer des plastiques, des adhésifs, des lubrifiants et des résines. Du point de vue économique, ces semences sont considérées comme l'une des plus importantes.

c. Applications médicales et effets pharmacologiques et biologiques

La famille des Anacardiaceae est reconnue depuis longtemps pour son potentiel thérapeutique. Les peuples autochtones utilisent les spondias et les Rhus pour soigner diverses maladies, allant des os fracturés aux rhumes.

Les habitants utilisent fréquemment Spondias et Rhus pour traiter diverses maladies telles que le rhume et les fractures osseuses. Certains sont employés pour soigner la fièvre (Buchanania), l'hépatite (Haematostaphis), les problèmes respiratoires (Astronium), les problèmes digestifs (Anacardium, Lannea, Ozoroa, Pseudo spondias, Schinus,), les affections cutanées et/ou les plaies. Les maladies astringentes, les maladies vénériennes (Trichosiva, Ozoroa, Sclerocaria, Buchanania, Surindia, Laneia, Metopium, Shinus, Circea) et les problèmes de grossesse (Anacardium, Astronium) [30].

La médecine moderne a développé un fort intérêt pour les applications ethnobotaniques, permettant l'extraction de nombreux produits chimiques médicinaux à partir de divers composants végétatifs.

Environ 400 millions de personnes dans le monde sont touchées par une maladie tropicale dangereuse appelée filariose, causée par des parasites filaires. Le cardol un produit chimique dérivé du péricarpe de la noix de cajou, s'est révélé efficace contre cette maladie [31].

I.5.3. Le genre Pistachier

Le genre botanique Pistachier regroupe de 10 à 20 espèces d'arbustes appelés pistachiers appartenant à l'ordre des Sapindales et à la famille des Anacardiaceae. Bien que quelques exceptions aient été décrites, le vent et les dioïques pollinisent les espèces de pistaches [32].

Son origine les régions chaudes et semi-arides à partir d'Amérique (Texas, California), du Mexique, ainsi que de toute l'Afrique et de l'Eurasie, y compris les îles Canaries.

Les pistachiers sont des arbustes et des petits arbres mâles ou femelles à croissance lente et longue vie, pouvant atteindre une hauteur de 3 à 20 mètres. Selon les espèces, les feuilles alternes composées peuvent être persistantes ou caduques [33].

C'est un des genres les plus importants de la famille des Anacardiaceae d'un point de vue alimentaire. C'est le genre des Pistachiers qui regroupe une quinzaine d'espèces. On peut par exemple citer le *Pistachier atlantique* ou encore le Pistachier de Chine.

Toutes les espèces sont dichotomiques, mais les individus de *Pistachier atlantique* sont monologements. Près de 80 millions d'années ont été consacrées à cette espèce.

Nous citons les cinq espèces les plus connues de Pistaches :

- ❖ ***Pistacia vera* L** : Il a été cultivé pour la première fois en Iran il y a de trois à quatre mille ans. Cet arbuste est originaire des régions désertiques du Moyen-Orient. Il a été introduit par les Romains dans le bassin méditerranéen au début de l'ère chrétienne.
- ❖ ***Pistacia lentiscus*** : C'est un arbuste qui pousse dans les garrigues et la végétation du climat méditerranéen. Plante avec flétrissement persistant, elle produit des fruits, d'abord rouges puis noirs.
- ❖ ***Pistacia terebinthus*** : C'est une plante à feuillage caduc de la famille des Anacardiacees poussant dans la garrigue et le maquis, commune dans tout le bassin méditerranéen.
- ❖ ***Pistacia palaestina*** : C'est une espèce d'origine du bassin méditerranéen oriental. Cet arbre est semblable au pistache térébinthe, qui peut être identifiée par ses feuilles, de forme ovale dans le térébinthe méditerranéen et pointu dans le térébinthe palestinien.
- ❖ ***Pistachier atlantique*** : Également connu sous le nom de *Pistachier atlantique* ou *Pistachier de l'atlas*, est un arbre à feuillage caduc de la famille des Anacardiacees.

a. Applications médicales, effets biologiques et pharmacologiques

Certaines espèces de Pistachier ont des usages médicaux populaires dans différentes zones géographiques. Les feuilles de Pistachier lentiscus par infusion sont utilisées pour le traitement des infections de la gorge, la diarrhée et l'eczéma [34]. Les brûlures par exemple sont traitées à l'aide de feuilles de *P. terebinthus*. La bronchite et d'autres problèmes respiratoires et pulmonaires sont traités par la résine des branches comme antiseptique. Il a des effets anti-inflammatoires et antipyrétiques et peut être utilisé dans le traitement de l'asthme. La graisse des fruits est collectée et utilisée pour produire du savon et de l'huile de cuisson, tandis que les fruits eux-mêmes sont utilisés pour fabriquer du café [35]. Les galles de Pistachier integerrima sont utilisées pour traiter diverses affections, En particulier, l'asthme, la bronchite chronique, la diarrhée, la fièvre, les affections de la peau, la toux, le mordillement d'un serpent, les problèmes hépatiques, vomissements et piqûres de scorpion [36]. Les graines de pistachier sont fréquemment utilisées dans l'industrie alimentaire, soit grillées, soit comme collation [37]. *Pistacia vera* produit de l'oléorésine. L est mâché et utilisé localement contre les hémorroïdes, les maux d'estomac et l'asthme [38]. Les feuilles de Pistachier sont utilisées pour le cancer du

poumon, l'hémorragie traumatique, prévenir l'entérite, la grippe, les maux de tête et d'autres maladies [39].

b. Etudes phytochimiques et l'isolement des métabolites secondaires principaux

En utilisant des techniques analytiques modernes, à l'aide de techniques telles que GC-MS, la composition des huiles essentielles de nombreuses espèces de Pistacia a été étudiée [40]. Ont découvert de nombreux produits chimiques volatils dans les feuilles séchées de *P. lentiscus*. Nous citons par exemple, α - pinène (2,0 - 6,9%), para-Clymène (0,5 - 7,5%), Sabinène (1,0 - 6,7%), le Terpinène-4-ol (6,8 - 10,6%), et α -Terpinène (3,1 - 3,6%). Les feuilles de Pistachier Vera contiennent également d'autres composés isolés comme le camphène (8,3 %), le para-diméthylstyrène (4,6 %), l'acétate de bornyle (4,4 %) et le γ -Terpinène (3,7 %), en plus du α -pinène mentionné précédemment (29,2 %), limonène (12,4%), α -Terpinéol (9,6%). Ces composées chimiques se sont avérées antifongiques contre *Fusarium*, *Sambucinum*, *Pythium ultimum* et *Rhizoctonia solani* [41].

I.5.4. Pistachier atlantique

a. Généralités sur le Pistachier atlantique

Le *Pistachier atlantique* appartient à la famille des anacardiacees et est classé parmi les 10 meilleures espèces d'arbres spontanés du Maroc. Ils sont connus pour leur production de fruits ou de leurs dérivés, qu'ils consomment à différents moments de l'année.

1. **Arbousier**, une éricacée qui pousse généralement à côté des forêts de chênes produit un délicieux fruit charnu à la texture granuleuse connu sous le nom de Bakhennou ou Sasnou.
2. **Arganier**, se trouve au Maroc et c'est un arbre vivace, produisant des fruits, qui sont une fausse drupe ovale contenant une noix très dure abritant deux ou trois « amandes », consommant environ 38 kg de fruit (autocollant) soit 2,6 kg d'amandes pour produire 1 litre d'huile d'argan.
3. **Aubépine**, Il porte de succulentes baies rouges connues sous le nom de « Bousrouroud » en dialecte marocain et pousse sous forme d'arbres ou d'arbustes épineux.
4. **Eqlantier**, est une plante de la famille des Rosacées qui produit une petite baie rouge riche en vitamines.
5. **Châtaignier**, est un arbre imposant qui peut vivre 1500 ans et atteindre une hauteur de 35 mètres et un diamètre de 4 mètres.
6. **Figuier**, est un arbre typique de la région de la Méditerranée. Au Maroc, il existe deux types de figuiers : le figuier "mâle" ou caprifiguier, qui se concentre principalement sur la production de grains de pollen, sans produire de figues comestibles, et le figuier qui produit

les figues consommées. Les figues de l'été, les figues de l'automne et les figues « parthénocarpies » sont les premières produites dans certaines régions du Maroc.

7. **Jujubier**, qui est l'un des arbustes fruitiers spontanés du Maroc qui produit un petit fruit riche en vitamine C appelé Nbegue (en Darija).
8. **Oléastre (olivier sauvage)**, l'olive, une espèce méditerranéenne, a été améliorée pour devenir une plante largement cultivée, et par conséquent le fruit qui en découle, l'olive. Dans certaines régions du Maroc, des greffes sont toujours effectuées sur l'oléastre.
9. **Palmier nain**, dans certaines régions du Maroc, les « baies » sont également consommées en plus du « cœur ». En ce qui concerne le palmier, qui est connu pour ses nombreuses variétés de dattes, son origine remonte au Moyen Orient. Cependant, le palmier nain est une espèce qui existe naturellement au Maroc et qui se reproduit spontanément. En raison de l'exploitation à laquelle il est soumis, le palmier nain, également appelé Doum en arabe, prend son faux nom. S'il est épargné, il peut atteindre une hauteur d'environ dix mètres. En berbère, ses fruits sont connus sous le nom d'Aghaze (en Darija).
10. **Pistacher de l'atlas**, les fruits sont délicieux, avec des graines de la taille d'un pois, un peu ovales et aplaties, et ils sont riches en huile épaisse très énergétique.

Le Pistachier atlantique est un arbre dioïque avec des fleurs mâles et femelles sur différents socles. En automne, ils perdent leurs feuilles et se dénudent en hiver. Au printemps, les feuilles apparaissent à nouveau après la floraison. Pistachier atlantique se trouve dans une zone géographique éloignée. Cet arbre est détenu par le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye et la Syrie. Leur zone géographique naturelle comprend le Moyen-Orient, l'Afrique du Nord, les îles Canaries, la Cyrénaïque, Chypre et l'Asie du Sud [42].

b. Description morphologique

Le *Pistachier atlantique*, également appelé El Betoum ou Botma en arabe, est une espèce endémique qui peut mesurer jusqu'à 20 mètres de hauteur. L'arbre possède un tronc unique et une canopée hémisphérique [43]. Il est constitué de 7 à 9 folioles, de grappes de fleurs lâches et de fruits d'une taille similaire à celle d'un pois [44].

➤ **Feuilles :**

Les feuilles (Figure 4) ont une forme spécifique, un axe ailé lisse, et à leur sommet se trouvent des folioles lancéolées obtuses [45], Il est incomplet, nu et sessile, de couleur vert pâle et tombe à l'automne [46]. Il a également une forme plumeuse et se trouve en nombre impair [47]. Parfois, les racines des feuilles sont aplaties et élargies pour créer une expansion similaire aux ailes [48]. Lorsque la température diminue, elle disparaît [49]. De nombreux auteurs ont

proposé que les variations des feuilles peuvent se produire dans diverses conditions écologiques et que les changements structurels peuvent être causés par les facteurs environnementaux, ce qui peut entraîner une xénomorphe. La tolérance à la sécheresse peut également être indiquée par les caractéristiques anatomiques. Les nervures sont rarement ciliées, mais dans la sous-espèce *atlantica*, la nervure centrale est couverte de poils ciliés [50].



Figure 4 : Feuillage du Pistachier atlantique

➤ **Inflorescence :**

Le Pistachier atlantique se caractérise par ses fleurs en grappes ramifiées (Figure 5). Il fleurit juste avant le début des feuilles à la mi-mars. L'*Betoum* est une espèce dioïque dont les fleurs sont apétales et sont petites en panicules axillaires. Les fleurs régulières présentent une tendance à la zygomorphie. Les mâles et les femelles ont des grappes terminales apétales et rougeâtres, de 5 à 10 cm de haut. Elles sont groupées en grappes, unisexuées et dioïques, avec des pieds différents.

- *Les grappes terminales des fleurs mâles contiennent entre 450 et 500 fleurs apétales. Chaque fleur a un calice composé de 3 à 5 sépales et un androcée formé de 5 à 8 étamines opposées* [51].

•Les grappes de fleurs femelles contiennent entre 190 et 260 fleurs. Chaque fleur a un très petit calice avec trois à cinq sépales qui entourent le gynécée composé de trois carpelles soudés et qui est surmonté de trois styles libres et pourpres [52].



Figure 5 : Fleurs de Pistachier atlantique

➤ **Racines :**

Les racines du *Pistachier atlantique* peuvent s'étendre jusqu'à 5 mètres de profondeur, ce qui en fait une plante xérophile. Il parvient à végéter malgré des précipitations extrêmement faibles, et sa résistance à des conditions climatiques très difficiles pourrait être liée à la force de son système racinaire [53].

Ce pivot finit par se dissoudre, permettant aux racines secondaires de s'organiser en fonction du type de sol. Si le sol est sablonneux, certaines racines descendent vers des profondeurs plus humides tandis que d'autres s'étalent sur le dessus pour profiter des chances hydrominérales. Si le sol est limoneux, les racines préfèrent former un fin réseau horizontal car il est éventuellement plus humide et compact. Avec l'âge, des racines robustes peuvent pénétrer profondément dans un sol limoneux en quête d'hydratation et d'ancrage [54].

➤ **Graines :**

Les graines de *Pistachier Atlantique* sont riches en minéraux et nutriments [55]. Il est également séché, broyé pour créer de petites galettes avec de l'eau sucrée. Parfois, les graines sont consommées sans cuisson parce qu'il est délicieux [56].

Dans les fractures, les graines trouvent un bon environnement pour germer et s'épanouir. La fin de l'été (août-septembre) correspond à la maturité des graines [57].

➤ **Fruits :**

Le fruit est une drupe (Figure 6), dont le nom vernaculaire est “Khodiri ”. Il est consommé par les habitants [58]. Vers la fin du mois de mars, la maturation commence, et les fruits atteignent leur maturité au septembre.



Figure 6 : Fruits de Pistachier atlantique

c. Classification du Pistachier atlantique

Le tableau 3 suivant, résume la taxonomie de *Pistachier atlantique*.

Tableau 3 : Classification

Règne	Plantes
Embranchement	Spermatophytes
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Sous Classe	Malvidés
Super-ordre	Rutanées
Ordre	Rutales
Famille	Anacardiacees
Sous-famille	Rhoées
Genre	Pistache
Espèce	Pistachier atlantique

La phylogénie la plus récente de *Pistachier atlantique* est présenté ci-dessous (Tableau 4) :

Tableau 4 : Fiche produit

Couleur fruit	Rouge
Exposition	Soleil
Feuillage	Caduc
Germination (en jours)	30-40
Germination moyenne (%)	60
Graines au gramme	13
Rusticité	Résistant (à moins 5°C), Résistant à la sécheresse
Sol – Type	Tourbe végétale
Utilisation	Bois, Cosmétique, Érosion, Fruitier, Jardinerie, Médicinal, Reboisement
Zone Climatique	Méditerranéen, Zones tempérées

I.5.5. Caractères écologique et aire de répartition

Selon Koyzel [59], cette espèce peut être trouvée dans deux régions : la Méditerranée et l'Iran-Turanie. Alors que le Mangozi est considéré comme originaire d'Afrique du Nord. Ce type d'arbre tolère une variété de types de sols, y compris les sols alcalins. Il reçoit des précipitations modérées d'environ 150 mm ou moins.

a. Caractères écologiques

Le Pistachier atlantique est une espèce ligneuse spontanée qui vit largement dans le nord-ouest du Maroc. Leurs capacités environnementales vont des zones subhumides aux zones désertiques. Il est capable de survivre des centaines d'années et s'adapte parfaitement aux conditions climatiques.

➤ **Edaphique**

Les spécialistes affirment que *le Pistachier atlantique* est particulièrement résistant à la sécheresse et à la salinité des sols. Sa résilience au froid, à la sécheresse et au sel du sol et sa résistance au calcaire lui confèrent une grande capacité d'adaptation aux régions sèches. Elle peut même survivre en montagne et dans certaines terres marginales. C'est un arbre qui pousse dans tous les types de sol et qui résiste à la sécheresse et au froid hivernal.

➤ **Température**

Le *pistachier atlantique* est une espèce héliophile qui a une grande variété de conditions thermiques et bioclimatique, allant d'une température extrêmement basse de 5°C à -12°C à une température extrêmement élevée de 49°C à 52°C.

➤ **La pluviométrie**

La plante de *pistachier atlantique* est une espèce tolérante à la sécheresse, avec une tolérance exceptionnelle aux énormes fluctuations climatiques telles que les hivers rigoureux, les étés secs et torrides.

b. Répartition

L'écologie du *Pistachier atlantique* est difficile à déterminer, Il a un degré élevé de flexibilité, lui permettant de vivre de la périphérie du Sahara aux gammes moyennes subhumides. Le *Pistachier atlantique* est une xérophYTE thermophile qui se développe sur les bordures de champs, les pentes rocheuses, les fossés, en bordure de route et les sols argileux. Lorsque les racines poussent entre les fissures des roches calcaires, il peut également prospérer [60]. Son habitat se compose principalement de régions steppes et les semi-steppes. C'est une espèce qui peut survivre à la sécheresse et se développe dans des régions semi-arides et secs. Il peut pousser seul [61], ou aux côtés de *Ziziphus lotus* L. et *Pinus halepensis* Mill. Puisque, cette plante peut survivre dans les régions où les précipitations annuelles sont faibles car elle résiste à la sécheresse [62].

Le *Pistachier atlantique* est une espèce qui se trouve principalement dans le sud de la Méditerranée et au Moyen-Orient, avec une petite partie des îles Canaries. Il est largement présent dans le sud de la Méditerranée et au Moyen-Orient, ainsi que dans la partie sud de la Grèce, l'ouest et le sud de la Turquie (Figure 7). Il a également été signalé dans la Palestine, la Jordanie, la Syrie, la Tunisie, la Libye et l'Égypte [63].

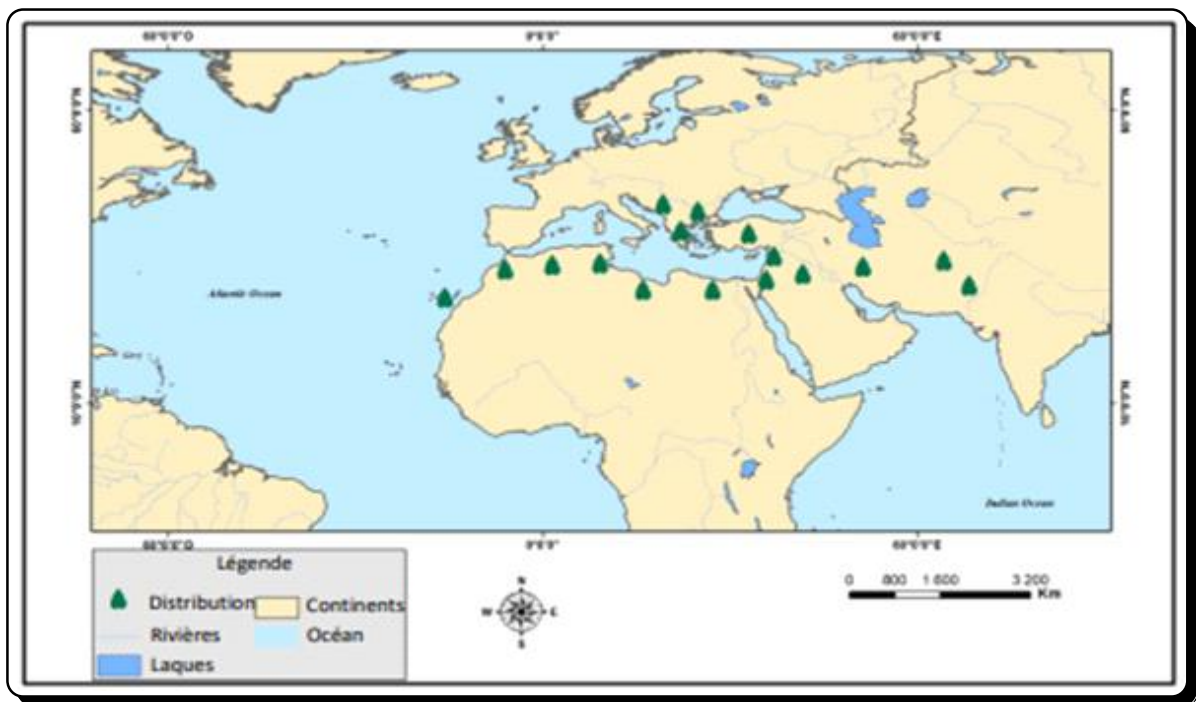


Figure 7 : Distribution géographique de Pistachier atlantique dans le monde

Au Maroc, cet arbre semble avoir une large répartition géographique ; on le trouve en peuplements minuscules sur les hauts plateaux au niveau du Moyen Atlas, et il est également présent dans les régions sèches et semi-arides du sud du Maroc, ainsi que dans les régions présahariennes et subsahariennes.

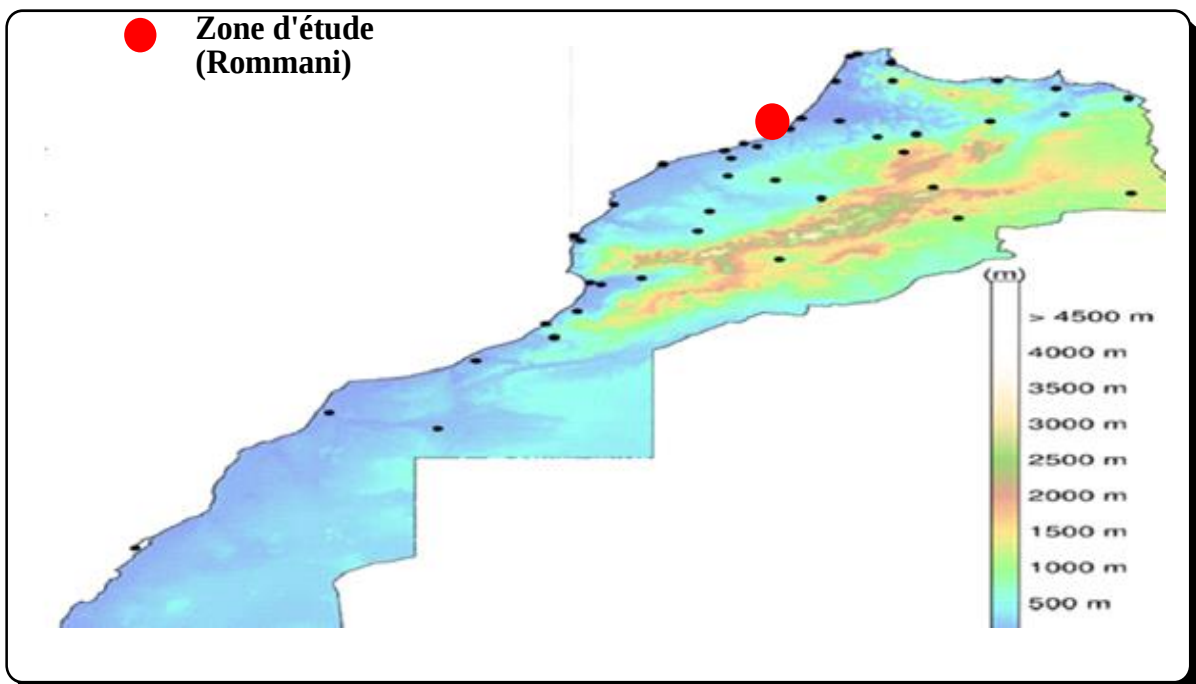


Figure 8 : Répartition du Pistachier atlantique au Maroc

I.5.6. Importance socio-économique et utilisations

Le *Pistachier atlantique*, est considérée comme une espèce désirable par plusieurs auteurs : Benhssaini, Belhadj, ... et Monjauze [64].

a. Valeur économique

Les populations locales apprécient les caractéristiques économiques du *pistachier atlas* :

- ❖ Un système racinaire robuste est présent dans le *pistachier atlantique*. Par conséquent, il offre une excellente opportunité de greffe pour le pistachier authentique (*Pistacia avéra*).
- ❖ Le bois se transforme en charbon et les cendres en savon. Le bois de Botma est utilisé dans la fabrication de piquets de tente et de charrues (petit Atlas). Il est également utilisé pour chauffer des endroits isolés.
- ❖ Le tannage implique l'utilisation de feuilles et de galls.
- ❖ L'encre est produite à partir du jus séché du tronc ("Smagh").

b. Importance en médecine traditionnelle

Les différentes parties de l'espèce *Pistacia atlantica* sont utilisées comme médicaments de divers endroits. Depuis longtemps, les Africains du Nord ont utilisé le pistachier de l'atlas en médecine traditionnelle. Il a une grande importance à la fois économique et pharmaceutique. Cet arbre a été identifié comme ayant des propriétés astringentes, antivirales, antibactériennes, anti-inflammatoires et antipyrétiques. Le traitement de l'eczéma, de la paralysie, de la diarrhée, des infections de la gorge, des calculs rénaux et de l'asthme est utilisé à partir de cette plante. En raison de son activité hypoglycémiante, le *Pistachier atlantique* fait partie des plantes largement recommandées par les herboristes. En médecine traditionnelle, cette plante est également utilisée pour soulager les douleurs abdominales supérieures, les courbatures et les courbatures de l'estomac, l'indigestion et l'ulcère peptique [65]. La résine est recueillie à partir de l'écorce du bois, est employée dans la médecine traditionnelle comme traitement antiseptique sur les blessures.

Un type de gomme est l'oléorésine de *Pistachier atlantique* naturelle que les humains mâchent qui est utilisée depuis longtemps pour traiter les ulcères d'estomac et renforcer les gencives, désodoriser l'haleine, les frissons, les maux d'estomac et combattre la toux. Le fruit de *P. atlantica* contiennent des huiles utilisées dans la fabrication du savon, il est utilisé aussi pour le tannage et pour l'alimentation.

Les fruits sont également utilisés pour traiter les problèmes gastro-intestinaux. L'huile du fruit est utilisée en ethnobotanique comme antidiarrhéique [66]. Les fruits sont utilisés comme repas après avoir été écrasés et mélangés à d'autres composants, ils sont utilisés localement comme

un antidiarrhéique. Tandis que la confiture est faite à partir de fruits verts. En Méditerranée et l'Anatolie de l'Est de la Turquie, Il est courant de préparer et de consommer les jeunes feuilles de *Pistachier atlantique* comme légumes [67]. Les feuilles sont également utilisées comme médicament gastrique. En raison de son effet diurétique la partie aérienne est souvent utilisée comme stimulant et pour traiter les maux de gorge, l'hypertension artérielle, la toux, la dermatite, la jaunisse, les coliques, et les calculs rénaux. De plus les galles comestibles de *Pistachier atlantique* et vendu sur les marchés, utilisé par les populations rurales comme agent d'embaumement. Le tableau 5ci-dessous résume certaines des applications les plus importantes.

Tableau 5 : Utilisations thérapeutiques dans le monde

Pays	Utilisation
Maroc	Feuilles Infection des yeux. Le tissu, le souffle, le désodorisant, la toux, le froid et les maladies de l'estomac sont renforcés par la résine [68].
Algérie	Les fruits peuvent soulager la toux, le stress, l'acidité et la diarrhée [69].
Jordanie	Fruits Maux d'estomac Feuilles Antidiabétique [70].
Grèce	Le bronzage, la saveur et l'utilisation des fruits comme aliment [61].
Iran	Résine, écorce : douleur aux joints, douleur aux dents, cicatrisation des blessures [71].

II. Méthodes d'extraction

Depuis l'antiquité. Les arabes ont contribué grandement au développement des méthodes d'extraction et de préparation aromatiques par évaporation, condensation et distillation aux mains de grands savants comme Ibn Sina qui l'a extrait de manière pure et concentrée, ainsi que Jaber Ibn Hayyan, qui fut le premier à séparer l'alcool par distillation. Les plus importantes de ces méthodes sont : Extraction par distillation, Extraction avec des solvants organiques, Extraction hydraulique, Extraction enzymatique, ...

Les huiles essentielles sont importantes pour la vie humaine en général, car elles sont une source essentielle dans divers domaines, car elles contiennent de nombreux composants nécessaires tels que des antioxydants, des vitamines et autres. Ci-dessous, nous expliquons les méthodes les plus importantes d'extraction des huiles.

Les produits bioactifs, ainsi que les huiles essentielles, peuvent être extraits du corps végétal à l'aide de différentes méthodes. Il existe plusieurs techniques, y compris la distillation à la vapeur d'eau, l'extraction des racines, des feuilles et des tiges par des solvants organiques, ainsi que la simple expression des fruits et l'enfleurage des fleurs. La méthode d'extraction doit être choisie en fonction du nombre d'entreprises qui l'utilisent et de la localisation histologique de l'essence de la plante [72].

II.1. Techniques d'extractions conventionnelles

Pour extraire des composés bioactifs et des huiles essentielles, une variété de procédures classiques distinctes et variées peuvent être utilisées en se basant sur des techniques ancestrales (Figure 9).

- ❖ Hydrodistillation
- ❖ Expression à froid
- ❖ Entraînement par la vapeur d'eau
- ❖ Expression
- ❖ Imprégnation....

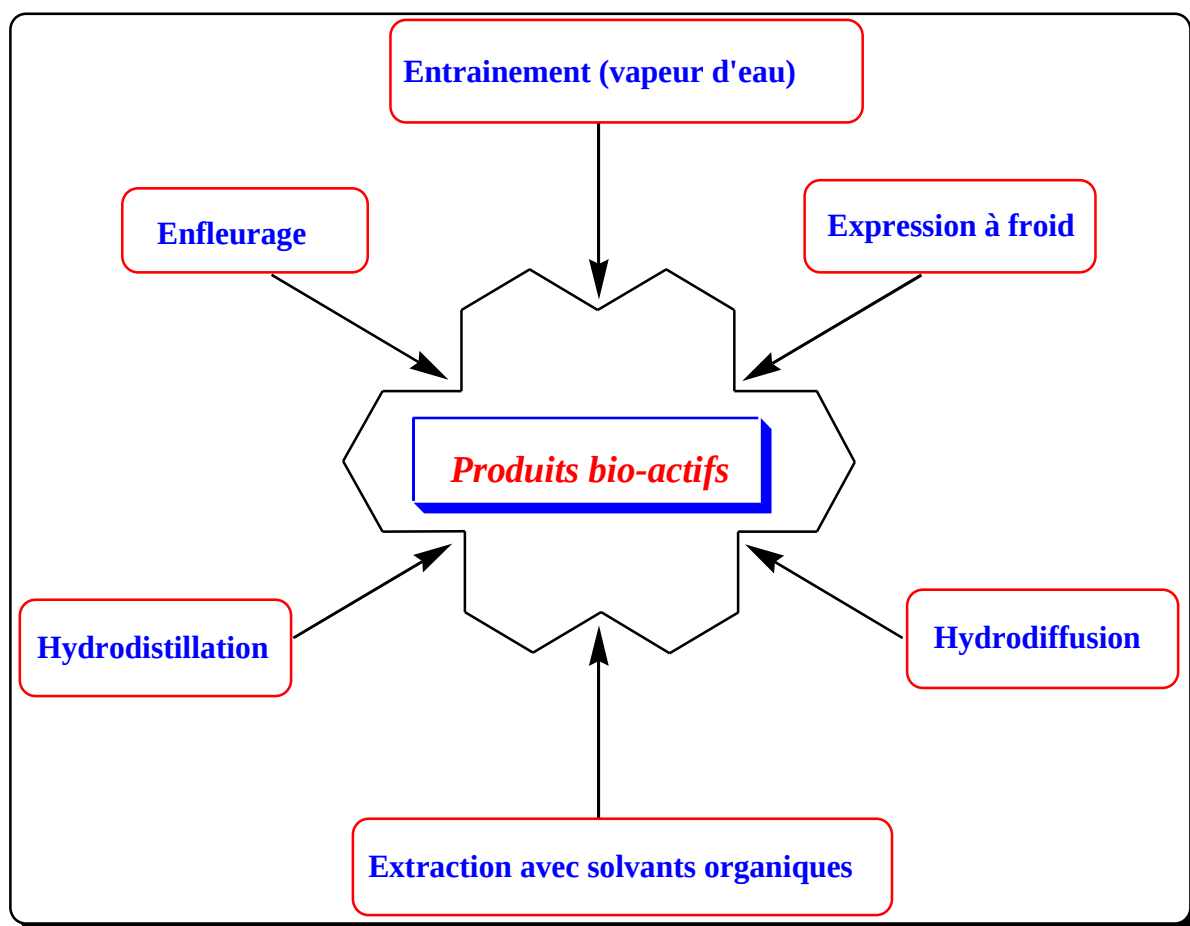


Figure 9 : Procédés conventionnelles d'extraction

a. Extraction par l'eau gazeuse

L'une des premières méthodes d'extraction des huiles essentielles est l'utilisation de l'eau gazeuse. Avec cette méthode d'extraction, un flux de vapeur ascendant ou descendant est appliqué sur la matière végétale sans macération. Il n'y a pas de contact direct entre l'eau et les matériaux végétaux dans cette méthode.

La vapeur d'eau est capable d'entraîner la majorité des composés odorants volatils des végétaux. Le tapis végétal repose sur une grille perforée est souvent traversée par la vapeur d'eau qui sort d'une chaudière (Figure 10).

La chaleur évapore l'huile essentielle à mesure que la vapeur traverse la matière végétale, formant un mélange "eau-HE". Le mélange est ensuite transféré au condenseur et à l'essencier qui sont des vases de décantation pour les HEs, puis il est divisé en deux phases : une aqueuse et autre organique. L'hydrolyse ou la dégradation, qui peuvent nuire à la qualité de l'huile, Ils sont évités par le fait qu'il n'y ait pas de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques [73].

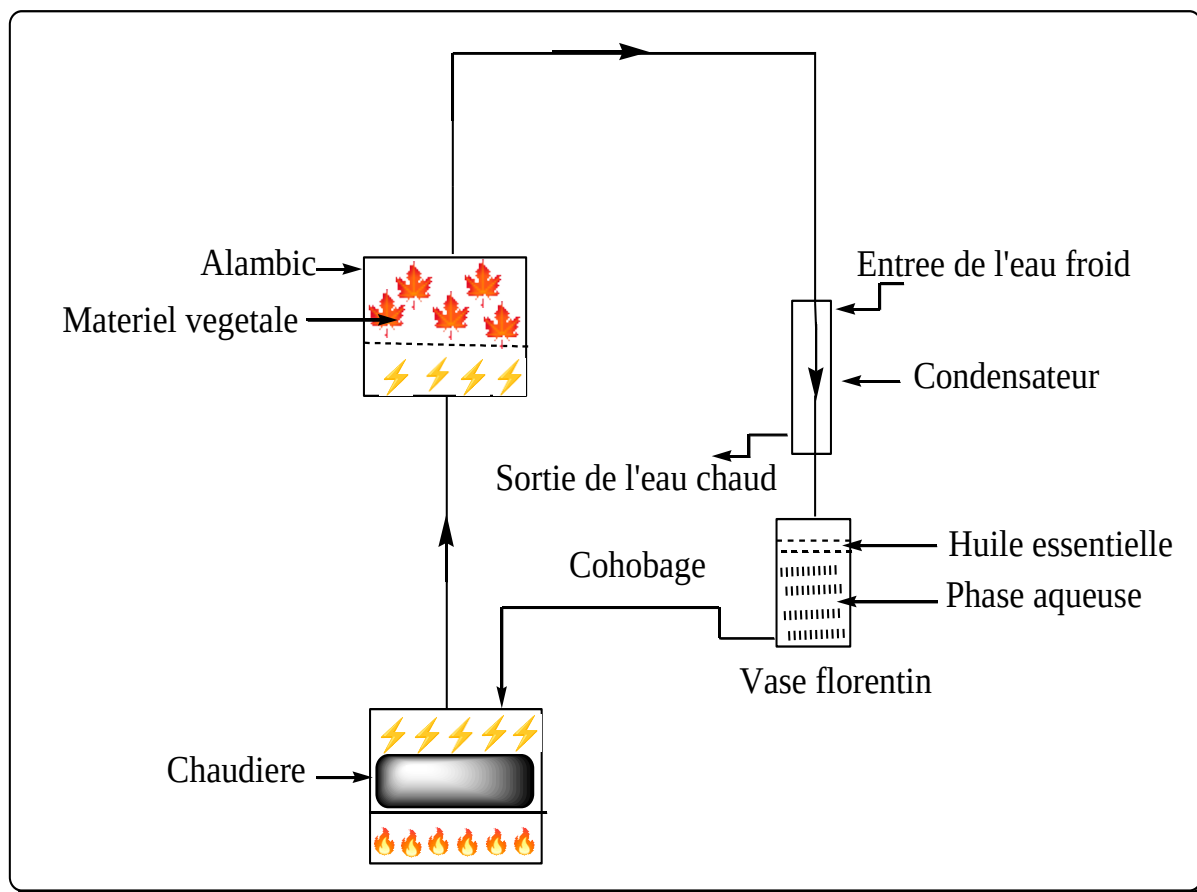


Figure 10 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau

b. Hydro-diffusion

L'hydro-diffusion est une sorte d'entraînement de vapeur (Figure 11). Au lieu de monter en hydro-diffusion, le débit de vapeur descend. Cette approche utilise la gravité pour extraire et compresser la combinaison de « vapeur d'eau – HE » dispersée dans toute la matière végétale, contrairement à l'entraînement de la vapeur d'eau.

L'avantage de l'hydro-diffusion est d'éviter le contact direct avec les matières végétales, et permet également d'économiser de l'énergie en réduisant le temps de distillation et la consommation de vapeur [74].

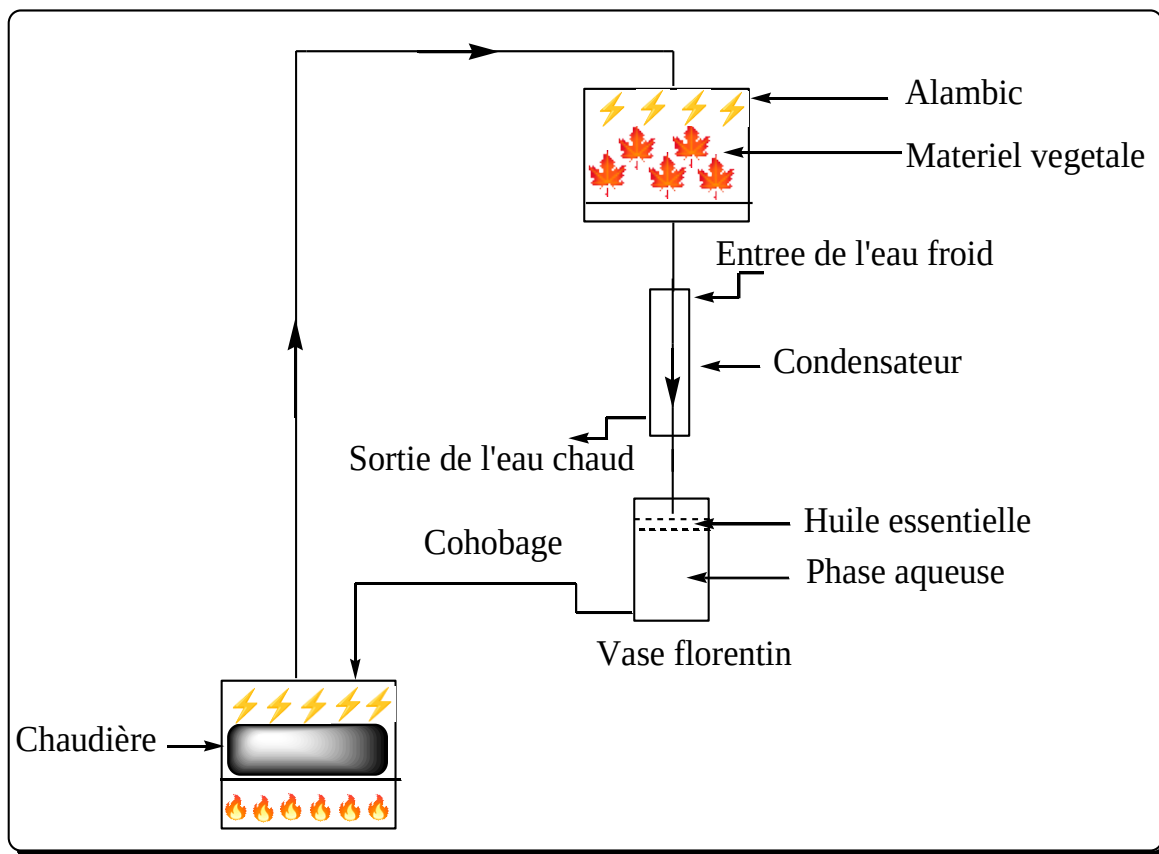


Figure 11 : Montage de l'hydro-diffusion

c. Hydrodistillation "HD"

L'une des méthodes les plus connues pour extraire les HEs des herbes sèches est l'hydrodistillation. Il s'agit d'immerger directement le matériel végétale dans un récipient (réacteur) rempli d'eau situé à proximité d'une source de chaleur (Figure 12).

Ensuite, tout cela est soumis à la pression de l'air. La chaleur fait émerger les molécules odorantes des cellules végétales et les libère. La vapeur d'eau combine ces molécules aromatiques pour créer un mélange d'azéotropes. Ensuite, ce mélange eau-HE est réchauffé et combiné à un essencier. Une fois condensée, l'eau et les substances aromatiques se divisent en une phase organique contenant de l'HE et une phase aqueuse en raison des différences de densité. Les eaux aromatiques obtenues lors de la décantation peuvent être utilisées pour la distillation avec ou sans cohobage [75].

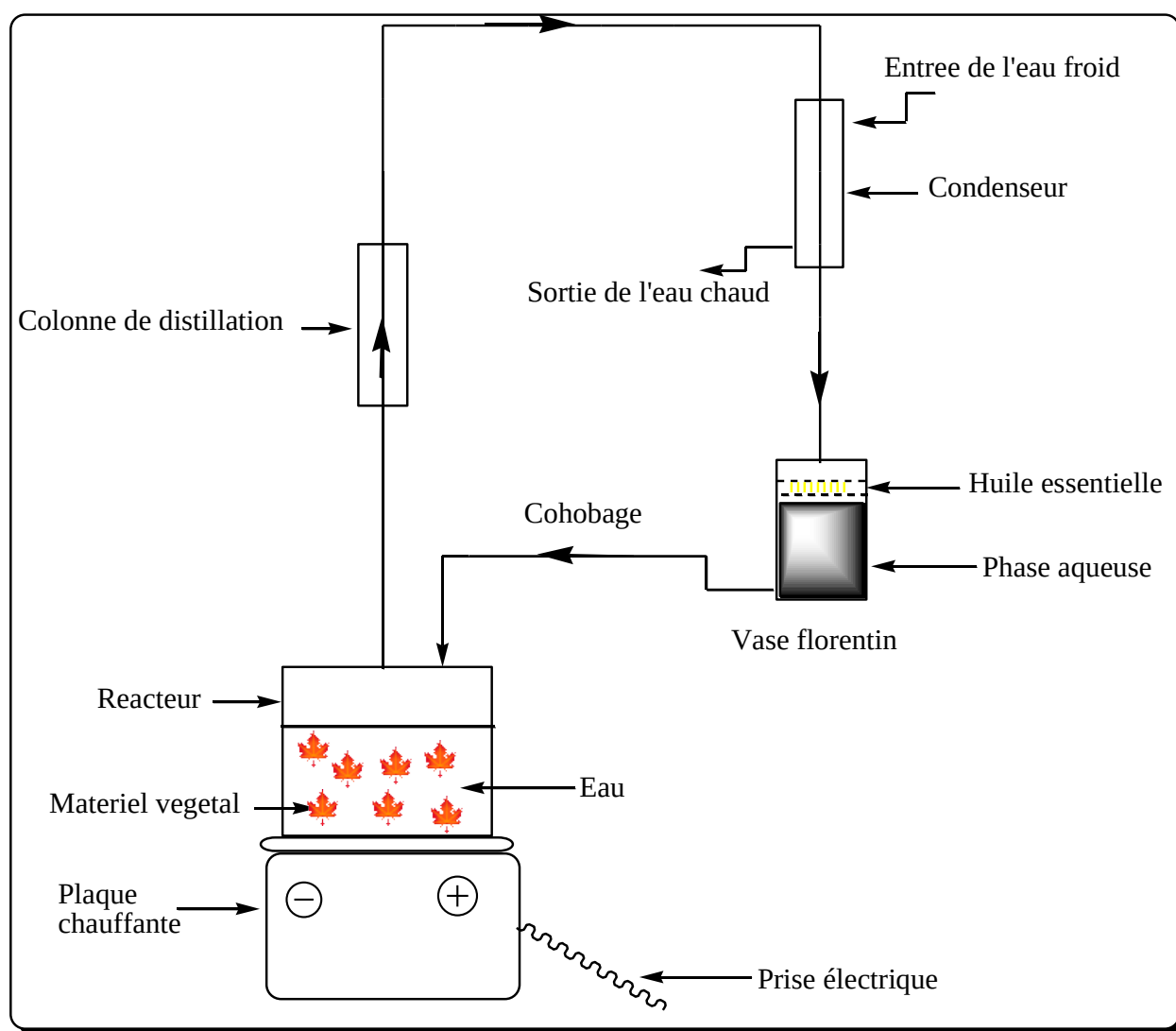


Figure 12 : Montage de l'hydrodistillation

d. Extraction par les solvants organiques

Pour les végétaux délicats comme les fleurs, l'extraction par solvant "classique" a été utilisée. Il utilise un Soxhlet pour mélanger le solvant et la substance végétale, puis le mélange est chauffé. Ensuite, le solvant est évaporé pour concentrer le filtrat.

Le concentré est soit une résine (résinoïde) soit une substance (un mélange d'huiles essentielles et de cire). Ensuite, cette substance peut être combinée avec l'alcool pur pour enlever l'huile, puis distillée à basse température.

Lorsque l'alcool est évaporé lors de la distillation, l'huile aromatique est récupérée. Cependant, Il convient de noter plusieurs inconvénients de cette stratégie. Il est vrai que les solvants organiques peuvent augmenter le risque de contamination par des substances impures souvent difficiles à éliminer. Il semble que le choix d'un solvant d'extraction soit quelque peu difficile

ici. Il doit être stable, avoir une température d'ébullition basse et ne pas réagir chimiquement avec la matière extraite pour faciliter l'élimination. La propanone, l'hexane, le benzène, l'alcool méthylique ou l'alcool éthylique sont quelques-uns des solvants pouvant être utilisés pour l'extraction.

e. Expression par voie froide

Le terme "à froid" fait référence à une extraction qui n'a pas été chauffée et qui est exclusivement destinée aux agrumes ou aux Hespérides.

La division du cortex abondant en cellules sécrétoires constitue la base mécaniste de cette intervention. Une émulsion d'eau et d'essence est ensuite créée par un jet d'eau qui entraîne l'huile essentielle. L'applaudissement et la décantation sont ensuite utilisés pour isoler l'essence [76].

f. Enfleurage

L'enfleurage est l'une des méthodes les plus anciennes. Cela dépend de l'affinité olfactive du grain en fonction de la capacité de la plante à résister à la chaleur, et deux méthodes sont utilisées dans ce système d'extraction : *l'imprégnation à froid et l'imprégnation à chaud* [77].

Les bouquets les plus fragiles, comme la tubéreuse, peuvent être manipulées à l'aide d'un enfleurage à froid. En pratique, les pétales sont déposés un à un sur des plaques vitrées recouvertes d'une fine couche de graisse sans odeur. Ensuite, les plaques sont apposées sur des châssis en bois. La couche de graisse absorbe et diffuse les produits chimiques volatils. Le grain est saturé d'essence végétale après quelques jours.

Périodiquement, les fleurs sont renouvelées 10 à 15 fois jusqu'à saturation du corps en graisse (2 kg de fleur pour 1 kg de graisse). Une fois le grain parfumé recueilli, il est bouilli, puis filtré et refroidi. Après avoir refroidi, une pommade florale ressemble exactement au parfum de la fleur et est ensuite remplie d'alcool.

Les fleurs moins délicates (comme la cassie, la rose de Mais, ...) sont infusées des huiles ou des graisses qui ne sentent pas pour l'enfleurage à chaud. Cette méthode est sur le point de devenir obsolète à la suite de ses coûts élevés et de la demande d'une grande quantité de travail.

II.2. Nouvelles méthodes d'extraction

Il a été démontré que les procédés d'extraction traditionnelles sont efficaces, mais également leurs limites en ce qui concerne la rentabilité, la qualité et la productivité des extraits.

En fait, ces procédés d'extraction peuvent entraîner la dégradation thermique de certains composés insaturés, et la perte de certains constituants.

Ces dernières années, de nouvelles méthodes basées sur la notion et les principes fondamentaux de l'extraction écologique ont été développées pour faire face à ces problèmes (Figure 13).

Les avantages de ces techniques incluent des temps d'extraction plus courts sans modifier la composition de l'extrait, une consommation faible d'énergie, l'utilisation d'une très petite quantité de solvant ou sans, etc.

On peut citer les procédures récentes suivantes basées sur les nouvelles technologies
L'extraction à l'aide d'ultrasons.

- ❖ L'extraction à l'aide d'un fluide supercritique.
- ❖ La distillation hydro-turbo.
- ❖ L'extraction contrôlée par détente instantanée.
- ❖

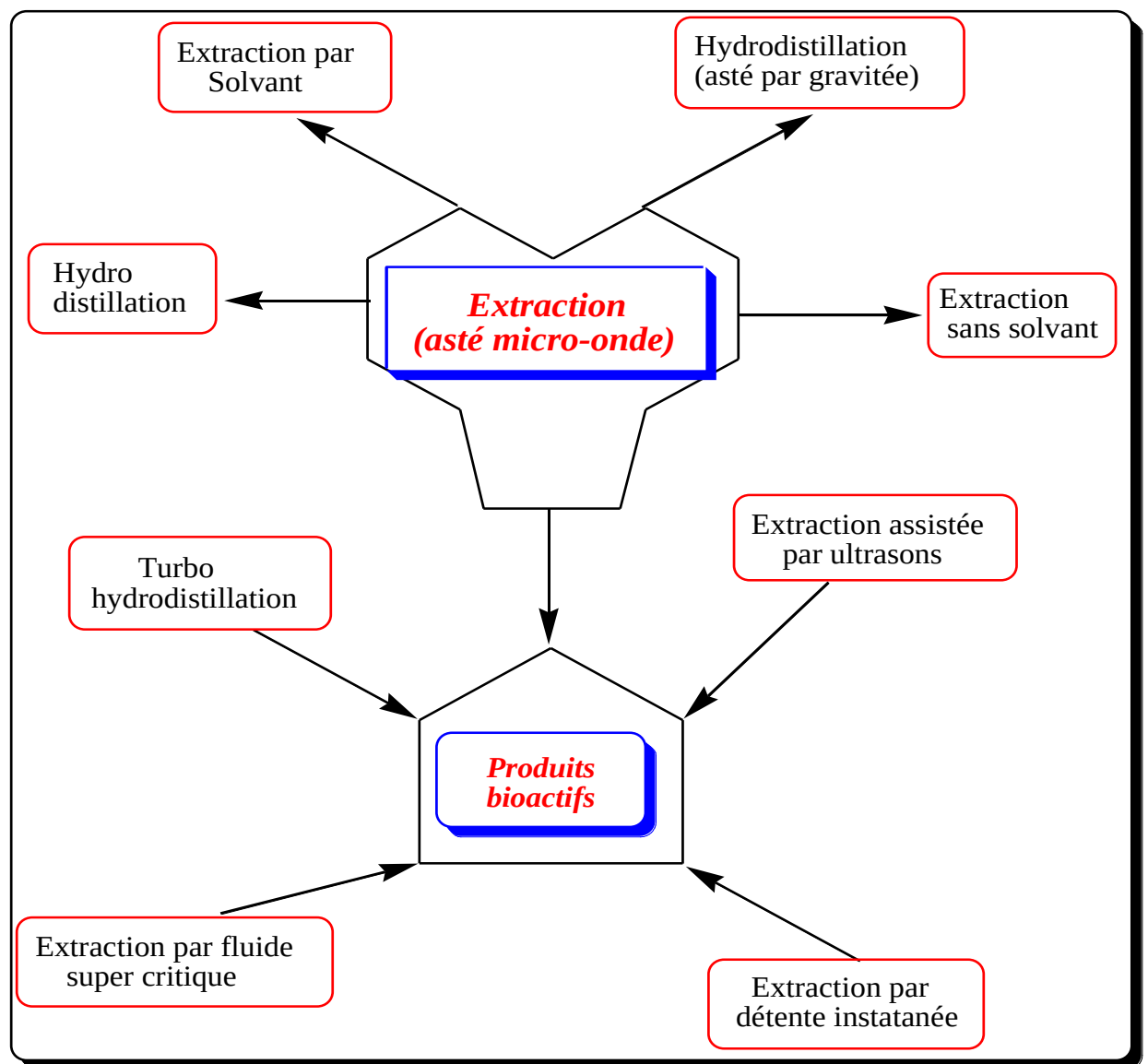


Figure 13 : Technique d'extraction récents des produits bioactifs

II.2.1. Distillation hydro-turbo (THD)

Le procédé THD est une méthode d'hydrodistillation continue. Son principe est de plonger la matière végétale dans un alambic, puis de la faire bouillir en continu sous pression atmosphérique et de l'agiter à en utilisant un mélangeur inoxydable (en acier). Cette méthode est un substitut à l'hydrodistillation à long terme ou à l'hydrodistillation par surpression. (Figure 14).

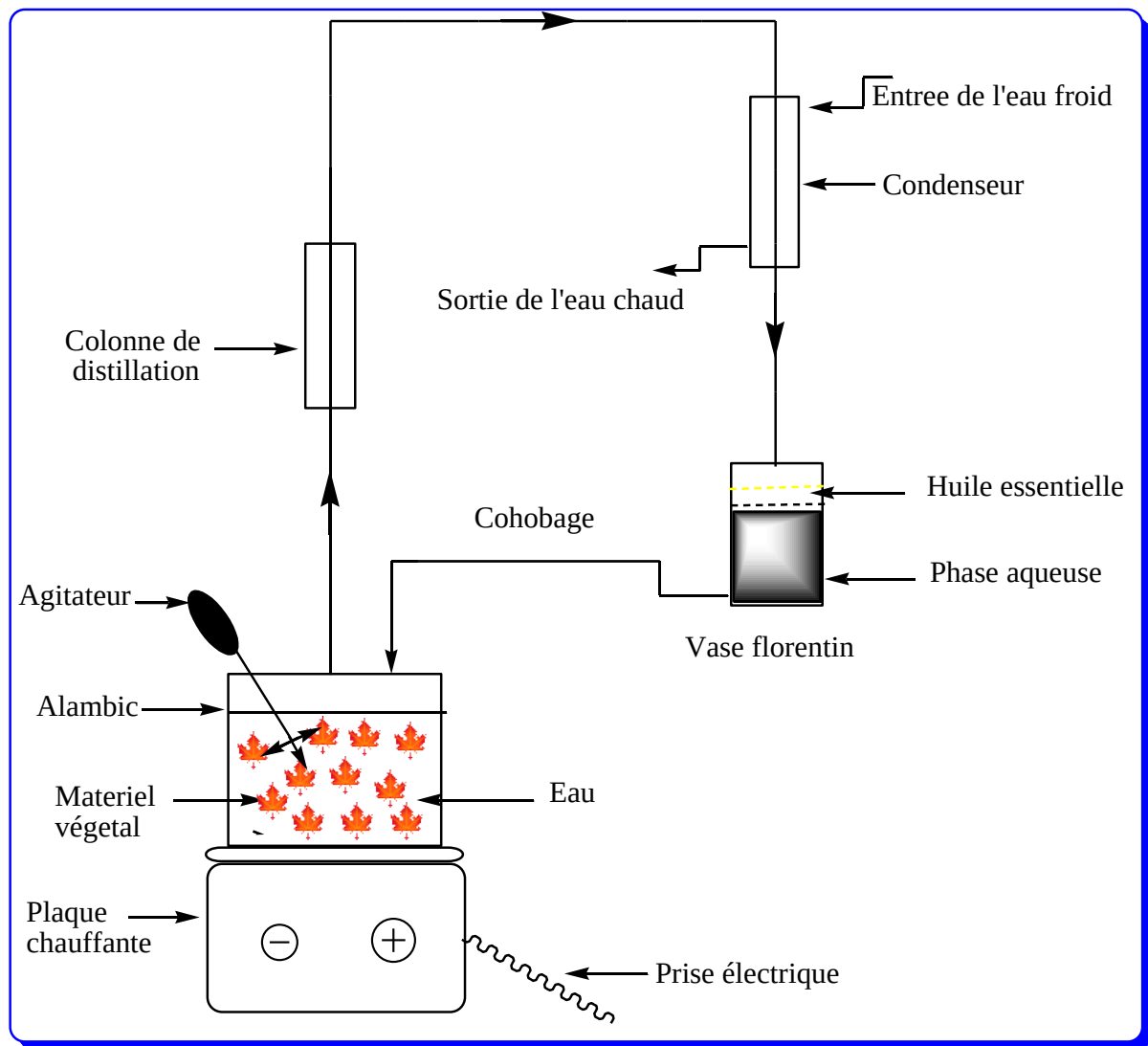


Figure 14 : Technique de la turbo hydrodistillation

L'alambic abritant les matières végétales est doté d'un appareil robotique qui peut effectuer à la fois une dilacération et une agitation turbulentes, ce qui entraîne une surface de contact plus grande et un coefficient de transfert thermique plus élevé. Cette approche utilise un mécanisme de condensation secondaire pour récupérer les composants les plus volatils, en plus de réutiliser l'eau des bassins de cohobage.

II.2.2. Extraction effectuée à l'aide d'un fluide supercritique

Il a été suggéré que les fluides supercritiques peuvent être utilisés comme alternative pour extraire les HEs. En raison de ses conditions critiques modérées, le fluide supercritique le plus populaire est le dioxyde de carbone (CO_2). À mi-chemin entre le gaz et le liquide, le CO_2 se trouve dans un état dit « supercritique » lorsque la pression est élevée et que la température dépasse 31°C . Le CO_2 est capable d'éliminer les composés aromatiques sous cette forme de la matière première, ce qui a pour avantage d'éliminer et de recycler facilement le solvant. Son principe de base est de remplir l'extracteur de végétaux, après avoir réfrigéré le CO_2 injecté sous pression. Lorsque la pression est réduite, le CO_2 revient à l'état gazeux et est transporté vers un séparateur, où l'extract et le solvant sont séparés. L'extract est décanté après évaporation du solvant pour obtenir l'absolu. Quant au dioxyde de carbone il est recueilli dans un condenseur et recyclé pour de nouvelles utilisations. Le schéma de cette méthode est illustré dans la figure 15.

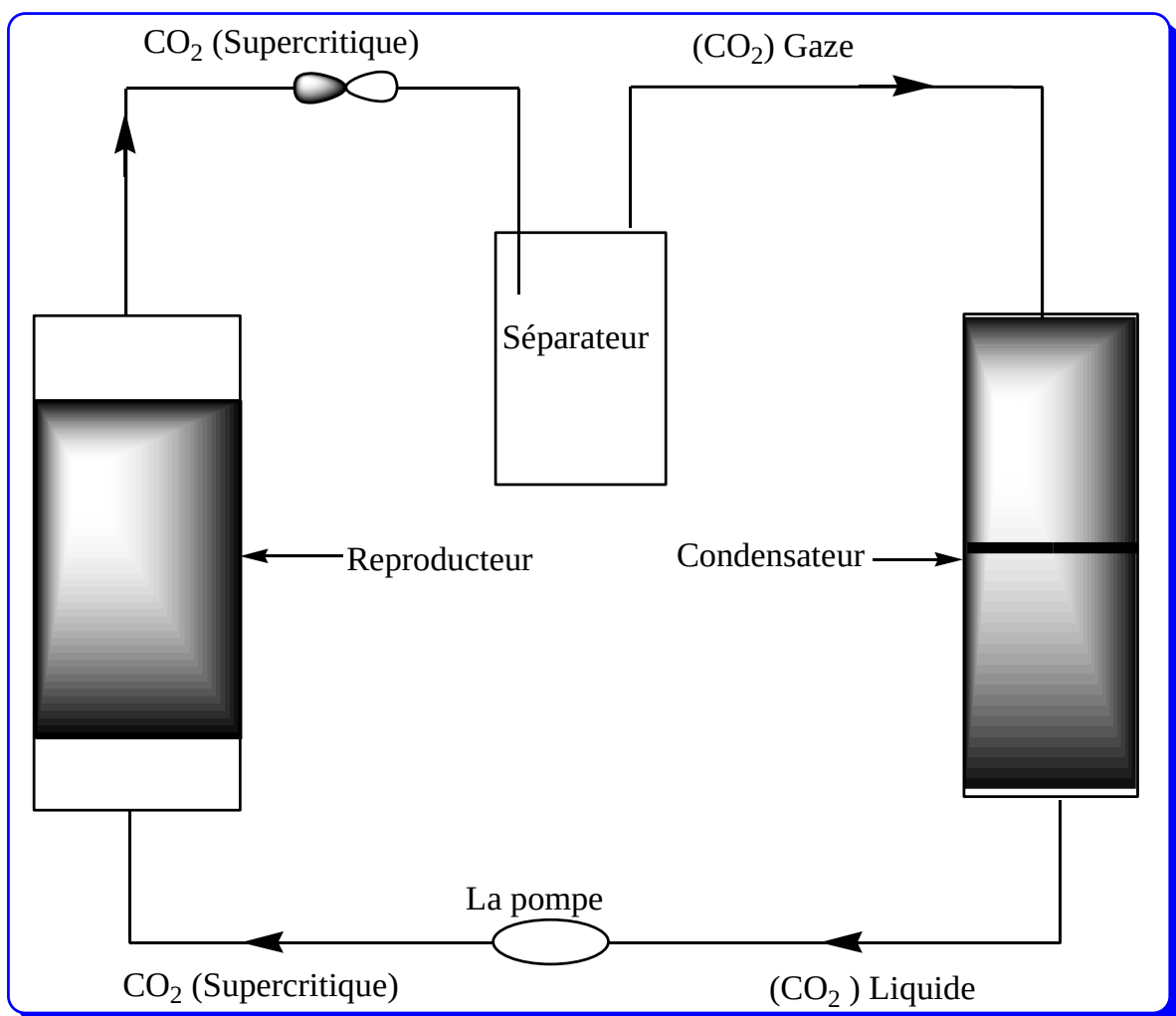


Figure 15 : Méthode d'extraction du CO_2 supercritique

II.2.3. Extraction contrôlée par détente instantanée (DIC)

Une méthode d'extraction-séparation pour une variété de polymères utilisés dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique est le processus de relaxation par expansion instantanée (DIC). Elle s'appuie sur la thermodynamique des processus d'instantanéité et d'auto-vaporisation combinée à l'évolution hydrothermo-mécanique. En vaporisant des produits chimiques volatils pendant une brève période à des températures élevées (180°C) et des pressions élevées (10 bars), suivi de plusieurs cycles de chutes de pression et d'auto-évaporations de la structure végétale, les éléments volatils peuvent être extraits grâce à cette technique d'extraction. En plus d'avoir une durée de chauffage extrêmement court à chaque cycle DIC, ce qui minimise la décomposition thermique, cette technique sans solvant augmente considérablement l'efficacité ou la consommation d'énergie. En résumé, l'extraction contrôlée par détente instantanée permet de produire de l'huile essentielle avec une qualité et des rendements supérieurs à ceux des techniques conventionnelles.

II.2.4. Extraction à l'aide d'ultrasons (EAU)

L'extraction à l'aide d'ultrasons est une nouvelle technologie qui vise afin d'économiser du temps et de l'énergie tout en augmentant l'efficacité et le rendement de l'extraction. La méthode consiste à immerger une plante dans de l'eau ou un solvant et à la soumettre simultanément à une activité ultrasonique. Lors de la sonication, les ondes sonores utilisées, qui varient de 20 KHz à 10 MHz, produisent des mouvements mécaniques qui ressemblent à des pistons à la surface du milieu, provoquant la cavitation après une série de phases de détente et de compression. Les micro-jets créés par les taureaux de cavitation sont utilisés pour détruire les glandes secrètes des huiles essentielles, permettant un transfert de masse et une libération des produits plus faciles.

Les paramètres de fonctionnement, tels que la fréquence, l'intensité, la température et le temps de traitement des ultrasons, ont un impact significatif sur cet effet de cavitation, qui est crucial pour le bon fonctionnement des sono-réacteurs.

L'extraction à l'aide d'ultrasons améliore le rendement et produit des huiles essentielles de très haute qualité avec une dégradation thermique minimale. D'autres techniques d'extraction telles que l'extraction par fluide supercritique, l'extraction par énergie des micro-ondes ou des techniques d'extraction traditionnelles telles que l'extraction Soxhlet peuvent être combinées avec cette méthode.

II.2.5. Extraction à l'aide de micro-ondes

La production de chaleur à distance fournie par les micro-ondes permet un chauffage plus ciblé et plus efficace. Il est désormais possible de terminer la distillation en quelques minutes plutôt qu'en quelques heures, avec plusieurs avantages conformes aux principes de chimie et extraction respectueuses de l'environnement.

Cette méthode est utilisée dans un appareil utilisant des micro-ondes pour extraire différents composants végétaux, avec ou sans solvants organiques ou dans l'eau. La fréquence électromagnétique utilisée par le rayonnement micro-ondes est comprise entre 300 MHz et 300 GHz. Les micro-ondes, dont les longueurs d'onde varient de 1 mm à 1 m, font partie des ondes infrarouges et radioélectriques du spectre électromagnétique.

Cependant, seul un petit nombre de fréquences peut être utilisé dans les secteurs de l'industrie, de la science et de la médecine pour ne pas perturber les radiocommunications et les radars, en général, les fréquences 0,915 et 2,45 GHz sont les plus utilisées à travers le monde, parce que les ondes électromagnétiques modifient la structure cellulaire et provoquent l'extraction.

Les principes de l'extraction à l'aide de micro-ondes diffèrent de ceux qui sous-tendent les méthodes d'extraction traditionnelles (solide-liquide ou extraction simple).

Le déplacement de masse et de chaleur dans la même sens, (vers l'extérieur du substrat), peut accélérer les processus et augmenter le rendement de l'extraction par micro-ondes grâce à une synergie de ces deux types de transfert. En revanche, la masse est déplacée vers l'extérieur lors de l'extraction traditionnelle, tandis que la chaleur est transférée dans le sens inverse vers l'intérieur du substrat. De plus, l'extraction par micro-ondes dissipe la chaleur volumétriquement vers l'environnement d'irradiation, tandis que l'extraction classique distribue la chaleur du fluide chauffant à l'échantillon.

Deux mécanismes sont impliqués dans le processus de chauffage à l'aide du micro-ondes qui transfèrent l'énergie : le mouvement des ions chargés dans la solution et le solvant, ainsi que la conduction ionique et la rotation dipolaire provoquées par l'inversion des dipôles.

Ces deux mécanismes peuvent être vus travailler ensemble dans une variété d'applications.

Lorsqu'un champ électromagnétique est appliqué, La conduction est le mouvement des ions lors de la migration électrophorétique, et la résistance du mélange à cette diffusion ionique provoque une chaleur dans la solution par frottement. Le processus rotation en deux directions consiste à réorganiser les dipôles en fonction des champs appliqués. La transmission d'énergie est le trait la plus importante du chauffage au micro-onde.

Dans la méthode traditionnelle de transfert de chaleur, l'énergie est transférée au matériau par convection, conduction et phénomène de rayonnement sur la surface externe du matériau quand il y a des gradients de température.

Cependant, lors de l'extraction par micro-ondes, l'énergie des micro-ondes est directement transmise aux matériaux via des interactions entre molécules avec le champ électromagnétique, où elle est transformée en énergie thermique.

a. Hydrodistillation assistée par micro-onde

La distillation hydroélectrique à micro-ondes suit le même principe que la distillation hydroélectrique traditionnelle, avec une partie de l'installation installée dans la micro-onde et une section externe comprenant le système de refroidissement et la section destinée à la récupération de l'essence (Figure 16).

De ce fait, la plante est immergée dans une quantité suffisante d'eau dans le réacteur situé dans la chambre de micro-onde. Comparé à l'hydrodistillation traditionnelle, ce procédé permet un temps d'extraction plus rapide, ce qui se traduit par un rendement plus élevé et une composition chimique similaire d'huile.

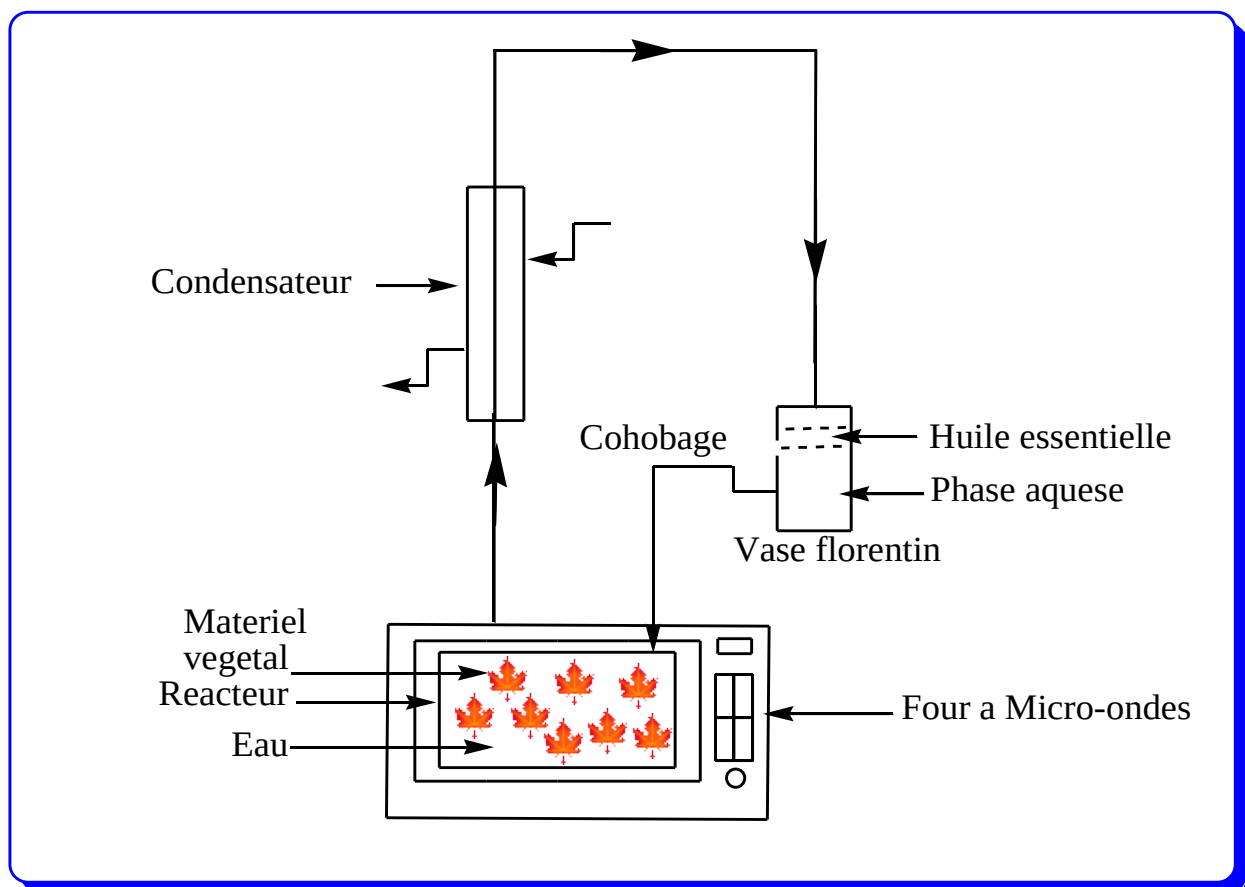


Figure 16 : Montage de l'hydrodistillation assistée par micro-ondes

b. Extraction par solvant avec micro-ondes

La technique d'extraction avec un solvant assistée à l'aide des micro-ondes (Figure 17) a été développée pour extraire une variété de composés, notamment les substances aromatiques provenant de plantes. Elle s'agit d'irradier une substance, qu'elle soit végétale ou non, avec des micro-ondes avant d'extraire des polaires ou d'extraire des apolaires à l'aide d'un solvant qui ne réagit pas aux micro-ondes (hexane par exemple). Par la suite, en 1990, cette approche a été brevetée en tant que procédure assistée par micro-onde.

Son principe est de traiter des matières végétales immergées dans l'hexane ou un autre solvant qui n'absorbe pas les micro-ondes par irradiation aux micro-ondes.

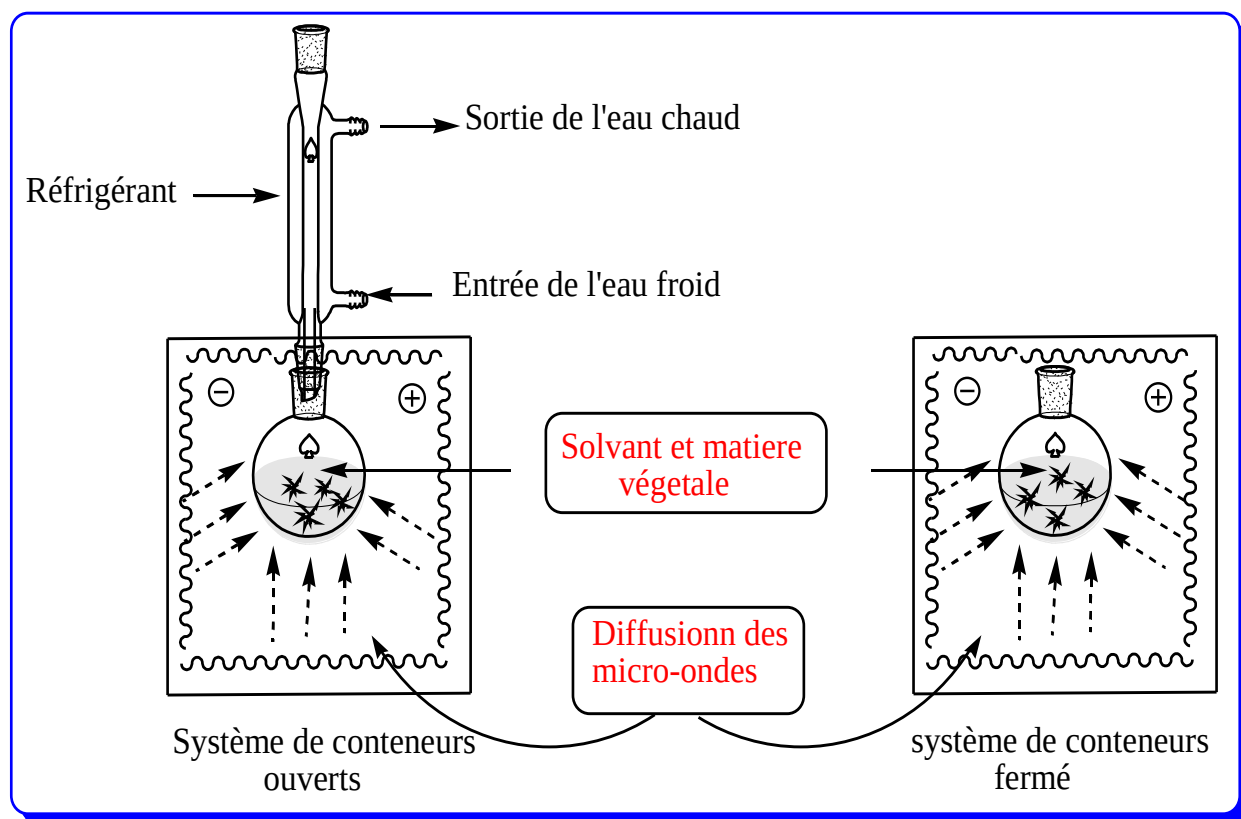


Figure 17 : Montage d'extraction par micro-ondes

Les glandes transportant les huiles essentielles se rompent plus rapidement que dans l'extraction traditionnelle quand les cellules d'huile végétale sont exposées à d'intense limitations techniques et à des forces (pression) localisées accrues car l'augmentation de la pression cellulaire d'huile végétale dépasse leur capacité d'expansion. Avant d'être extraits par extraction liquide-liquide, les composants volatils et les HEs se dissocient dans le solvant organique. Deux méthodes sont disponibles pour utiliser les micro-ondes avec des échantillons : un récipient ouvert à pression atmosphérique et un récipient fermé à température et pression régulées.

c. Hydro-diffusion à l'aide de la gravité et des micro-ondes

En 2008, Chemat et ses collègues ont breveté l'hydro-diffusion à l'aide de la gravité et des micro-ondes [78]. Cette nouvelle méthode a été développée pour extraire les huiles essentielles de diverses matrices végétales diffusées par l'hydro-diffusion utilisant un appareil capable de propager des rayonnements à micro-ondes sous pression atmosphérique (Figure 18).

Dans cette méthode, les matières végétales sont placées sous micro-ondes dans un réacteur sans incorporer d'eau ni de solvant organique. La rupture des glandes contenant des HEs est permise en chauffant l'eau de composition du matériau de première génération. L'hydro-diffusion est le processus par lequel les essences et l'eau contenues dans la matière végétale sont libérées et déplacées de la plante vers l'extérieur. Ensuite, Le mélange « eau-HE » est condensé dans un vase florentin à l'aide d'un système de refroidissement externe des micro-ondes. Grâce à cette méthode, il est possible de trouver des résultats comparables à ceux de l'extraction conventionnelle tout en obtenant un produit de bonne qualité avec une réduction du temps d'extraction et des économies d'énergie.

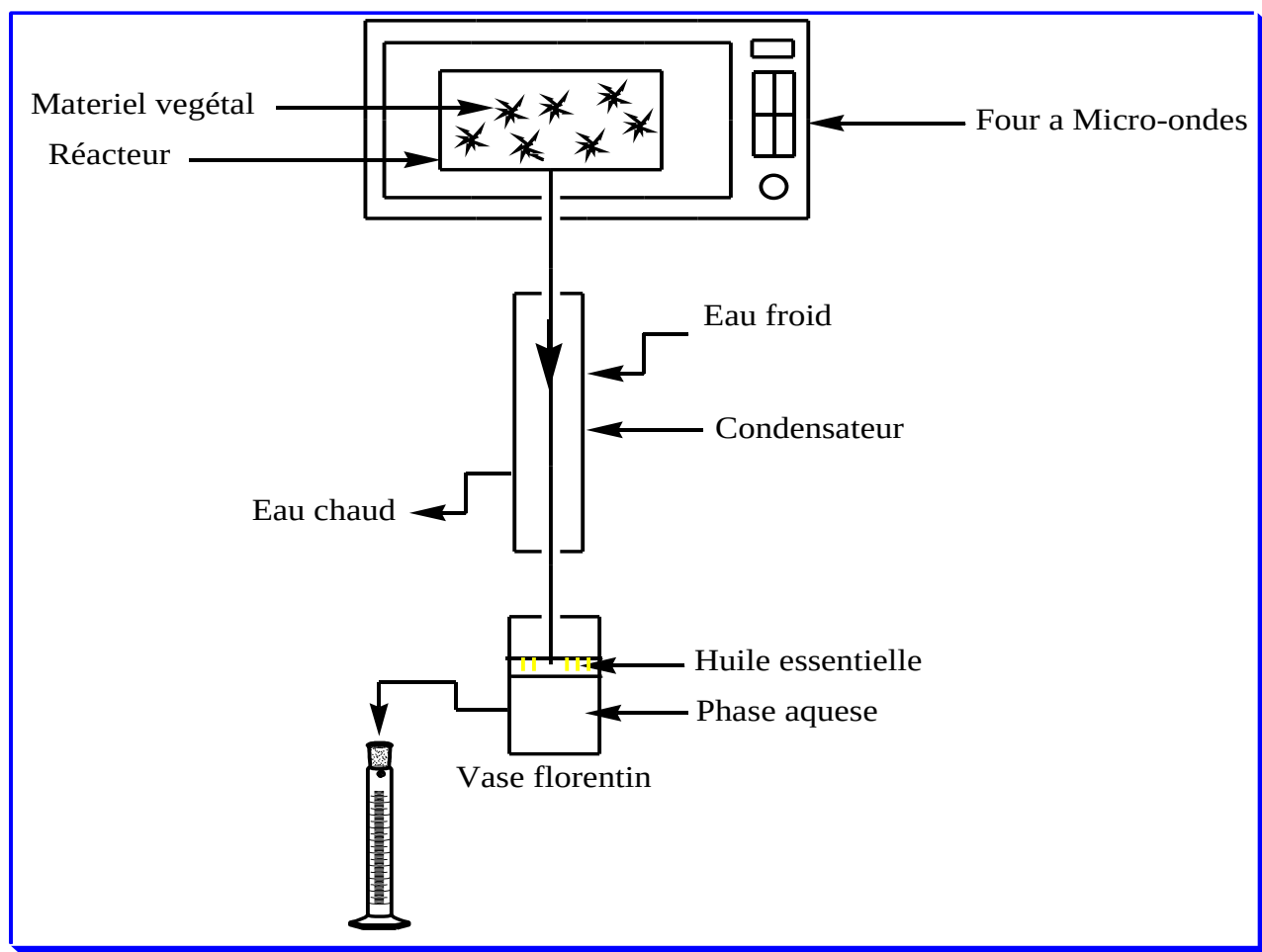


Figure 18 : Hydro-diffusion par micro-ondes

d. Extraction assistée par micro-ondes sans solvant (SFME)

Chemat [79] a développé et breveté une méthode d'extraction sans solvant appelée "Solvent Free Microwave Extraction (SFME)". En l'absence d'eau et de solvants organiques, cette nouvelle technologie permet la distillation sèche de produits naturels à l'aide d'un système de rayonnement à micro-ondes à pression atmosphérique (Figure 19).

Cette technologie, qui repose sur un principe relativement basique, consiste à placer des matières végétales brutes dans un réacteur sous micro-ondes sans solvant ni eau.

Les micro-ondes font chauffer l'eau du premier matériau, provoquant l'éruption des cellules de la plante et l'expansion des huiles essentielles, qui sont ensuite entraînés par l'eau vaporisée produite à partir de l'alimentation en eau interne de l'usine.

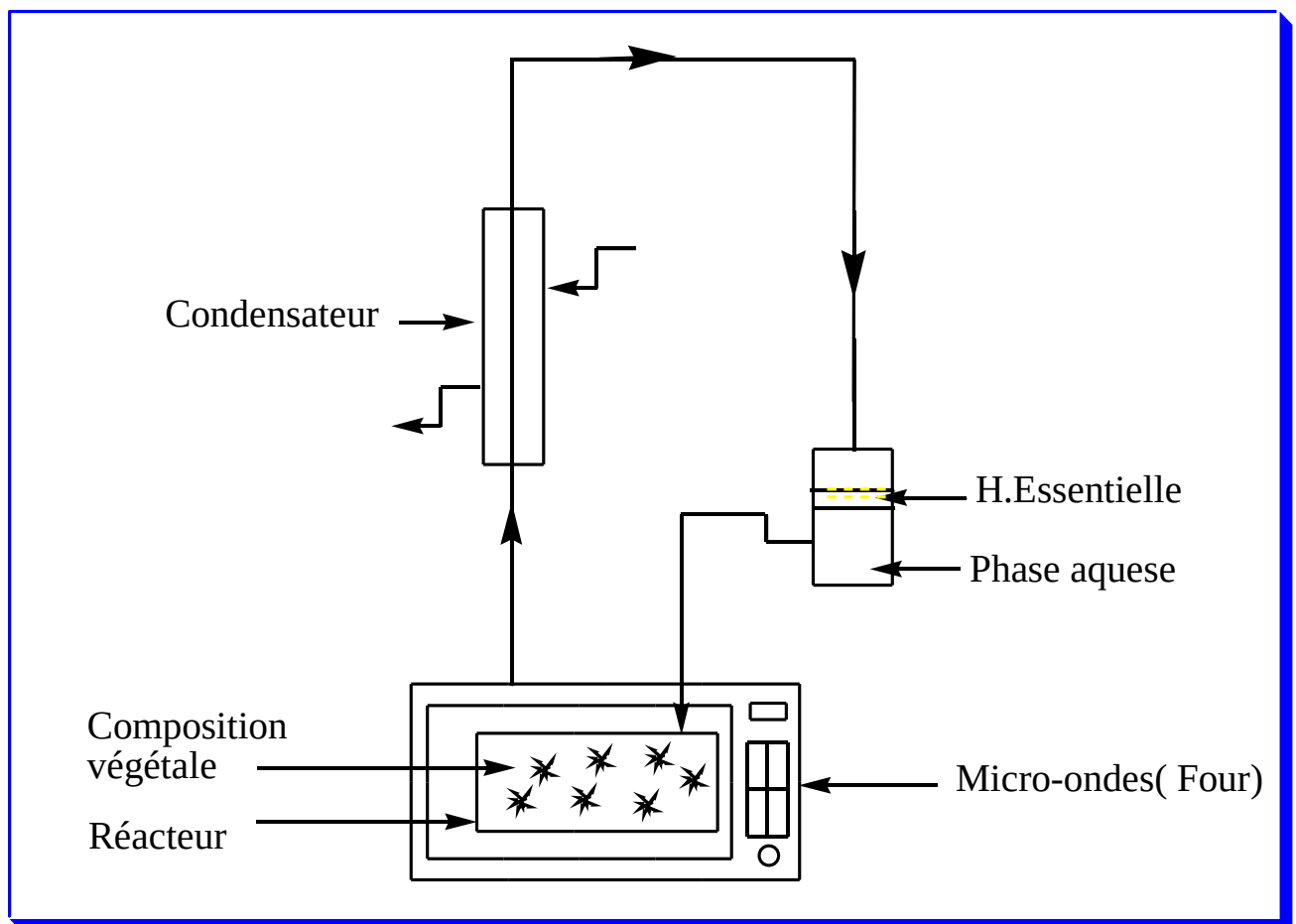


Figure 19 : Extraction assistée par micro-ondes sans solvant

Avant d'être prélevé dans un vase florentin, le mélange « Eau-HE » est condensé en continu via mécanisme de refroidissement à l'extérieur des micro-ondes. Un système de cohobage, qui maintient un niveau d'humidité approprié pour la grille de végétation, réintroduit l'excès d'eau de la phase aqueuse dans le réacteur.

II.3. Comparaison entre les extractions par micro-ondes et les extractions traditionnelles

L'extraction assistée par micro-ondes a été reconnue comme une technique pratique et efficace pour extraire des produits chimiques bioactifs à partir de matériaux végétaux. De nombreuses recherches ont comparé les techniques d'extraction classiques et contemporaines à l'extraction assistée par micro-ondes. Sur le tableau 6, une comparaison des méthodes d'extraction à la fois conventionnelles et assistées par micro-ondes sont présentées.

Tableau 6 : Comparatif des techniques d'extraction avec et sans micro-ondes

Techniques classiques	Techniques d'extraction par Micro-ondes assistées
La surface du récipient de réaction agit comme la source du mécanisme de chauffage.	Le contenu du réacteur est chauffé simultanément car il est transparent aux micro-ondes, ce qui provoque un chauffage volumétrique.
La source de chaleur doit être en contact physique avec le récipient.	Le réacteur n'est pas physiquement en contact avec la source thermique.
La source thermique est utilisée pour produire du chauffage.	Les ondes électromagnétiques sont utilisées pour chauffer.
La conduction suivie de la convection à l'intérieur du récipient est le mécanisme de chauffage.	La conduction ionique et la polarisation diélectrique sont les mécanismes de chauffage.
Pour faire réagir les espèces, l'énergie est transférée de la surface du récipient au mélange.	La surface sert de moyen de perte thermique tandis que le noyau du contenu est directement chauffé.
La même quantité d'énergie thermique est appliquée à chaque composant du mélange réactionnel.	Des niveaux de chaleur peuvent être appliqués aux éléments constitutifs du mélange réactionnel en fonction de leurs capacités respectives. Afin de prendre au micro-ondes.
Il faut plusieurs heures pour extraire.	Il faut quelques minutes pour l'extraire.
L'efficacité du chauffage est faible.	L'efficacité de chauffage est élevée.

De plus, en plus des nombreux avantages mentionnés dans le tableau 7, l'utilisation des micro-ondes pour l'extraction présente des avantages supplémentaires tels qu'un rendement d'extraction exceptionnellement élevé, une stabilité améliorée du produit, des produits bruts

authentiques, l'opportunité d'utiliser des solvants moins nocifs et une diminution de la consommation d'énergie et de solvants, atténuant ainsi l'impact environnemental [80].

L'extraction assistée par micro-ondes est économique, car l'installation de l'équipement est modérée et beaucoup moins chère que les autres méthodes d'extraction modernes et traditionnelles.

Cette procédure ne pose aucun problème de sécurité majeur car le plus grand nombre des extractions sont effectuées dans l'atmosphère. Mais Néanmoins, En raison de sa sélectivité limitée, de sa dépendance au type de solvant (les solvants apolaires n'absorbent pas les micro-ondes) et de sa température, l'extraction par micro-ondes présente certaines limites et restrictions. Bien que cette technique présente de nombreux désavantages, elle présente également de nombreux avantages. Les procédures d'extraction assistées par les micro-ondes sont généralement exceptionnelles en termes liés à l'efficacité de l'extraction, de stabilité et de reproductibilité, ainsi que de potentiel de maintien des propriétés fonctionnelles des composés bioactifs récupérés [81].

Le tableau 7 répertorie les avantages et les désavantages de plusieurs techniques d'extraction traditionnelles et de pointe.

Tableau 7 : Avantages et les inconvénients des différentes techniques d'extraction de pointe et traditionnelles

Les méthodes traditionnelles d'extraction	Nouvelles méthodes d'extraction
<u>Hydrodistillation par vapeur :</u> ❖ Production moyenne. ❖ Durée d'extraction prolongée. ❖ Il faut plus d'énergie pour le chauffage. ❖ Le potentiel de détérioration due à la chaleur.	<u>Extraction assistée par micro-ondes :</u> ❖ La destruction thermique est faible ❖ Rendement supérieur, ❖ Temps d'extraction réduit et consommation d'énergie inférieure par rapport aux méthodes de distillation. ❖ La destruction thermique est minime.
<u>Extraction à l'aide de solvants :</u> ❖ Il est possible qu'il y ait des débris de solvant. ❖ Le potentiel de détérioration thermique.	<u>Extraction par fluide supercritique :</u> ❖ Temps d'extraction réduit. ❖ Le rendement a augmenté. ❖ Le fluide supercritique coûte cher.
<u>Expression à froid :</u> ❖ Taux de rendement bas.	<u>Le processus d'extraction par détente instantanée contrôlée (CID)</u>

❖ La durée d'extraction est moyenne. ❖ La problématique de purification.	❖ Taux de production élevé. ❖ L'extraction prend moins de temps. ❖ L'équipement est vraiment cher.
<u>Enfleurage :</u> ❖ Durée d'extraction prolongée. ❖ Cot élevé. ❖ Le Taux de rendement est faible.	<u>Extraction assistée par Ultrasons :</u> ❖ Rendement amélioré. ❖ Temps d'extraction réduit. ❖ Détérioration thermique réduite.

De plus, les HEs d'un large éventail d'espèces de plantes fraîches et sèches ont été extraites à l'aide d'une extraction assistée par micro-ondes, qui s'est avérée être une méthode fiable et efficace.

À titre d'exemple, le tableau 8 répertorie les plantes dont les huiles essentielles ont été extraites à l'aide des procédés HD et SFME ainsi que les paramètres d'extraction.

Tableau 8 : Données de la littérature sur certaines HE utilisant HD et SFME

Nom de l'espèce	Conditions d'extraction	Références
<i>Lavande :</i> Lavandula hybribia	Pour 10 minutes, 125 grammes sont mélangés à de l'eau (250 grammes + 3 litres d'eau -HD), avec une puissance de 500 W et une durée de 30 minutes (90 minutes - HD). % était de 5,4% - (4,55% -HD).	[82]
<i>Fenouil :</i> Foeniculum vulgare Mill	100 grammes mélangés à de l'eau pour 20 minutes (100 grammes avec 1 litre H₂O, P (atm), avec une puissance de 600 W, et une durée de 37 minutes (3 heures pour L'HD). % est 0,46% - (0,46% -HD)	[83]
<i>Galbanum :</i> Ferula gummosa Boiss	150 g avec 2 L H₂O, P (atm), avec une puissance de 800 W et 50 g dans	[84]

	l'eau pendant une heure (3,5 heures HD). % = 0,4 % - (0,32 % -HD).	
Millepertuis : Hypericum perforatum L	100 grammes mélangés à de l'eau pour une heure (100 grammes + 2 L (H ₂ O), P (atm), une puissance de 468 W, et une durée de 33 minutes (4 heures -HD). % équivaut à 0,36% - (0,08% - HD).	[85]
Poid d'Angole : Cajanus cajan L	200 g dans 1,5 L H ₂ O -HD, infusés pendant une heure dans la pression atm, 660W, avec t= 44min (5h -HD) et % = 0,33% - (0,29% -HD)	[86]
Fougère : Dryopteris fragrans	200g mélangés à de l'eau pour une heure (200g avec 1,5 L H ₂ O - HD), pendant une demi-heure dans la pression atm, 520W, (5h - HD), et % = 0,33% - (0,29% - HD)	[87]
Pamplemousse : Citrus paradisi L	250 g, (250 g avec 2 L H ₂ O -HD), P (atm) ,85 W. Avec une durée de 20min (3 h pour L'HD) %= 0,44% (0,42% pour L'HD)	[88]
Myrte : Myrtus communis L	200g, (200g + 1,5L H ₂ O pour L'HD), dans une pression atm, et une puissance de 1KW. Avec une durée de 30min (3 h- HD) % = 0,33% - (0,32% -HD)	[89]
Romarin : Rosmarinus officinalis L	200 g, (200 g + 2 L H ₂ O dans la pression atmosphérique, avec une durée de 30 min pour L'HD), et 1KW (3 heures -HD) % = 0,56 % - (0,55 % - HD).	[90]

<i>Pin maritime :</i> Pinus pinaster	150 g, (500 g dans 9 L H ₂ O - HD), pendant une heure dans la pression atm, 600 W, (8 hours - HD) % = 0,41% - (0,27% - HD)	[91]
--	--	------

Le processus SFME est avantageux par rapport à l'hydrodistillation traditionnelle, selon les données du tableau précédent :

- ❖ **Quantitative** : Les taux de production sont similaires ou supérieurs aux résultats de l'hydrodistillation traditionnelle.
- ❖ **Qualitatif** : Les composants les plus importants pour l'olfaction sont les composés oxygénés, que l'on retrouve en concentration plus élevée dans les HEs produites par le SFME.
- ❖ **Temps d'extraction** : par rapport à l'hydrodistillation traditionnelle, le temps d'extraction du SFME est nettement plus court.
- ❖ **Economique** : La procédure est plus efficace en termes de temps, d'énergie et de dépenses en raison du temps d'extraction.
- ❖ **Pour l'environnement** : L'eau ou les solvants organiques ne sont pas utilisés par SFME.

II.4. Composition chimiques et rôles des huiles

Les huiles essentielles sont des composés qui sont extraits des fleurs, des fruits, des feuilles ou des graines pour obtenir une huile hautement concentrée qui peut être inhalée, massée ou ajoutée aux cosmétiques.

Il a été prouvé que les huiles essentielles ont un fort effet antibactérien et bactéricide, car elles sont considérées comme un puissant désinfectant et bactéricide, et éliminent les maladies et les infections.

Il existe plus de 90 types d'huiles essentielles, chacune avec un parfum unique et des avantages potentiels pour la santé. Voici une liste de six (6) huiles essentielles populaires et leurs avantages pour la santé associés :

- ❖ *Huile de menthe poivrée* : utilisée pour augmenter l'énergie et faciliter la digestion.
- ❖ *Huile de lavande* : Utilisée pour soulager le stress.
- ❖ *Huile de rose* : Utilisée pour améliorer l'humeur et réduire l'anxiété.
- ❖ *Huile de camomille* : Utilisée pour améliorer l'humeur et la relaxation.
- ❖ *Huile d'arbre à thé* : Elle est utilisée pour combattre les infections et renforcer l'immunité.
- ❖ *Huile de jasmin* : utilisée pour aider à lutter contre la dépression.

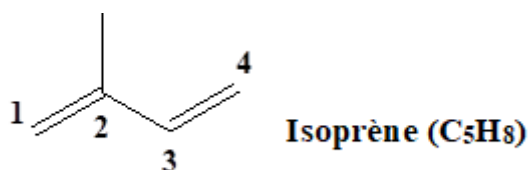
❖ *Huile de citron* : Elle est utilisée pour aider à la digestion et pour les maux de tête.

II.4.1. Les terpènes

Les terpènes sont le plus grand groupe de produits chimiques et se caractérisent par de très nombreuses qualités et propriétés, pour cette raison ils sont généralement utilisés dans les traitements et les guérisons de maladies. Par exemple, les terpènes les plus connus sont le limonène (c'est un antiviral et se trouve à 90% dans les huiles acides), et pinène (c'est un désinfectant et il est abondant dans l'huile de pin et la térébenthine) et d'autres que l'on trouve dans l'essence de camomille, et ces huiles ont des propriétés anti-allergiques et antibactériennes, etc. Les terpènes ou 3-méthyl-1,3-butadiène sont connus comme les plus petites molécules organiques qui ont une grande diversité dans leur composition, ce sont des lipides qui ont théoriquement leur origine dans de multiples unités de poly-isoprène.

L'isoprène est composé de 5 atomes de carbone divisés en deux parties :

- i) **Première partie** : Est composé de trois atomes de carbone, dans lequel le carbone numéro un (1) est appelé tête d'isoprène.
- ii) **Seconde partie** : Composé de deux atomes de carbone, et l'atome numéro quatre (4) s'appelle la queue.



Les unités d'isoprène sont reliées pour former des terpènes via la liaison tête-queue comme selon le mécanisme réactionnel suivant (Figure 19) :

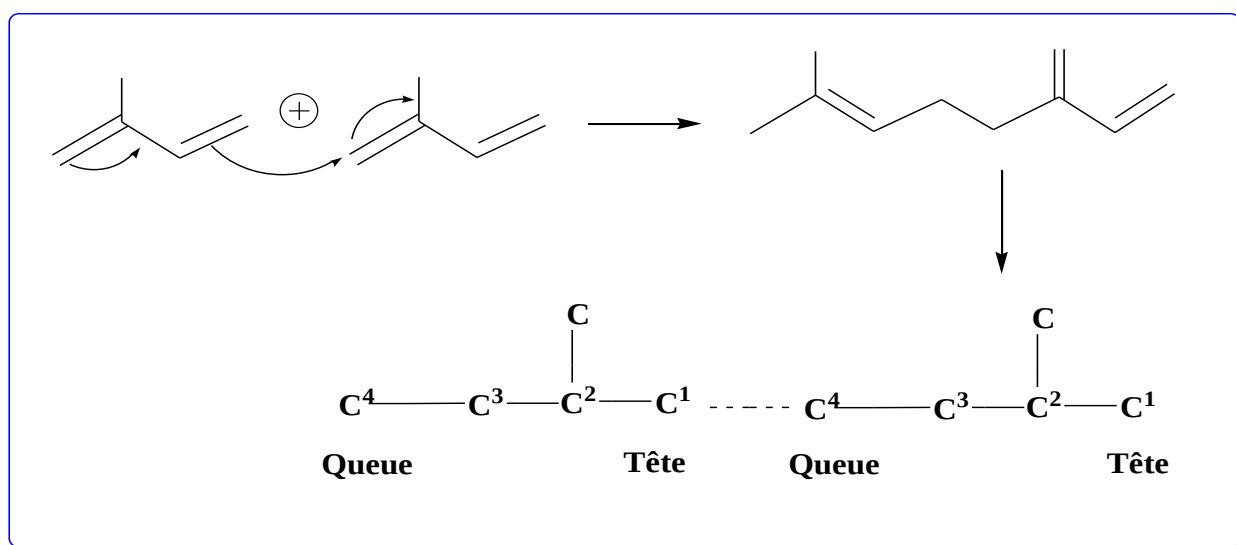


Figure 20 : Mécanisme de formation des terpènes

Les huiles essentielles sont des huiles volatiles à bas point d'ébullition qui contiennent des monoterpènes, des sesquiterpènes et parfois des diterpènes. Les parfums des plantes sont souvent causés par les terpènes [92].

Les terpènes se présentent sous une large gamme de formes et de tailles. Ils pourraient être non cycliques (tels que citronellol, géraniol, linalol...) ou monocycliques (tels que thymol, menthol, terpinol...) ou bicycliques tels que le bornéol, et comprendre la majorité des groupements chimiques de la matière organique (tels que l'aldéhyde, l'alcool, la cétone...).

De plus, des monoterpènes qui ont une chaîne cyclique ou aliphatique avec une fonction ester peuvent être trouvés dans les extraits de plantes, par exemple, nous mentionnons l'acétate de méthyle, l' α -terpényle, etc. Il existe également d'autres composés phénoliques tels que le 1,8-cinéole, le carvacrol, le thymol, et l'eugénol.

Les figures 20 et 21 montrent plusieurs structures monoterpènes et sesquiterpènes.

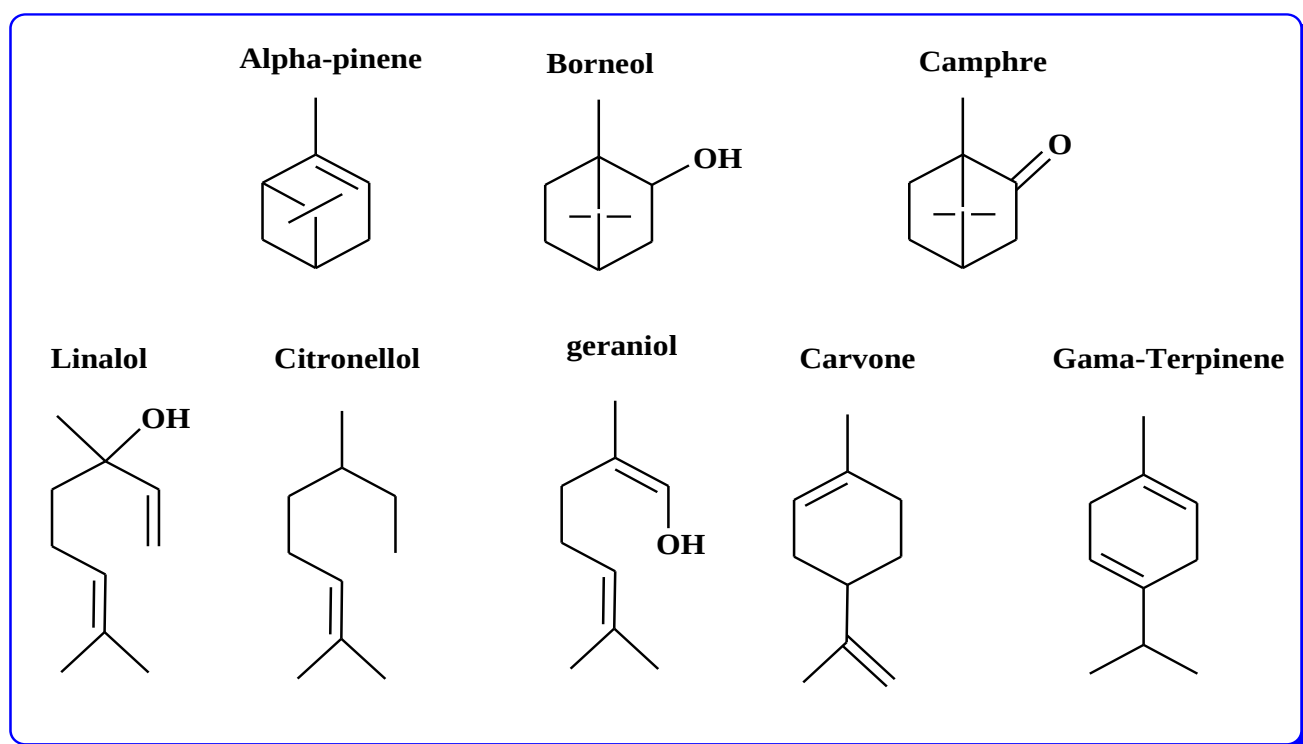


Figure 21 : Quelques monoterpènes cycliques et acycliques présent dans les huiles

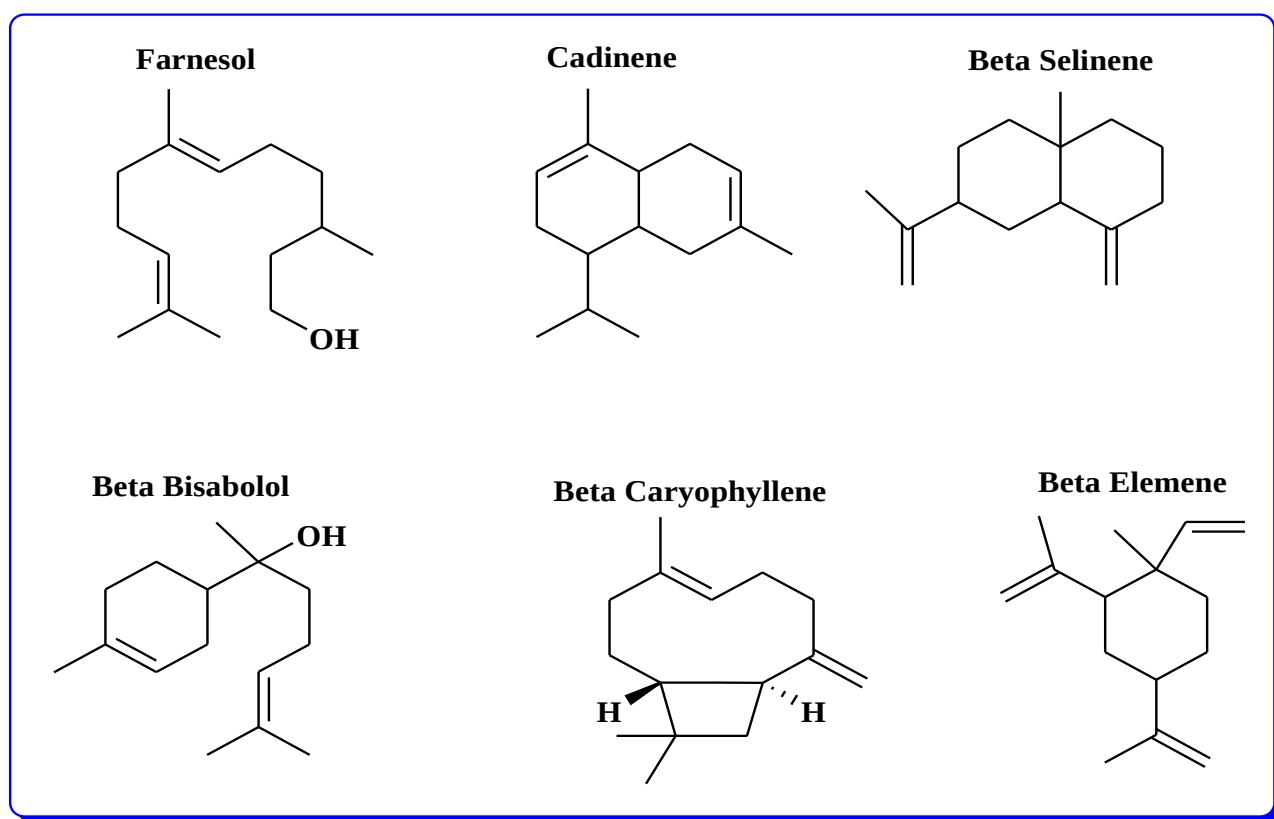


Figure 22 : Quelques sesquiterpènes présent dans les huiles essentielles

II.4.2. Composés aromatiques

Les pharaons ont été les premiers à utiliser les huiles essentielles pour soigner et renforcer leur corps, ils avaient l'habitude de la masser après avoir pris une douche, et ils utilisaient également de l'huile de cumin pour réussir la grossesse.

Les Chinois utilisaient également la médecine des huiles aromatiques dans les périodes historiques anciennes et à une époque proche de l'époque des pharaons.

Les Grecs ont également continué à utiliser les huiles essentielles pour la médecine et les cosmétiques, et le célèbre médecin grec (Distordis) a écrit un livre sur les herbes et plantes médicinales, et il est encore utilisé comme référence médicale occidentale à ce jour.

Les molécules aromatiques produites à partir du phénylpropane (C_6-C_3) sont moins fréquentes dans les huiles essentielles que les terpènes, bien qu'elles puissent également avoir diverses fonctions. La plupart du temps, ce sont des allyles et des propénylphénols. Les molécules aromatiques sont essentielles au métabolisme de tous les êtres vivants. Les hydrocarbures aromatiques tels que le benzène, le toluène, le xylène et le naphthalène sont vitaux dans l'industrie. J'ai compilé plusieurs exemples de dérivés de phénylpropane rencontrés dans les HEs dans la figure 22 pour démontrer leur variété structurale. L'anéthol, l'eugénol, le méthyl

chavicol ou l'estragol sont des exemples de produits chimiques odorants de cette famille. Ils sont fréquents dans les HEs d'apiécée, tels que l'anis, le fenouil, le persil. Cependant, les clous de girofle, l'estragon, le basilic et la vanille sont différents. Ils diffèrent les uns des autres comme suit :

- ❖ Le nombre de groupements hydroxyle et méthoxy, ainsi que leur localisation.
- ❖ La position de la double liaison, allylique ou propényle, dans la chaîne latérale.
- ❖ Le degré auquel une chaîne aliphatique (aldéhyde, acide, alcool, cétone, etc.) a subi une oxydation.

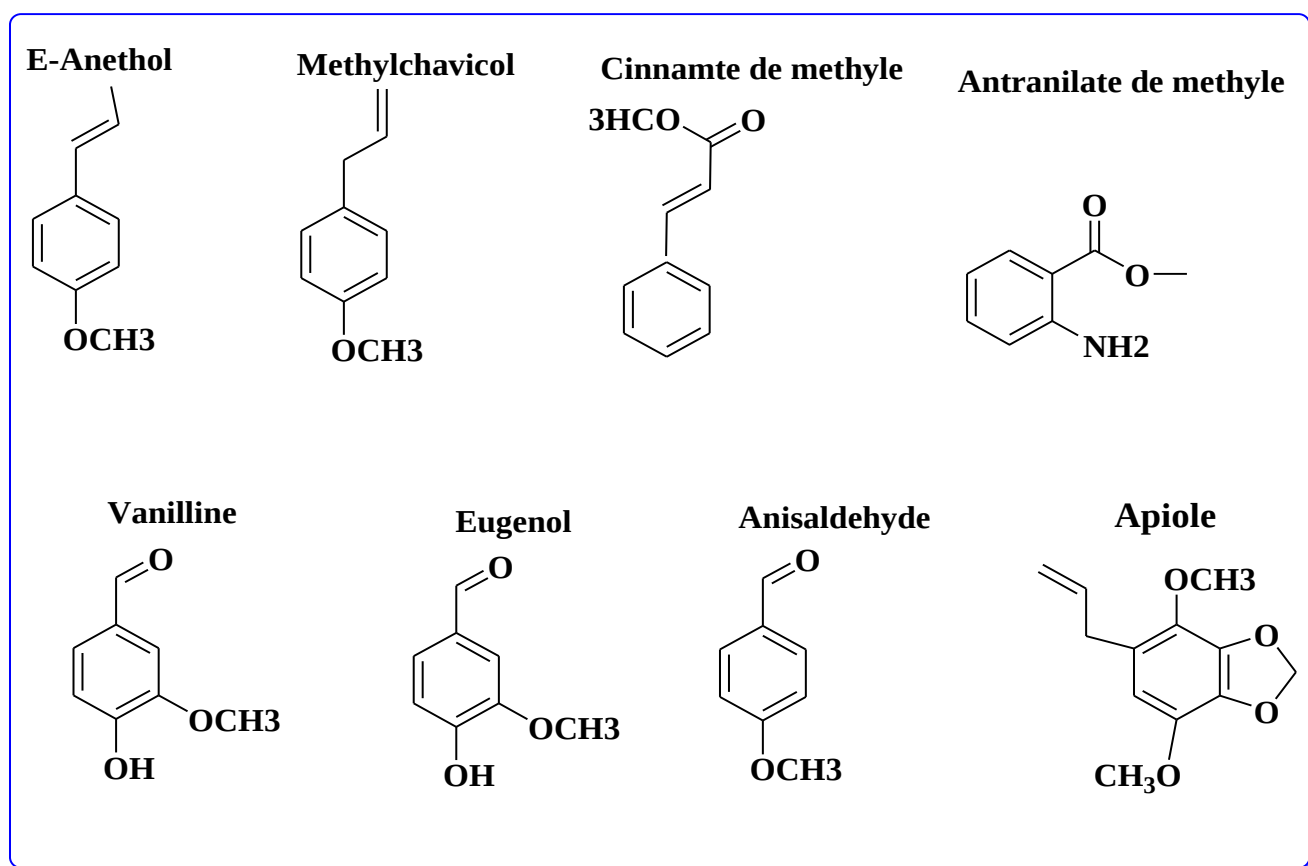


Figure 23 : Quelques Phénylpropanoïdes rencontrés dans les huiles essentielles

II.4.3. Composants de diverses origines

De manière générale, les hydrocarbures aliphatiques sont des molécules de faible masse moléculaire qui peuvent être entraînées lors de l'hydrodistillation. Ces composés peuvent avoir des chaînes droites ou ramifiées et servir à diverses fins. Par exemple, on peut citer :

- ❖ Les acides (C_3 ; C_{10})
- ❖ Les aldéhydes de citron, comme le décinal et l'octanal.
- ❖ Alcools tels que l'essence de lavande 1-octén-3-ol.

- ❖ Les esters acycliques les plus fréquemment présents dans les fruits sont les acétates de butyle et d'isoamyle, qui sont présents dans la pomme et la banane.
- ❖ L'essence de camomille contient de l'heptane et de la paraffine.
- ❖ Les iso-sulfocyanates sont des composés azotés ou soufrés.
- ❖ Les ionones sont des composés provenant de la dégradation des terpènes.

II.5. Facteurs affectant la composition de ses huiles essentielles

En effet, les caractéristiques physico-chimiques des essences fabriquées par les diverses variétés végétales varient en fonction d'un certain nombre de facteurs. Ces derniers facteurs peuvent avoir un impact à la fois sur la composition chimique telle qu'exprimée et sur le rendement de leur extraction. Parmi ces facteurs on peut citer :

- ❖ **Méthodes d'extraction** : L'eau, l'acidité et la température peuvent provoquer l'hydrolyse des esters lors de l'hydrodistillation, ainsi que d'autres changements chimiques tels que les réorganisations, les isoméries, les racémisations et les oxydations. De ce fait, l'état initial de la matière première a un impact important sur la composition chimique des essences.
- ❖ **Espèces botaniques** : Toutes les plantes ne sont pas aromatiques, et même celles qui le sont varient à la fois dans leur nature et dans leurs quantités de constituants [93].
- ❖ **Moment de la récolte** : Au coucher du soleil, les fleurs de jasmin ont une teneur en huile plus élevée et un arôme plus riche. Bien qu'elles fleurissent tout au long de l'année, les fleurs d'ylang-ylang fournissent plus d'huile essentielle aux mois de mai et juin [94].
- ❖ **Cycle végétatif** : Pour une espèce spécifique, la proportion des composants d'une huile essentielle peut varier à mesure que la plante se développe. Avant la floraison, le rendement est généralement le plus élevé car la plante perd plus de 65 % de son huile essentielle [95].
- ❖ **L'organe végétal** : Les sections fleuries de sauge, par exemple, contiennent une huile essentielle plus riche en terpènes spécifiques que les feuilles [96].
- ❖ **Le chémotype** : Des huiles essentielles de compositions chimiques diverses peuvent être produites par des espèces morphologiquement homogènes. Cela a été démontré pour le basilic et le thym [97]. Les variables incluent le nombre de molécules chimiquement distinctes qui composent l'huile essentielle.

La majorité est polymoléculaire ou constituées d'une variété de composés, par exemple, l'huile essentielle de rose contient 500 molécules différentes. Outre les constituants majeurs, qui sont généralement au nombre de 2 à 6, il existe des traces de constituants mineurs et un certain nombre d'autres constituants. Le bois de rose (*Aniba rosa odora*), la menthe pouliot (*Menthe pulegium*) et la gaulthérie (*Gaultheria procubens*) sont des huiles presque entièrement

constituées d'une seule molécule primaire. *Citrus reticulata*, *Salvia sclarée* et *Eugenia caryophyllés* sont des plantes tri-moléculaires, tandis qu'*Eugenia caryophyllés* et le Clou de Gironfle sont des plantes bimoléculaires.

Les facteurs externes : Comprennent les facteurs environnementaux tels que la température, la nature du sol et l'ensoleillement, ainsi que les coutumes culturelles qui ont également un impact [98].

II.6. Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Contrairement aux processus métaboliques primaires des protéines, des sucres et des lipides, les plantes ont des processus métaboliques secondaires. Bien que leurs fonctions soient encore mal connues, ces composés varient selon les espèces, et il est clair qu'ils affectent les interactions entre la plante et les organismes vivants environnants. Ce sont probablement des composants cruciaux dans la coévolution des plantes avec des organismes vivants, notamment des parasites, des agents pathogènes et des prédateurs.

Les recherches de Croteau en 1977 et de Hooper en 1978 ont démontré que, bien qu'ils soient des produits du métabolisme secondaire, les composants volatils jouent un rôle de régulateur thermique et de mobilisateur d'énergie au profit de la plante. La relation entre les plantes et leur environnement est influencée par de nombreux terpènes [99]. Par conséquent, le 1,8-cinéole et le camphre empêchent la croissance des organes qui contribuent à la propagation des infections ou à la croissance des agents pathogènes provenant de ces organes [100].

Certains auteurs pensent que les huiles essentielles sont "les déchets" du métabolisme cellulaire de la plante [101]. D'autres l'utiliseraient pour attirer les insectes afin de faciliter la fécondation ou alors pour les éloigner de la plante. Les huiles essentielles que contiennent les plantes à fleurs sont également connues pour attirer les insectes pour la pollinisation. Enfin, les huiles essentielles protégeraient la plante contre les prédateurs comme les herbivores et les microorganismes tels que les champignons et les bactéries [102]. Les huiles essentielles protègent les plantes contre les herbivores en réduisant leur appétit pour les plantes. Selon Bakkali [103], ils ont également la capacité de repousser les insectes indésirables tout en les attirant en favorisant la dispersion du pollen et des grains.

II.7. Propriétés des huiles essentielles

Les caractéristiques de qualité des huiles essentielles dépendent principalement des caractéristiques naturelles, dont la plus importante est l'odeur ou la saveur distinctive.

Les caractéristiques naturelles les plus importantes et les constantes des deux huiles essentielles sont [104] :

- ❖ **Couleur** : La plupart des huiles volatiles sont incolores, quelques-unes sont jaune blanchâtre et rarement bleues ou vertes.
- ❖ **Odeur** : La plupart des huiles volatiles ont une odeur agréable, et elles ont rarement une odeur piquante désagréable.
- ❖ **Volatilité** : La grande majorité des huiles volatiles et extraites s'évaporent ou se volatilisent complètement dans des conditions normales et normales, à l'exception de quelques-unes d'entre elles, comme l'huile de citron, car elles contiennent certaines substances non volatiles telles que les résines.
- ❖ **Solubilité** : Ce n'est pas toutes les huiles qui se dissolvent dans l'eau, mais la plupart se dissolvent dans l'alcool.
- ❖ **Densité spécifique** : La densité des huiles volatiles varie en fonction de leurs sources végétales, et la plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à la densité spécifique de l'eau, qui permet de faire flotter l'huile essentielle à la surface de l'eau.

II.8. Principaux domaines d'applications des huiles essentielles

Les civilisations anciennes ont utilisé la majorité de leur pharmacopée végétale depuis des milliers d'années. Actuellement, l'aromathérapie est utilisée dans de nombreux domaines, qu'ils soient médicaux ou non. Les nombreuses opportunités offertes par les huiles essentielles sont utilisées dans quatre domaines principaux :

- ❖ **Secteur alimentaire** : Certains végétaux sont directement utilisés (comme dans le cas des épices et des aromates), tandis que d'autres sont utilisés comme résinoïdes ou comme huiles essentielles. Il est utilisé par tous les secteurs alimentaires, qu'elles servent des boissons alcoolisées ou non, des confiseries, produits laitiers, des viandes, des soupes, des sauces, des pains, des collations ou de la nutrition animale.
- ❖ **En Pharmacie** : Il est possible d'utiliser des huiles essentielles comme thérapie, en particulier pour les traitements antiseptiques externes, tels que *Thymus vulgaris* (Thym) et *Satureja montana* (Sarriette). Elles sont également utilisées pour aromatiser des médicaments à consommer par voie orale. De plus, elles sont la pierre angulaire de l'aromathérapie. Les plantes aromatiques sont également utilisées dans leur forme naturelle, en particulier pour créer des infusions (telles que la menthe, la mélisse, la verveine, la fleur d'oranger, etc.) et des préparations galéniques simples.
- ❖ **Parfumerie** : Les huiles essentielles sont utilisées dans le secteur des cosmétiques et des produits d'hygiène. Il est également à noter que les huiles essentielles sont utilisées dans les

produits de bain (tels que "calmants" ou "relaxants") pour aider à absorber les terpènes à travers la peau.

- ❖ **Diverses industries** : Les isolats d'huiles essentielles sont principalement utilisés dans l'industrie chimique pour fabriquer des vitamines, des parfums et des composés pharmaceutiques actifs comme le pinène, le linalol, le citronellal et le citral eugénol, entre autres. Ces isolats sont également employés dans l'industrie de la parfumerie.

Conclusion

Les plantes aromatiques et médicinales contiennent des métabolites secondaires qui ont de nombreuses propriétés et rôles, notamment des propriétés antimicrobiennes, antiseptiques, antivirales, insecticides et antioxydantes, qui réduisent les symptômes des maladies chroniques et sont efficaces dans la prévention de diverses maladies.

Les techniques d'extraction innovantes, telles que l'extraction assistée par micro-ondes ou l'extraction par ultrasons, sont plus efficaces, plus stables et plus reproductibles que les techniques conventionnelles, de sorte que les valeurs fonctionnelles des substances bioactives extraites peuvent être maintenues.

Références bibliographiques

- [1] : Kiringe, J. W. (2006). Une enquête sur les remèdes de santé traditionnels utilisés par les Maasai du district sud de Kaijiado, Ke-nya. Recherche et applications en ethnobotanique, 4, 061-074.
- [2] : Hayta, S., Polat, R., & Selvi, S. (2014). Utilisations traditionnelles des plantes médicinales à Elazığ (Turquie). Journal d'Ethnopharmacologie, 154(3), 613-623.
- [3] : WHO. (2004). Lignes directrices de l'OMS sur la surveillance de la sécurité des médicaments à base de plantes dans les systèmes de pharmacovigilance.
- [4] : Millogo, H., Guisson, I. P., Nacoulma, O., & Traore, A. S. (2005). Savoir traditionnel et Médicaments traditionnels améliorés. Centre Européen de Santé Humanitaire, Lyon, France.
- [5] : Akka, F. B., Bengueddour, R., Rochdi, A., & Zidane, L. (2016). Étude ethnobotanique des Plantes Médicinales utilisées dans le traitement des affections dermatologiques dans le plateau central Marocain. Journal of Applied Biosciences, 98, 9252–9260.
- [6] : Rammal, H., Bouayed, J., Desor, F., Younos, C., & Soulimani, R. (2009). Notes ethnobotanique et phytopharmacologique de *Hypericum perforatum* L. Phytothérapie, 7(3), 161.
- [7] : Avantages pour la santé de l'huile essentielle de lavande », webmd, 11/09/2020. Valencia Higuera (6/7/2019), « Quels sont les avantages possibles de la lavande ? Les faits incontournables sur la plante thérapeutique ».
- [8] : Britannica, les éditeurs de l'Encyclopédie. "lavande". Encyclopedia Britannica, 16 juin 2021.
- [9] : Lafon, J.P; Thorand Prager, C. et Levy, G. « Biochimie structurale » Biologie des plantes cultivees. Tome1. Lavoisier. TEC et DOC.1988 ; b) Sallée. J.L « Le Totum en Phytothérapie » Approche de phytothérapie. Ed Frison- roche. Paris 1991.
- [10] : Ameenah, G. (2006). Plantes médicinales : traditions d'hier et drogues de demain. Molecular aspects of Medicine, 27(1), 1-93.
- [11] : Aouni, M., Pelen, F. & Soulimani, R. Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. Phytothérapie 11, 225–236 (2013).
- [12] : L3-BPV-FSNV/UFMC Biochimie végétale / Chp 3 : Métabolisme secondaire Pr. LABBANI 2021-2022.
- [13] : Ouraïni, D., Agoumi, A., Ismaïli-Alaoui, M. et al. Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. Phytotherapy 3, 147–157 (2005).

- [14] : Adam, KL (2006). Production, produits, marchés et fermes de divertissement de lavande. Service national d'information sur l'agriculture durable.
- [15] : Jawad Al-Hilali A, Muhammad Al-Hamamouchi B, Badia Al-Liyousi A. Etudes ethnobotaniques et évaluation économique des plantes médicinales dans la province de Taounate (Nord du Maroc).
- [16] : Mohamed Fennene et Mohammed Ibn Tattou. Statistiques et commentaires sur l'inventaire actuel de la flore vasculaire du Maroc. Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie, 2012.
- [17]: Tingshuang Yi; Jun Wen; Avi Golan-Goldhirsh; Dan E. Parfitt (2008). "Phylogénétique et évolution réticulée chez *Pistacia* (Anacardiaceae)". Journal américain de botanique.
- [18] : Christenhusz, MJM ; Byng, JW (2016). "Le nombre d'espèces végétales connues dans le monde et son augmentation annuelle" . Phytotaxons. Presse Magnolia.
- [19] : Hormaza J.I. et Wunsch A., 2011. *Pistacia*. Dans Kole C. Parents de cultures sauvages : ressources génomiques et de sélection Fruits tempérés. Springer-Verlag, éd., Berlin.
- [20] : Pell S.K., Mitchell J.D., Miller A.J. et Lobova T.A., 2011. Anacardiaceae. Dans Kubitzki K. Les familles et genres de plantes vasculaires. Plantes à fleurs - Eudicots, Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae. Springer-Verlag, éd., Berlin.
- [21] : Watson L. et Dallwitz M.J., 1992. Les familles de plantes à fleurs : descriptions, illustrations, identification et recherche d'informations. Version 14. Décembre 2000.
- [22] : Wannan B.S. et Quinn C., 1991. Structure florale et évolution chez les Anacardiaceae. Journal botanique de la Linnean Society.
- [23] : Mitchell J.D. et Mori S.A., 1987. La noix de cajou et ses proches (*Anacardium*: Anacardiaceae). Mémoires du Jardin botanique de New York.
- [24] : Glimm-Lacy J. et Kaufman P.B., 2006. Botanique illustrée : introduction aux plantes, grands groupes, familles de plantes à fleurs. Springer, éd., New York. 2ème édition.
- [25] : Bompard J.M. et Schnell R.J., 1998. Taxonomie et systématique. Dans Litz R.E. La botanique, la production et les utilisations de la mangue. CAB International, éd., Wallingford.
- [26] : Litz R.E., 2005. Biotechnologie en agriculture n° 29. Biotechnologie des cultures fruitières et de noix. CABI, éd., Oxfordshire.
- [27] : Engler A., 1897. Anacardiaceae. Dans Engler A. et Prantl K. Die natürlichen Pflanzenfamilien. W. Engelmann, éd., Leipzig.
- [28] : Wannan B.S. et Quinn C., 1990. Structure du péricarpe et affinités génériques chez les Anacardiaceae. Journal botanique de la Linnean Society.

- [29] : Hall J.B., O'Brien E.M. et Sinclair F.L., 2002. *Sclerocarya birrea*: une monographie. Publication numéro 19 de l'École des sciences agricoles et forestières, Université du Pays de Galles, éd., Bangor.
- [30] : Mitchell J.D., 2004. Anacardiacees. Dans Smith N., Mori S., Henderson A.A., Stevenson D.W. et Heald S.V. *Plantes à fleurs des Néotropiques*. Princeton University Press, éd., Princeton, New Jersey.
- [31] : Suresh M. et Raj R.K., 1990. Cardol : le principe antifilarien d'*Anacardium occidentale*. *Science actuelle*.
- [32] : Gercheva P., Zhivondov A., Nacheva L. et Avanzato D., 2008. Formes transsexuelles de pistache (*Pistacia terebinthus* L.) de Bulgarie - approches biotechnologiques pour la préservation, la multiplication et l'inclusion dans les programmes de sélection. *Journal bulgare des sciences agricoles*.
- [33] : Al-Saghir M., Porter D.M. et Nilsen E.T., 2006. Anatomie des feuilles des espèces de *Pistacia* (Anacardiaceae). *Journal des sciences biologiques*.
- [34] : Rodriguez-Pérez C., Quirantes-Pinéa R., Amessis-Ouchemoukh N., Madani K., SeguraCarretero A. et Fernández-Gutierrez A., 2013. Une approche de profilage des métabolites permet l'identification de nouveaux composés issus des feuilles de *Pistacia lentiscus*. *Journal d'analyse pharmaceutique et biomédicale*.
- [35] : Topçu G., Ay M., Bilici A., Sarikürkücü C., Öztürk M. et Ulubelen A., 2007. Une nouvelle flavone issue d'extraits antioxydants de *Pistacia terebinthus*. *Chimie alimentaire*.
- [36] : Ullah Z., Mehmood R., Imran M., Malik A. et Afzal R.A., 2013. Nouveaux oligosaccharides acylés de *Pistacia integerrima*. *Recherche sur les produits naturels*.
- [37] : Saitta M., Giuffrida D., La Torre G.L., Potortì A.G. et Dugo G., 2009. Caractérisation des alkylphénols dans les noyaux de pistache (*Pistacia vera* L.). *Chimie alimentaire*.
- [38] : Orhan I., Kupeli E., Aslan M., Kartal M. et Yesilada E., 2006. Évaluation guidée par essais biologiques des activités anti-inflammatoires et antinociceptives de la pistache, *Pistacia vera* L. *Journal of Ethnopharmacology*.
- [39] : Zhao X., Sun H., Hou A., Zhao Q., Wei T. et Xin W., 2005. Propriétés antioxydantes de deux gallotanins isolés des feuilles de *Pistacia weinmannifolia*. *Biochimica et Biophysica Acta*.
- [40] : Chrysavgi G., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T. et Michael K., 2008. Composition en huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. et *Myrtus communis* L. : Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits méthanoliques. *Chimie alimentaire*.

- [41] : Durua M.E., Cakirb A., Kordalic S., Zenginc H., Harmandara M., Izumid S. et al., 2014. Composition chimique et propriétés antifongiques des huiles essentielles de trois espèces de *Pistacia*. *Fitoterapia*.
- [42] : Monjauze A., 1968- Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* Desf., en Algérie, *Bulletin De la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord*.
- [43] : Quézel P. et Médail F., 2003- Ecologie et biogéographie des forêts méditerranéennes, Université d'Aix Marseille III.
- [44] : Quezel P. et Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris : Editions du Centre National de la Recherche Scientifique.
- [45] : Ozenda P. (1983). Flore du Sahara, 2ème édition. Paris : Centre National de la Recherche Scientifique.
- [46] : Fennane M., Ibn Tattou M., Ouyahya A. and El Oualidi J., (2007). Flore pratique du Maroc. Manuel de détermination des plantes vasculaires. 2ème éd. Institut Scientifique. Rabat.
- [47] : Yaaqobi A., El Hafid L. et Haloui B. (2009). Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. De la région Orientale du Maroc. *Biomatec Echo*.
- [48] : Baba aissa F. 2011- Encyclopédie des plantes utiles Flore d'Algérie (Méditerranéenne, maghrébine et sahariennes). BEO Alger.
- [49] : Belhadj S., 2007. Etude eco-botanique de *Pistacia atlantica* Desf. (Anacardiaceae) en Algérie, préalable à la conservation des ressources génétiques de l'espèce et à sa valorisation. Thèse de doctorat en sciences Agronomiques, option écologie végétale, Université Mouloud Mammeri de TiziOuzou..
- [50] : Alyafi J., 1979. Approches systématiques et écologiques du genre *Pistacia* L. dans la région méditerranéenne. Thèse Doct.Es Sciences Univ.Aix Marseil III.
- [51] :1924Lapie G., et Maige A., 1924. Flore forestière illustrée de l'Algérie. Édition : Orglah. Paris.
- [52] : Pesson P., et Louveaux J., 1984. Pollinisation et production végétale. INRA. Paris.
- [53]: Benhssaini H. and Belkhodja M., 2004. Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition. La feuille et l'aiguille.
- [54] :1979 Ait Radi A., 1979. Multiplication par voie végétative et par semis de *Pistacia atlantica* et *Ailantus altissima*. Mém. Ing. Agr, I N A, El-Harrach.
- [55] : Belharet O et Rekkeb S., 2004.Architecture racinaire et adaptation du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.ssp *atlantica*) à la secheresse : cas de la population de Ain ousserra.

- [56]** : Larouci-Rouibat A., 1987. Étude biochimique et physiologique des semences du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) Mémoire des études supérieures en en Physiologie Végétale, Option : Biochimie. USTHB Alger.
- [57]** : Belhadj S., 2001. Les pistaches algériennes : Etat actuel et dégradation. Dans : AK, b. e., (éd.). 11 Séminaire GREMPA sur les pistaches et les amandes, du 1er au 4 septembre 1999. Sanliurfa, Turquie. Cahiers Options Méditerranéennes.
- [58]** : Khaldi. & Khouja. 1996 – Pistache de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) dans la taxonomie, la répartition géographique, l'utilisation et la conservation de l'Afrique du Nord. Ressources génétiques. IPGRI, Rome, Italie.
- [59]** : Gourine N., Yousfi M., Bombarda I., Nadjemi B., Stocker P. et Gaydou E.M., 2010b. Activités antioxydantes et composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia atlantica* de Algérie. Cultures et produits industriels.
- [60]** : Tzakou O., Bazos I. et Yannitsaros A., 2007. Métabolites volatils de *Pistacia atlantica* Desf. de Grèce. Journal des saveurs et des parfums.
- [61]** : Rowshan V., Bahmanzadegan A. et Tarakemeh A., 2013. Composés volatils de *Pistacia atlantica* Desf. Galles et feuilles par la technique du système Combi-PAL. Journal des sciences appliquées et de la technologie de l'ingénierie.
- [62]** : Dorehgirae A. et Pourabdollah E., 2015. Comparaison du profil chimique de l'huile extraite de *Pistacia atlantica* sous-espèce *cabulica* avec *Pistacia atlantica* sous-espèce *mutica*. Journal pakistanais des sciences alimentaires.
- [63]** : Alyafi J., 1979. Approches systématiques et écologiques du genre *Pistacia* L. dans la région méditerranéenne. Thèse Doct. Es Sciences Univ. Aix Marseil III, 179p+Annexes.).
- [64]** : Seigue A., 1985 – La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Maisonneuve et Larousse éditions. Paris.
- [65]** : Hossein F., Adlgostar A. et Sharifnia F., 2013. Activité antibactérienne des extraits de *Pistacia atlantica* sur biofilm de *Streptococcus mutans* International. Journal de recherche des sciences biologiques.
- [66]** : Belyagoubi-Benhammou N., Belyagoubi L., El Zerey-Belaskri A. et Atik-Bekkara F., 2014. Propriétés antioxydantes in vitro des fractions flavonoïdes de *Pistacia atlantica* Desf. Sous-espèce. *atlantica* en utilisant cinq techniques. Journal des sciences des matériaux et de l'environnement.
- [67]** : Peksel A., Arisan-Atac I. et Yanardag R., 2010. Évaluation des antioxydants et

Activités antiacétylcholinestérase des extraits de *Pistacia atlantica* Desf. Feuilles. Journal de Biochimie alimentaire.

[68] : Barrero A.F., Herrador M.M., Arteaga J.F., Akssira M., Mellouki F., Belgarrabe A. et al., 2005. Composition chimique des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. Journal de Recherche sur les huiles essentielles.

[69] : Yousfi M., Nadjemi B., Bellal R., Ben Bertal D. et Palla G., 2002. Acides gras et stérols de l'huile de fruit de *Pistacia atlantica*. Journal de l'American Oil Chemists' Society.

[70] : Lev E. et Amar Z., 2002. Enquête ethnopharmacologique sur les médicaments traditionnels vendus dans le Royaume de Jordanie. Journal d'Ethnopharmacologie.

[71] : Hamdan I.I. et Afifi F.U., 2004. Études sur les activités hypoglycémiques in vitro et in vivo de certaines plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète en médecine traditionnelle jordanienne. Journal d'Ethnopharmacologie.

[72] : Mahmoud Mosaddegh a c, Farzaneh Naghibi a c, Hamid Moazzeni a, Atefeh Pirani a, Somayeh Esmaeili a b. 2012. Enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales traditionnellement utilisées dans la province iranienne de Kohgiluyeh va Boyer Ahmad. Journal d'Ethnopharmacologie.

[73] : Li, Y ; Fabiano-Tixier, A.S; chemat, F. « Les huiles essentielles comme réactifs dans la chimie verte », Springer Briefs in Green chemistry for Sustainability 2014.

[74] : Tongnuanchan, P. et Benjakul, S.J. Food Sci 2014.

[75] : Fernandez, X ; chemat, f. et Tien Do, T.K. « Les huiles essentielles – Vertus et application », Ed. Vuibert, Paris 2012.

[76] : Ferhat, M.A ; Meklati, B.Y. Flavour Frag.J. 2007.

[77] : Beneteaud, E. « Les techniques d'extraction », Comité Français du Parfum 2011.

[78] : Chemat, F.; Zill-e-Huma, H.; Khan, M.K. Ultrason. Sonochem. 2011.

[79] : Perez, I ; Blad, C. ; de Maranon, I.M. ; Allaf, K. « DIC Intensification de l'extraction mécanique des lipides par pressage », Chute de pression contrôlée instantanée (DIC) dans la transformation des aliments : de l'application fondamentale à l'application industrielle.

[80] : Sanchez-Prado, L. ; Garcia- Jares, C. ; Dagnac, M. Trends analyt. Chem. 2015.

[81] : Chan, C.H.; Yusoff, R.; Ngoh, G.C.; Kung, F.W.L.J. Chromatogr. A. 2011.

[82] : Aurore Filly a, Anne Sylvie Fabiano-Tixier a, Celine Louis, Xavier Fernandez, Farid Chemat. L'eau comme solvant vert combinée à différentes techniques d'extraction de l'huile essentielle des fleurs de lavande, 2016.

- [83]** : Hasnia Benmoussa a, b, Asma Farhat b, Mehrez Romdhane b, Jalloul Bouajila a, Amélioration de l'extraction micro-ondes sans solvant de *Foeniculum vulgare* Mill. Graines d'huiles essentielles utilisant un réacteur à double paroi. Journal arabe de chimie.
- [84]** : Mohammed Hosseini, M ; Mahdavi, B. ; Shahnama, M.J. Essent.Oil Bear,2015.
- [85]** : Abdelhadi, M; Meullemidtre, A.; Gelicus.a.; Rezzoug, S.A. chem. Eng.Res. Des2015.
- [86]** : Qi, X.L.; T.T.; Wei, Z.f.; gou, Lou, M.; Wang, W; Zu, Y. G; Mu, P. S; Fu, Y. J; Peng, X. Ind.Crops Prod.2014.
- [87]** : Li, X, J. Wang, W; Luo, M; Li; C; Y; zu, Y, G; Mu, P. S; Fu.Y. Foud Chem.2012.
- [88]** : Uysal, B; sozmen, F, Aktas, Oksal, B. S; Koese, E.O. Int.J. foud Sci.Tech2011.
- [89]** : Berka-Zougali, B; Ferhat, M. A; Hassani, A; chemat, F and allaf, K.S.int. J. Mol.Sci.2012.
- [90]** : Tigrine-Kordjani, N; Meklati, B, y; Chemat, F. Foud Anal.Method.2012.
- [91]** : Meullemiestre, A; Petitcolas, E; MPaache-Rezzoug, Z; Ginies, C; Chemat, F; Rezzoug, S.A. Wood.Mater.Sci.Eng.2014.
- [92]** : Boukhatem mohamed nadjib, ferhat amine et kameli abdelkrim. méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. revue agrobiologia,2019.
- [93]** : Aafi A., Ghanmi M., Satrani B., Aberchane M., Ismaili My.R. et EL Abid A. Diversité et valorisation des principales plantes aromatiques et médicinales (PAM) de l'écosystème cédraie au Maroc.Centre de Recherche Forestière. 2011.
- [94]** : Alberto angioni, andrea barra, valentina coroneo, sandro dessi, and paolo cabras. chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *lavandula stoechas* l. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. j. agric. food chem, 2006.
- [95]** : véäronique masotti, fabien juteau, jean marie bessieäre, et josette viano. Variations saisonnières et phénologiques de l'huile essentielle de l'espèce endémique étroite *Artemisia molinieri* et ses activités biologiques. j. agricole. Chimie alimentaire,2003.
- [96]** : Bruneton J (2009). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales, 4^{ème} éd. Tech et Doc Paris.
- [97]** : *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires par Justi.Thèse de doctorat en Biologie des populations et écologie.
- [98]** : Wichtl M., Anton R 1999-Plantes thérapeutiques –Technique et Documentation, Paris.
- [99]** : Finar, I.L. « Chimie Organique », Ed. Longman Scientifique et Technique, New York 1994.

[100] : N. Soualeh · R. Soulimani. Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts Phytothérapie,2016.

[101] : Nasri N, Tlili N, Triki S, Elfalleh W, Chéraif I, Khaldi A. Volatile Constituents of *Pinus pinea* L. Needles. *Journal of Essential Oil Research*, 2011.

[102] : Soualeh, N., Soulimani, R. Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie* ,2016.

[103] : Roger C., et Hamraoui A ,1997. Lutte contre les insectes phytophages par les plantes Aromatiques et leurs molécules allélochimiques, *Acta Botanica Gallica*.

[104] : F. Bakkali a, b, S. Averbeck a, D. Averbeck a, M. Idaomar b. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 2008.

CHAPITRE II :
MATERIELS ET METHODES

Introduction

Dans ce chapitre, nous nous sommes fixés comme objectif de contribuer à la valorisation des feuilles de *Pistachier atlantique* et des parties aériennes de *Lavandula multifida*. Nous étudierons donc leurs compositions chimiques et leurs propriétés biologiques.

Après extraction, les composants de l'huile essentielle seront déterminés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Ensuite, une analyse quantitative sera effectuée pour évaluer la quantité totale de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins de catéchine présents dans les extraits.

Nous effectuerons également un criblage phytochimique préliminaire de nos métabolites secondaires pour détecter la présence d'alcaloïdes, d'anthraquinones, de coumarines, de flavonoïdes, de polyphénols, de saponines, de stéroïdes, de tanins et de triterpénoïdes.

I. Matériels Végétales, Phytochimique et extraction

I.1. Présentation de la zone de collecte des plantes

La ville de Rommani, se trouve à 80 km de la capitale politique Rabat et à 120 km de la capitale économique Casablanca (Figure24). Entouré par une vaste zone de forêts et de terres agricoles dédiées à la culture du blé, des légumineuses, et élevage de bétail, etc. C'est une zone d'amour pour les pêcheurs en raison de la présence d'une importante richesse animale sauvage. Près de Rommani est le grand barrage riche en poissons, qui est fourni avec de l'eau potable à Rabat, Sale, Témara et d'autres zones dans la région de Zaïre. Elle se caractérise par la beauté de sa nature pure et non contaminée et sa proximité avec les capitales Rabat et Casablanca.

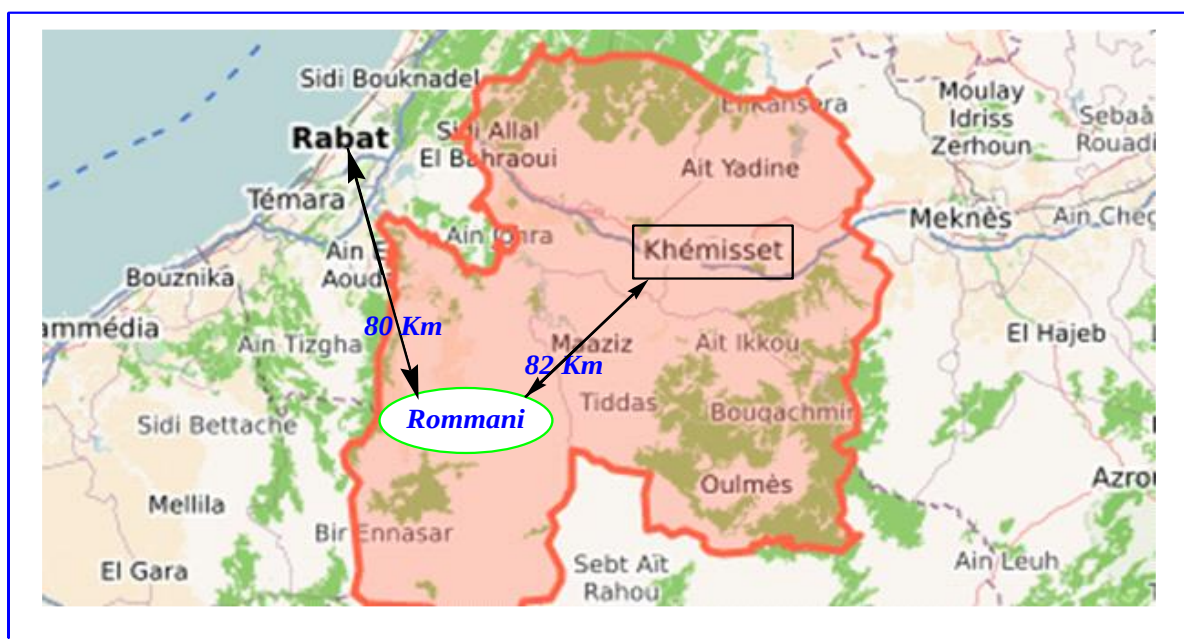


Figure 24 : Localisation de la commune de Rommani dans la province de Khemisset

I.1.1. Données climatiques

La région de Zaïre est caractérisée par un climat méditerranéen, avec un hiver doux et pluvieux et d'étés chaud et ensoleillé. Sur l'année, la température moyenne à Rommani est de 18,15°C et les précipitations sont en moyenne de 44,17 mm selon la station météo de L'INRA. La période pluvieuse coïncide avec l'automne avec un maximum de 95,4 mm pour le mois de Décembre, et un minimum de 2,09 mm en Juillet.

Selon une étude des températures moyennes mensuelles, Septembre est le mois le plus froid de l'année avec 11,2°C, tandis que Juillet est le mois le plus chaud avec 24,2°C. (Tableau 9)

À Rommani, la température moyenne du mois le plus froid (Janvier) est de 11,2°C, celle du mois le plus chaud (Juillet) est 24,2°C.

Tableau 9 : Températures moyennes pour la période 2000-2020 (L'INRA)

Rommani- Températures moyennes (2000-2020)			
Mois	Min (°C)	Max (°C)	Moyenne (°C)
Janvier	6,2	16,4	11,2
Février	6,8	17,7	12,25
Mars	9,2	21,4	15,3
Avril	11,4	23,6	17,5
Mai	14,7	25	19,85
Juin	16,1	26,8	21,45
Juillet	21	32,4	24,2
Août	20,3	30,5	23,4
Septembre	17	27,9	22,45
Octobre	16,4	26,3	21,35
Novembre	11	23,1	17,05
Décembre	7,2	16,8	12

À Rommani les précipitations totales de l'ordre 483,7 mm par an (Tableau 10) elles sont donc à un niveau intermédiaire. Au mois le moins pluvieux (Juillet) elles s'élèvent à 4,5 mm, dans le mois le plus pluvieux (Décembre) elles s'élèvent à 83,45mm.

Tableau 10 : Précipitations pour la période 2000-2020 (INRA)

Rommani- Précipitations moyennes (2000-2020)			
Mois	Min (mm)	Max (mm)	Moyenne (mm)
Janvier	42,3	100,4	71,35
Février	34,7	73,6	54,15
Mars	40,6	80,3	60,45
Avril	19,8	66,3	43,05
Mai	8,5	23,4	15,95
Juin	5	12	8,5
Juillet	3	6	4,5
Août	4,2	8	6,1
Septembre	12,7	31,1	21,9
Octobre	20	66,5	43,25
Novembre	43,2	98,9	71,05
Décembre	54,1	112,8	83,45

I.1.2. Collecte des matériels végétaux

Les deux plantes aromatiques, *Lavandula multifida* et *Pistachier atlantique* ont été identifiées au sein du département des sciences botaniques de l'institut scientifique de l'Université Mohammed V à Rabat. Chaque variété a été échantillonnée et stockée dans l'herbier de l'établissement. Les coordonnées géographiques de la zone choisie pour la récolte sont présentées dans le tableau 12 ci-dessous.

Tableau 11 : Situation géographique du site choisi

Plante	Site / Région	Coordonnées géographiques
<i>Lavandula multifida</i> (RAB113339)	Zaïre – Rommani (Rabat - Sale, Kénitra)	33° 32' 00" nord, 6° 36' 00" ouest Altitude : 306 m
<i>Pistachier atlantique</i> (RAB 113647)		

La récolte des feuilles de *Lavandula multifida* a constitué la première partie de notre étude. Elle a été réalisée de février à mars 2021, à Zaïre (Rommani), dans la province de Khemisset.

Les feuilles de Cinque arbre de *Pistachier atlantique* dont différents diamètres sont le matériau végétal utilisé dans la deuxième partie de notre étude. La récolte a été entreprise manuellement dans une superficie de 600m², dans la même zone, en Octobre 2021, lorsque la plante était en pleine croissance.

Après la récolte, les deux sections de plantes ont été laissées sécher naturellement à l'air libre, à l'ombre et en laboratoire à température ambiante (20-25°C) jusqu'à ce que le poids ne change pas. Une fois séchés (Figure 25), les échantillons sont broyés en poudre fine avec un broyeur de type pro-Stark modèle 8200 et conservé jusqu'à utilisation dans des sacs en papier.



Lavandula multifida séché

Feuilles de Pistachier atlantique séchés

Figure 25 : Partie aérienne de *Lavandula multifida* et feuilles de *Pistachier atlantique* sèches

I.1.3. Protocole d'extraction

- **Séchage du matérielles**

Les deux portions de plantes choisies ont subi un séchage naturel après leur récolte, qui s'est déroulée en plein air, à température ambiante (20 - 25°C) et avec suffisamment d'ombre du laboratoire de Spectroscopie, Modélisation Moléculaire, Matériaux, Nanomatériaux, Eau et Environnement, (**CERNE2D- LS3MN2E**). Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat jusqu'à ce que la masse reste constante. Ils ont été séchés, puis réduits en poudre avec un pilon Pro-Stark (modèle : Has8200), puis conservés dans des sacs en papier jusqu'à ce que nous en ayons besoin.

- **Préparation des extraits**

Toutes les recherches scientifiques s'appuient sur la famille des polyphénols, notamment l'identification de composés naturels à activité antioxydante extrêmement importante pour réduire les dommages oxydatifs causés par les espèces radicalaires.

Notant que les oxydants, quelle que soit leur source, posent un sérieux défi non seulement à la santé publique mais aussi au secteur agroalimentaire. Alors que nous continuons à étudier les antioxydants naturels, nous avons cherché à libérer les polyphénols présents dans les structures vacuolaires en rompant le tissu végétal et à évaluer les qualités antioxydantes de deux espèces végétales, respectivement : *Lavandula multifida* et le *Pistachier atlantique*.

Deux axes ont été pris en considération dans cette section expérimentale, le premier objectif est d'extraire les composés phénoliques de la partie aérienne du *Lavandula multifida*, et les feuilles de *Pistachier atlantique* par la méthode *d'extraction assisté par ultrason* (EAU). Dans le deuxième axe, nous nous sommes intéressés à extraire par *extraction Sonde ultrasonique* (SU). Les doses obtenues sont données en mg/g et ont été obtenues à l'aide des réactifs suivants : vanilline pour les tanins condensés, trichlorure d'alumine pour les flavonoïdes et Folin-Ciocalteu pour les polyphénols.

En raison de leur simplicité d'utilisation et de leur fiabilité, deux techniques ont été sélectionnés afin d'évaluer les propriétés antioxydantes des produits. Le premier est le test 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (**DPPH**) et le second est le test de réduction du fer (**FRAP**).

a. Extraction assistée par ultrasons (EAU)

La partie sélectionnée de chaque plante séchées et broyées est soumises à une extraction (EAU). Cette extraction a été réalisée en mélangeant 10 g de matière végétale sèche sous forme d'une poudre de la partie aérienne avec 200 mL de solvant éthanol-eau (140 : 60, **v : v**) pendant une heure (60 min) à 45°C, dans un bain à ultrasons (F = 59 KHz à 100 % de puissance), le mélange est ensuite filtré sous vide. Ils ont ensuite été conservés dans des flacons en verre à 4°C et à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation, après avoir été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif de type "Büchi".

b. Extraction assistée par Sonde ultrasonique (SU)

Cette extraction a été réalisée en mélangeant 10 g de matière végétale sèche (partie aérienne) avec 200 mL de solvant éthanol-eau (140 : 60, **v : v**) pendant une demi-heure (30 min), enfin le mélange est filtré sous vide. Jusqu'à l'utilisation, l'extrait est conservé au congélateur à une température de 4 °C. Toutes les expériences sont réalisées trois fois.

c. Extraction des huiles essentielles

La méthode utilisée pour extraire les huiles essentielles était l'hydrodistillation. Parce qu'elle produit des molécules volatiles qui sont facilement étudiées par chromatographie en phase gazeuse et qu'il s'agit d'une approche simple, abordable et contrôlée, elle continue d'être la méthode la plus souvent utilisée pour les composés aromatiques [1].

Un appareil de type Clevenger a été utilisé pour distiller 200 à 250 g de matière végétale broyée immergée dans un volume de 350 ml en trois heures [2]. Lorsque la vapeur d'eau transportant des huiles essentielles traverse un réfrigérateur, elle se condense et tombe dans une ampoule de décantation, où les variations de densité provoquent la séparation de l'eau et de l'huile. Le sulfate de sodium (Na_2SO_4) est utilisé pour éliminer les traces d'eau. Pour éviter toute détérioration, les huiles sont conservées dans des récipients en verre recouverts de papier d'aluminium jusqu'à leur utilisation.

I.2. Analyse qualitative et quantitative

I.2.1. Extraits

a. Criblage phytochimique

Un criblage phytochimique préliminaire a été effectué sur nos métabolites secondaires, y compris les anthraquinones, les coumarines, les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les stéroïdes et les triterpénoïdes. Cette étude a été menée à l'aide de tests phytochimiques classiques présentés dans la littérature. Les résultats sont classés en fonction de leur signification : (+) signifie une réaction positive ; (±) signifie une réaction douteuse ; et (-) signifie une réaction négative.

- **Détection des alcaloïdes**

Dans un tube à essai propre, 0,5 g de poudre sèche de plante a été placé, accompagné de 1,0 ml d'ammoniac (NH_3). 10 mL de chloroforme (H_3CCl) sont ajoutés après quelques minutes. Après avoir agité le mélange avec précaution et filtré le mélange. Un bain-marie est utilisé pour évaporer le chloroforme. Verser ensuite 1 mL de réactif de Meyer. Si la plante contient des alcaloïdes, une précipitation blanche se produit [3].

- **Détection des anthraquinones**

Une solution aqueuse à 10 % de KOH a été ajoutée à l'extrait de chloroforme des deux plantes. La présence d'anthraquinones est mise en évidence par un changement de couleur de la partie aqueuse vers le rouge après agitation [4].

- **Détection des coumarines**

Après avoir mélangé 10 mg de poudre végétale avec 5 mL de H_3COH et quelques gouttes de (KOH) à 10 %, une teinte jaune est apparue. Si la teinte a disparu suite à l'ajout de quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré, cela indique une solution favorable [5].

- **Détection des flavonoïdes**

Lorsqu'on ajoute quelques gouttes de Na OH à 0,5 mL des extraits aqueux des deux plantes, ils deviennent de couleur jaune foncé. L'acide sulfurique rend la solution incolore, ce qui indique l'existence de flavonoïdes

- **Détection des saponines**

On cuit dans 20 mL d'eau 2 g de matière végétale(poudre), après décantation 10 mL d'extrait est mélangés de 5 mL d'eau, le mélange est agité énergiquement. S'il y a un mousse cela confirme l'existence des saponines [6].

- **Détection des tanins**

Dans un bécher de 50 mL, on introduit 0,5 g de la poudre de chaque plante puis on la fait bouillir dans 20 mL d'eau. Si une teinte noire ou verte apparaît après l'ajout de chlorure de fer (III) à l'extrait, cela peut indiquer l'existence de tanins.

- **Détection des stéroïdes**

1 g de poudre est mixés avec 2 mL de chloroforme dans un tube à essai, suivi de quelques gouttes de H_2SO_4 . La présence des stéroïdes est indiquée par la couleur rougeâtre de la couche extérieur.

- **Détection des triterpénoïdes**

Par macération de 5 mg de la matière végétale (poudre) de chaque plante dans 2 mL du chloroforme, puis on ajoute 1 mL de l'anhydride acétique. 1 mL d'acide sulfurique a été ajouté au mélange précédent. La présence des triterpénoïdes est due par la formation d'une couleur violet rougeâtre.

b. Dosage des composés majeur

• Dosage des polyphénols

En utilisant la technique Hua-Bin Li [7], la teneur totale en phénols des extraits de plantes a été déterminée avec quelques modifications. Un volume de 0,5 mL de réactif de Folin Ciocalteu 10% est additionné à 0,5 mL d'extrait de plante. Après cinq minutes d'agitation, quatre millilitres de solution de Na_2CO_3 (7,5%) sont ajoutés. Après agitation, le tube est incubé 30 minutes à 45°C, des mesures d'absorbance sont enregistrées à 765 nm par rapport à un blanc. Une courbe de calibration pour différentes concentrations d'acide gallique a été créée. La quantité de polyphénols des produits est mesurée en milligrammes (mg), équivalent d'acide gallique par gramme de poids sec du matériau, avec un écart type (mg EAG/g MS) avec une incertitude.

• Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes contiennent un hydroxyde libre dans le carbone 5 de la chaîne. Ce qui peut produire un composé stable de couleur jaunâtre en présence de AlCl_3 . N. Ghedadba (2015) a quantifié les flavonoïdes en utilisant une méthode colorimétrique appropriée, avec quelque modification [8].

Dans une erlenmeyer de 10 mL, on met 1mL d'extrait, 0,2 mL du AlCl_3 à 10%, puis 0,2 mL d'acétate sodium ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$.1M) et 5,6 mL d'eau distillée sont ajoutés.

Le tout est mis sous agitation (Agitateur vortex). La solution est mise à l'abri de la lumière pendant 30 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 415 nm. La quercétine est le témoin utilisé, les résultats ont été exprimés en $\mu\text{g EQ} / \text{mg d'extrait sec}$.

• Dosage des Tanins catéchiques

La quantité de tanins ou de proanthocyanidines condensés a été déterminée par la technique de la vanilline en milieu acide, selon le protocole de Heimler (2006) [9], avec quelque modification. On mélange un volume de $5 \cdot 10^{-2}$ mL de l'échantillon, 3 mL d'une solution de vanilline méthanolique (4%) et 1,5 mL HCl. Le mélange réactionnel est incubé 30 min à température ambiante. À 500 nm l'absorbance est calculée. La catéchine est utilisée comme un standard les résultats sont exprimés en $\mu\text{g EC} / \text{mg d'extrait}$.

I.2.2. Huiles essentielles

a. Propriétés physico-chimiques

- **Rendement**

Le rendement d'une synthèse est le rapport entre la masse de produit obtenue expérimentalement et la masse de produit que l'on devrait obtenir théoriquement. Il est exprimé en pourcentage et peut être calculé à l'aide de la formule suivante :

$$RE = \frac{m_E}{m_O} \times 100$$

- ❖ **RE** : Taux d'extraction en (%).
- ❖ **m_E** : La masse de produit récupéré en (g).
- ❖ **m_O** : La masse sèche de l'espèce végétale en (g).

- **Densité**

La densité d'un matériau, également appelée densité volumique, est une caractéristique physique exprimée par unité de volume.

Le poids d'un certain volume d'un corps divisé par le poids du même volume d'un corps de référence (eau/air) donne la densité de ce corps, et calculez en utilisant la relation ci-dessous.

$$d = \frac{\rho_{\text{corps}}}{\rho_{\text{référence}}} = \frac{m_{\text{corps}}}{m_{\text{référence}}}$$

Avec :

d : densité (Sans dimension).

μ_{corps} : quantité de liquide dans son volume exprimée en (Kg.m⁻³).

μ_{référence} : quantité de référence dans son volume (eau /air). (Kg.m⁻³).

- **Indice de réfraction**

L'indicateur de réfraction dans un milieu non opaque et non hétérogène est défini par la capacité de ce milieu à dévier un rayon lumineux incident à sa face [10]. Il représente le rapport de la vitesse (C) de la lumière dans le vide et la vitesse (V) de la lumière dans autre milieu, et on écrit :

$$n = \frac{c}{v}$$

C'est une quantité sans unité et dépend de la longueur d'onde et de la température du milieu.

La raie D de la vapeur de sodium (589,3 nm) à 20 °C est utilisée à cet effet afin de préserver l'homogénéité.

Les étapes suivantes constituent le protocole opérationnel :

1. La température de l'appareil est réglée à 20°C.
2. Placez une petite quantité d'huile essentielle à la face du prisme.
3. Fermez le couvercle du prisme et assurez-vous qu'il n'y a pas de bulles d'air dans le film de l'huile essentielle.
4. Orientez le réfractomètre vers une source de lumière.
5. Le champ se sépare en deux moitiés lorsqu'il y a du liquide sur le prisme, une claire l'autre est sombre. La mesure est effectuée lorsque l'échelle verticale est traversée par la ligne séparant ces deux portions. Les vis sont situées au-dessus et au-dessous du boîtier qui abrite le prisme et peuvent être utilisées pour ajuster la ligne d'échelle verticale.
6. Dernière étape : lisez correctement la valeur présentée.

- **Indice d'acidité**

La quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres présents dans un gramme (1g) de substance, représente l'indice d'acidité noté **I_A**. L'équation de transformation est la suivante :



Protocole expérimentale:

On dissout 1 gramme d'huile essentielle dans 5 ml d'éthanol, et le mélange devient jaune pâle. La solution résultante a été dosée avec du KOH (10⁻¹ mol. L⁻¹), à l'aide de la phénolphthaléine comme marqueur coloré. A l'équivalence, le mélange prend une couleur rose.

L'indice d'acidité est calculé par l'expression :

$$I_A = \frac{V \cdot M(\text{KOH}) \cdot N}{m}$$

Où :

- V : Le volume titrant (hydroxyde de potassium) en **mL**.
- M(KOH) : La masse molaire de KOH (**g/mol**).
- N : La normalité d'hydroxyde de potassium.
- m : La masse de la section d'essai en gramme (g).

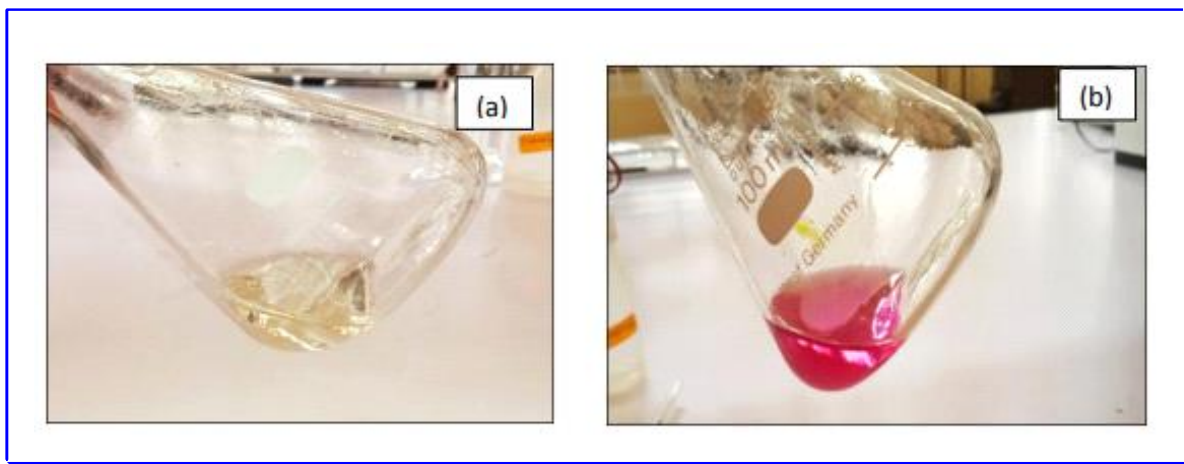


Figure 26 : (a) avant et (b) après un certain volume de KOH

II. Compositions chimiques et effets biologiques

II.1. Composantes chimiques des huiles essentielles

II.1.1. Lavandula multifida

La chromatographie en phase gazeuse GC/MS (Perkin Elmer TM GC-680) combinée à un spectromètre de masse (Q-8 MS avec piège à ions) a été utilisée pour déterminer la composition chimique des huiles essentielles. L'impact des électrons sous un champ de 70eV a permis la fragmentation. Le polysiloxane HP-5 MS (5%-phényl) -méthyl (60m 0,25mm) a été utilisé comme colonne capillaire. Le film avait une épaisseur de 0,25 μm . La colonne a été réglée entre 60 et 300 °C. L'hélium, dont le débit était fixé à 1 mL/min, était le gaz porteur.

L'échantillon a été injecté sans fractionnement. L'appareil était relié à un système informatique « ChemStation » qui gérait une bibliothèque de spectre de masse du NIST. Les indices de rétention (IR) des composés par rapport aux temps de rétention d'une série de n-alcanes (C5-C24) ont été calculés à l'aide de l'équation de Van den Dool et Kratz à l'aide d'interpolation linéaire. L'identification des composants a été effectuée en comparant leurs spectres de masse avec ceux des bibliothèques spectrales NIST98 GC/MS et Wiley, ainsi que leurs indices de rétention en utilisant des informations provenant d'ouvrages publiés. Les tableaux 12 et 13 résument les conditions d'injections et de séparation.

Tableau 12 : Conditions d'injections

Volume d'injection	0,5µL
Température d'injection	280°C
Température d'interface	300°C
Mode d'injection	Sans split
Gaz vecteur	Hélium
Débit	1 mL/min

Tableau 13 : Conditions de séparation

Rampe (°C/min)	Température finale (°C)	Temps (min)
-	60	1,00
2	200	1,00
20	300	5,00

II.1.2. Pistachier atlantique

L'huile essentielle de *Pistachier atlantique* a été effectuée au Centre National pour la Recherche Scientifique et Technique (CNRST) à Rabat. La chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse, est caractérisée par :

- Thermo trace 1300
- TSQ 8000 EVO
- MS : triple Quadripôle

La colonne :

- TR-35MS 30m X 0.25mmID X 0.25 micromètre - Gaz vecteur : l'Hélium

Méthode utilisée :

- Mode d'injection : split
- Température d'injecteur : 200 °C
- Split flow : 50ml/min
- Split ratio : 33-3
- Pression du gaz vecteur : 1,5 mL/min
 - Mode EI
 - Température de la ligne de transfert 250 °C
 - Température de la source 200 °C
 - Full scan, (Solvant utilisé est 1mL d'Hexane avec 20 microlitres d'échantillon.)

II.2. Activités biologiques et pharmacologiques

II.2.1. Evaluation du pouvoir antioxydant

Nos cellules et tissus peuvent être soumis à un large éventail d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermie), chimiques (acidose, toxines), et métaboliques (exposition aux xénobiotiques, manque d'un facteur hormonal ou croissance). La majorité de ces attaques provoquent un stress oxydatif, qui résulte de l'aggravation d'un processus physiologique généralement extrêmement régulé, la formation de radicaux issus de l'oxygène. En raison de leur fiabilité et de leur simplicité, deux procédures ont été choisies pour évaluer l'activité antioxydante des essences des composés phénoliques pour nos études. Le premier est le test 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) et le second est le test de réduction du fer (FRAP).

a. Pouvoir antioxydant par le test DPPH

Le test DPPH est un test facile, simple et rapide suffisamment sensible pour détecter des substances actives à faibles doses. C'est un moyen approprié d'examiner l'activité de piégeage des radicaux libres de plusieurs échantillons (antioxydants purs, extraits de fruits et de plantes) quelle que soit leur polarité [11].

Avec quelques modifications, le test DPPH a été réalisé conformément à la procédure décrite par Lopez-tutz [12]. Les extraits secs de *Lavandula multifida* et de *Pistachier atlantique* où 100 µL de chacune des solutions éthanoïques des produits testées à différentes concentrations sont mélangées avec 1200 µL d'une solution éthanoïque de DPPH (4.10^{-3} %). Après une incubation de 30 minutes à la température ambiante et à l'obscurité, le mélange a été agité dans un vortex. Les absorbances ont été mesurées à 517 nm.

Une comparaison de la suppression du radical libre DPPH par l'acide ascorbique a également été réalisée. Pour déterminer l'activité antiradicalaire (AA), on utilise la formule suivante :

$$AA(\%) = \frac{A_{bs} (DPPH) - A_{bs} (Ech)}{A_{bs} (DPPH)} \times 100$$

Où :

- ✓ $A_{bs} (DPPH)$: Absorbance de la solution (DPPH) blanche.
- ✓ $A_{bs} (Ech)$: Absorbance de l'échantillon (extrait, standard).

b. Pouvoir antioxydant par le test FRAP

Le Pouvoir antioxydant réducteur ferrique des produits, ont été testé selon le protocole de Khaled-Khodja et son équipe [13] avec quelques modifications.

0,5 ml de solution tampon phosphate (0,2 M ; PH = 6,6) et 1,25 mL de ferricyanure de potassium (1 % $K_3Fe(CN)_6$) ont été ajoutés à chaque extrait (m/v). Après refroidissement, les mélanges ont été incubés à 50 °C pendant 20 min. Pour arrêter la réaction 1,25 mL d'une solution à 10 % d'acide trichloroacétique (Cl_3CCO_2H) ont été ajoutés. 1,25 mL du mélange réactionnel ont été mélangés avec 1,25 mL d'eau distillée et 0,25 mL de $FeCl_3$ (1 %). La mesure d'absorbance était de 700 nm. Pour mieux comprendre l'effet anti-radicalaire des différentes huiles essentielles, il est nécessaire de calculer la concentration inhibitrice à **50 %**.

Ce paramètre peut être utilisé pour mesurer l'activité antioxydante d'un échantillon. La concentration d'échantillon nécessaire pour réduire la concentration initiale du radical DPPH jusqu'à la moitié est indiquée par l'**IC₅₀** [14].

II.2.2. Activité antibactérienne

Les deux flores étudiées font partie des familles végétales les plus courantes et les plus intéressantes en termes de qualités médicales. L'activité contre les bactéries des huiles essentielles de ces deux flores est évaluée dans cette rubrique.

Cinq souches ont été soumises à des tests antibactériens en culture in vitro. La macro-méthode de dilution en milieu solide a été utilisée pour obtenir les concentrations inhibitrices et bactéricides les plus faible, puis l'activité antibactérienne a été évaluée à l'aide de l'aromatogramme (test d'inhibition du halo).

Les souches bactériennes ont été exploitées pour évaluation antibactérienne des produits issus de deux plantes testées séparément et de six genres de micro-organismes présentés par le département de biologie de la faculté des sciences de l'Université Ibn Tofail à Kénitra, au laboratoire des ressources naturelles et du développement durable. *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* sont deux bactéries gram-positives, tandis que quatre bactéries gram-négatives sont *Escherichia coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Enterobacter Cloacae* et *Acinetobacter Baumannii*.

• Réactifs et conditions :

Les substances suivantes ont été utilisées dans cette section de notre étude :

- Tween 80.
- Gelose nutritif.
- Gelose Mueller Hinton.

- Diméthylsulfoxyde (DMSO).
- Solution chlorure de sodium 9%. (Na Cl 9%).
- Poudre d'agar-agar

Les souches testées ont été conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 mL de milieu de culture (bouillon nutritionnel).

Les souches sont sélectionnées selon différents critères, notamment :

- Des variétés proviennent de l'hôpital.
- Les patients de l'hôpital sont souvent contaminés par eux.

La sélection des souches est basée sur leur pathogénicité, et leur résistance aux antibiotiques

a. Présentation des bactéries

- ***Staphylococcus aureus***

Les espèces gram-positives de *Staphylococcus aureus* sont répandues dans le monde entier et ont une forme sphérique d'un diamètre de 0,8 à 1 mm, commensales chez l'homme et capables de provoquer des maladies opportunistes dans des circonstances spécifiques. Ils sont disposés en minuscules grappes (comme une grappe de raisin) appelées diplocoques. Cette souche particulière de bactérie est sédentaire, asporulée et souvent sans capsule. Les souches de *Staphylococcus aureus* génèrent généralement une teinte jaune doré [15].

La méningite, l'ostéomyélite et la diarrhée sont causées par *S. aureus*, qui peut également causer des infections nosocomiales et des intoxications alimentaires. Le traitement des patients peut être difficile en raison de sa résistance aux antibiotiques.

- ***Staphylococcus epidermidis***

Staphylococcus epidermidis est une bactérie *Staphylococcus*. Cette espèce à Gram positif fait partie des Cocci. Il est anaérobie facultatif, il se développe naturellement sur la peau et les muqueuses humaines et est responsable de la majorité des infections des cathéters et des implants. En raison de l'utilisation croissante de biomatériaux en milieu clinique, *S. epidermidis* est l'un des organismes les plus répandus causant des infections nosocomiales. L'infection due à des agents pathogènes nosocomiaux se produit dans les prothèses valvulaires, les shunts de liquide céphalo-rachidien, les articulations artificielles, les prothèses vasculaires, les valves, les plaies postopératoires et les voies urinaires. C'est également l'organisme le plus couramment détecté dans le sang des patients transplantés de moelle osseuse et dans les cathéters veineux centraux chez les patients de nutrition parentérale totale.

- ***Escherichia coli***

Un bacille anaérobie facultatif à Gram négatif appelé E. Coli [16] se déplace généralement au moyen de flagelles et ne sporule pas. Ses dimensions varient de 2 à 6 µm de longueur et de 1,1 à 1,5 µm de largeur. L'espèce E. coli est responsable de la majorité du microbiote qui habite le tube digestif humain et de nombreux animaux. Certaines bactéries sont très virulentes et peuvent causer des infections spontanées du tractus gastro-intestinal, du tractus urogénital, voire la rougeole néonatale chez l'homme et certaines espèces animales. Des souches supplémentaires de Plantes peuvent provoquer diverses infections opportunistes, en particulier chez les personnes ayant un système immunitaire moins fort.

- ***Klebsiella Pneumoniae***

Klebsiella Pneumoniae est une entérobactérie, c'est-à-dire un bacille à gram négatif., non mobile et encapsulée qui peut être trouvée dans le sol, les feuilles des plantes, les intestins des mammifères et les eaux usées. C'est un agent pathogène opportuniste qui peut coloniser l'épithélium muqueux de l'intestin et du nasopharynx et se propager aux tissus profonds et à la circulation sanguine des patients sensibles, provoquant des infections graves comme la pneumonie, la méningite, l'endophtalmie, les abcès hépatiques pyogènes et la bactériémie [17]. La capacité de cette bactérie à construire un biofilm sur les équipements médicaux invasifs provoque des infections nosocomiales ultérieures, notamment dans les voies urinaires et pulmonaires. Les infections causées par K. Pneumoniae sont difficiles à traiter, en raison de la forte résistance inhérente aux médicaments de l'agent pathogène.

- ***Enterobacter Cloacae***

Enterobacter cloacae est une bactérie gram négatif en forme de bâtonnet de la famille des Enterobacteriaceae. La taille de cette bactérie varie de 0,3 à 0,6 x 0,8 à 2,0 µm [18].

Enterobacter cloacae vit dans le milieu mésophile avec sa température optimale à 37 °C et utilise ses flagelles péritriches pour se déplacer. Par rapport aux autres infections à Enterobacter, les infections à Enterobacter cloacae ont le taux de mortalité le plus élevé. Étant donné que de nombreux échantillons cliniques d'infections à Enterobacter sont difficiles à différencier d'autres maladies bactériennes, le séquençage de son génome serait extrêmement bénéfique dans le traitement de ces maladies [19].

Enterobacter cloacae est une bactérie responsable d'infections urinaires, infections respiratoires, infections de la peau et des tissus mous, infections intra-abdominales, infections oculaires, autres infections.... Elle affecte principalement les personnes âgées et les enfants. La résistance

de l'organisme aux médicaments entraîne la formation d'une enzyme indétectable in vitro et hautement résistante aux médicaments.

- ***Acinetobacter Baumannii***

Acinetobacter baumannii est un bacille à gram négatif stationnaires, non sporulés, trapus et généralement reliés par paires ou en chaînes courtes du genre *Acinetobacter*. C'est un germe de maladie opportuniste, en particulier chez les personnes immunodéprimées [20].

Acinetobacter baumannii est un agent pathogène mondial. Les voies urinaires, les voies respiratoires, la circulation sanguine, les interventions chirurgicales et d'autres conditions pathologiques sont les sources d'infection les plus courantes. Cet agent pathogène est réputé pour sa capacité à résister à de nombreux médicaments par le biais de divers mécanismes, notamment la synthèse de bêta-lactamases, les pompes d'efflux, la réduction de la perméabilité membranaire et l'altération du site cible de l'antibiotique [21]. *Acinetobacter baumannii* est l'un des agents pathogènes les plus répandus dans le monde. Les voies respiratoires, les voies urinaires, les chirurgies, la circulation sanguine et d'autres troubles sont parmi les sites les plus fréquemment touchés. Ce pathogène est connu pour être capable de résister à une gamme de médicaments par le biais de divers mécanismes, notamment la synthèse de pompes à efflux, la production de bêta-lactamases, la réduction de la perméabilité membranaire, la modification des sites cibles des antibiotiques et l'altération du site cible des antibiotiques. En conséquence, les maladies provoquées par ces bactéries sont difficiles à traiter, le tableau 14 résume les morphologies des microorganismes étudiés.

Tableau 14 : Souches bactériennes testées

Micro-organisme	Gram	Morphologie microscopique
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Coccies
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	Coccies
<i>Escherichia coli</i>	-	Bacilles
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	-	Bâtonnet (Bacilles)
<i>Enterobacter Cloacae</i>	-	Bacilles
<i>Acinetobacter Baumannii</i>	-	Bacilles

b. Détermination des activités antibactériennes par diffusion en gélose

En raison de sa facilité d'utilisation et de son efficacité dans la détection de la sensibilité aux souches, l'activité antibactérienne des huiles essentielles des deux flores étudiées est d'abord appréciée par la méthode de diffusion sur disque [22].

En surfusion, des boîtes de Pétri sont remplies de 20 mL de milieu gélosé de Muller Hinton. Après la solidification des milieux de culture, une suspension microbienne d'une densité optique de 10^6 UFC/mL est étalée en surface. Des disques de papier absorbant Whatman d'un diamètre de 6 mm sont stérilisés en autoclave, trempés dans de l'huile essentielle et déposés sur la surface de la gélose. Avant que les germes ne commencent à se développer, les boîtes de Pétri sont maintenues à 4 °C pendant une heure afin que l'huile essentielle puisse se propager. L'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37 °C. L'huile essentielle et les extraits se répartissent de manière égale lorsque les disques imprégnés sont appliqués. L'absence de développement microbien crée un halo transparent autour du disque après l'incubation, similaire à la gélose stérile. Comme contrôles positifs, l'amoxicilline (25 µg) et la pénicilline (5 µg) ont été utilisées séparément.

c. Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (MIC et MBC)

Les concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) sont estimées par la méthode de dilution d'agar [23]. L'huile essentielle est émulsionnée par une solution d'agar à 0,2 %. Les dilutions sont préparées dans cette solution d'agar à 1.10^2 µL/mL, 40 µL/mL, 20 µL/mL, 10 µL/mL, 5 µL/mL, 3,3 µL/mL et 2 µL/mL. Dans des tubes à essai contenant chacun 13,5 ml du milieu solide, stérilisés à l'autoclave à 121°C, 1,5 ml de chaque dilution est ajouté aseptiquement de façon à vérifier les ultimes concentrations de 10 µL/mL ; 4 µL/mL ; 2 µL/mL ; 1 µL/mL ; 5.10^{-1} µL/mL ; $3,3.10^{-1}$ µL/mL et 2.10^{-1} µL/mL. Le contenu de chaque tube est immédiatement versé dans une boîte de Pétri stérile. Des témoins, contenant le milieu de culture et la solution d'agar à 0,2%, sont également préparés.

L'ensemencement se fait par stries à l'aide d'une anse de platine calibrée afin de prélever le même volume d'inoculum. Ce dernier se présente sous forme de bouillon de culture de 24 heures. L'incubation se fait pendant 24 heures à 37°C. Afin de réduire le nombre d'erreurs expérimentales, chaque essai est répété trois fois.

Les informations sur l'efficacité antimicrobienne sont fournies par le rapport CMB/CMI. En effet, lorsque le rapport est strictement supérieur à 4, il est bactériostatique, et lorsqu'il est inférieur ou égal à 4, il est bactéricide [24].

d. Évaluation de l'activité microbiologique

Les produits isolés des sections aériennes de feuilles de *Pistachier atlantique* et de *Lavandula multifida* ont été évaluées pour leur activité antibactérienne et leur potentiel inhibiteur à l'aide de l'aromatogramme. La technique de diffusion en gélose a été utilisée pour évaluer ce test.

- **Aromatogramme :**

Il s'agit d'une méthode *in vitro* d'évaluation de l'activité antibactérienne dans laquelle le diamètre d'inhibition des extraits de plantes médicinales est déterminé à l'aide de la méthode bactériostatique de Vincent. L'imagerie aromatique peut être utilisée sous toutes ses formes, en milieu solide ou liquide. Nous avons choisi un milieu liquide pour ce travail, qui est le nôtre, car il est simple et plus facile à reproduire.

- **Dilutions des produits :**

Après avoir déterminé les valeurs CMI des produits, les concentrations ont été diluées avec du diméthylsulfoxyde ou DMSO. Les cultures ont été placées dans des tubes de Mueller Hinton Broth (MHB) et ont été incubées pendant 24 heures à 37°C, une condition de croissance idéale car les pathogènes prolifèrent rapidement sur le bouillon nutritif. La norme McFarland de 0,5 de 108 unités formant colonie a été utilisée pour corriger toutes les densités optiques des cultures. La surface externe de la gélose Mueller Hinton a été stérilisée avec 10⁻¹ mL de chaque solution bactérienne (CFU)/mL. L'émulsification a été effectuée sur gélose afin d'améliorer l'interaction germe/composé. Le refroidissement solidifie l'agar.

Chaque disque de papier Whatman a été imprégné de 2.10⁻¹ millilitres de chaque extrait, qui a été divisé en plusieurs concentrations, puis placé à la surface des boîtes de Pétri où les organismes à étudier avaient été infectés ou dispersés. Celui-ci a été incubé à 37°C pendant 24 heures après avoir été maintenus à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la diffusion des extraits.

- **Le halo d'inhibition :**

Après un temps de latence, l'effet des extraits crée une zone circulaire transparente autour du disque qui ne présente aucun développement. La sensibilité de la souche est proportionnelle à la taille de la zone.

La largeur de la souche est corrélée à sa sensibilité. Après cela, le diamètre du halo inhibiteur qui entoure les disques est déterminé en millimètres. Chaque halo ou région claire indique la mort de la bactérie pathogène et l'efficacité antibiotique des extraits étudiés.

De plus, des disques imprégnés d'éthanol et de DMSO ont été utilisés. Les expériences ont été répétées à trois reprises.

- **Lecture des résultats :**

L'effet des huiles provoque l'apparition d'une zone circulaire transparente autour du disque qui indique l'absence de croissance. Le principe actif en question est considéré comme sensible, intermédiaire ou résistante à cette zone.

Quatre degrés d'activité sont utilisés pour exprimer les résultats [25] :

- Souche résistante : (-) ; ($D < 8 \text{ mm}$)
- La souche sensible : (+) ; $9 \text{ mm} \leq D \leq 14 \text{ mm}$.
- La souche est sensiblement : (++) ; ($15 \text{ mm} \leq D \leq 19 \text{ mm}$).
- La souche est hypersensible ($D > 20 \text{ mm}$).

Conclusion

Pour étudier la composition chimique, nous avons décidé de travailler précisément sur deux fractions des plantes :

D'une part, les huiles essentielles riches en composés volatils seront extraites par hydrodistillation à l'aide d'un appareil Clevenger.

En revanche, les extraits hydroalcooliques riches en métabolites secondaires seront obtenus par extraction assistée par ultrasons.

Après l'identification des composants chimiques, de ces deux plantes, On a évalué par la suite, l'effet biologique de ces substances.

La première activité biologique, in vitro étudiée est l'activité antibactérienne, pour cette raison on a choisi, des Bactéries pathogène, et résistants aux antibiotiques.

Le 2^{ème} effet étudié était l'activité antioxydante, qui a été évaluée à l'aide des méthodes DPPH et FRAP.

Références bibliographiques

- [1] : Benjilali, B. Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation.2004.
- [2] : Clevenger, JF. Appareil pour la détermination des huiles volatiles. Journal de l'association pharmaceutique américaine.1928.
- [3] : Alabri T.H.A., Al Musalami A.H.S., Hossain M.A., Weli et A.M. et Al-Riyami Q. Étude comparative des capacités antioxydantes et antimicrobiennes de dépistage phytochimique des extraits bruts de feuilles fraîches et sèches de *Datura metel* L. Journal of King Saud University Science.2014.
- [4] : Dohou R., Yamni K., Tahrouch S., Hassani L. I., Badoc A. et Gmira N. Screening phytochimique d'une endémique ibero-marocaine *Thymelaea lythroides*. Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux.2003.
- [5] : Hindumathy CK. Etude in vitro de l'activité antibactérienne de *Cymbopogon Citratus*. Académie mondiale des sciences, de l'ingénierie et de la technologie.2011.
- [6] : Chugh C.A., Mehta S. et Dua H. Criblage phytochimique et évaluation des activités biologiques de certaines plantes médicinales de Phagwara Punjab. Journal asiatique de chimie.2012.
- [7] : Njoku V.O., Obi C. et Onyema O.M. Constituants phytochimiques de certaines plantes médicinales sélectionnées. Revue africaine de biotechnologie.2013.
- [8] : Li H.B., Cheng K.W., Wong C.C., Fan K.W., Chen F. et Jiang Y. Évaluation de la capacité antioxydante et de la teneur phénolique totale de différentes fractions de microalgues sélectionnées. Chimie alimentaire.2007.
- [9] : N. Ghedadba · L. Hambaba · A. Ayachi · M. C. Aberkane · H. Bousselsela · S. M. Oueld-Mokhtar. Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. Phytothérapie.
- [10] : Afnor. Huiles essentielles. Echantillonnage et Méthodes d'Analyse (Tome 1) – Monographies Relatives aux Huiles Essentielles (Tome 2).2000.
- [11] : Saha J.B.T., Abia D., Dumarçay S., Ndikontar M.K., Gérardinc P., Noah J.N., Perrinc D. Activités antioxydantes Contenus phénoliques totaux et compositions chimiques des extraits de quatre bois camerounais : Padouk (*Pterocarpus soyauxii* Taubb) tali (*Erythrophleum suaveolens*) moabi (*Baillonella toxisperma*) et movingui (*Distemonanthus benthamianus*). Cultures et produits industriels. 2013.

- [12] : Lopez-tutz, DS, Alviano, DS, Alviano, CP et Kolodziejczyk, P. Criblage de la composition chimique, des activités antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles d'artemisia. *Phytochimie* .2008.
- [13] : Nabyla Khaled-Khodjaa, Lila Boulekbache-Makhlouf, Khodir Madani. Criblage phytochimique des activités antioxydantes et antibactériennes d'extraits méthanoliques de certaines Lamiacées. / *Cultures et produits industriels*.2014.
- [14] : Kroyer GT. Extrait de trèfle rouge comme ingrédient alimentaire actif et fonctionnel antioxydant. *Sciences alimentaires innovantes et technologies émergentes*. 2004..
- [15] : Berche, P., Gaillard, J. L., Simonet, M., & Simonet, M. *Bactériologie : bactéries des infections humaines*. Flammarion médecine-sciences.1988.
- [16] : Percival, SL, Chalmers, R., Embrey, M., Hunter, PR, Sellwood, J. et Wyn-Jones, . *Microbiologie des maladies d'origine hydrique*. 2004.
- [17] : Joseph, L. ; Merciecca, T.; Forestier, C.; Balestrino, D.; Miquel, S. De la colonisation à la dissémination de *Klebsiella pneumoniae*: un aperçu des études mettant en œuvre des modèles murins. *Microorganisms*.2021.
- [18] : Nishijima, K.A. “Enterobactercloacae.” *CropKnowledgeMaster*.1999.
- [19] : Fraser.S. *Enterobacterinfections*.Medicine.2007.
- [20] : Infections ou colonisations à *Acinetobacter baumannii* multi-résistant aux antibiotiques, France.2004.
- [21] : Vrancianu, C. O., Gheorghe, I., Czobor, I. B. & Chifiriuc, M. C. Profils de résistance aux antibiotiques, mécanismes moléculaires et stratégies de traitement innovantes d'*Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms*.2020.
- [22] : Hsieh, C.J. et al. Caractéristiques épidémiologiques des infections à *Acinetobacter baumannii* associées aux soins de santé à Taïwan entre .2008.
- [23] : Elmakaoui, A. ; Bourais, I. ; Oubihi, A. ; Nassif, A. ; Bézhinar, T. ; Shariati, MA ; Blinov, AV ; Hléba, L. ; Hajjaji, S.E. Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula Multifida*. *J. Microbiol. Biotechnologie. Science alimentaire*. 2022.
- [24] : Ponce, A.G., Fritz, R., Del Valle, C. et Roura, SI. Activité antimicrobienne des huiles essentielles sur la microflore native de la bête à carde biologique. *LWT-Science et technologie alimentaire*.2003.
- [25] : Maestri, DM, Nepote, V., Lamarque, AL et Zygodlo, JA. Produits naturels comme antioxydants. *Phytochimie : Avancées de la recherche*.2006.

CHAPITRE III :

Résultats et Discussion

Introduction

Nous allons maintenant examiner les données et les résultats obtenus.

Après hydrodistillation, les huiles essentielles extraites nous ont permis de faire une série d'observations sur les propriétés organoleptiques et physicochimiques, suivies d'un criblage phytochimique préliminaire sur les métabolites secondaires, ainsi que la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par une méthode de dilution à l'état solide.

Pour déterminer l'effet antioxydant, nous avons choisi deux méthodes (FRAP) qui mesurent la capacité à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}), et DPPH qui se détermine la capacité des substances à neutraliser les radicaux libres ou les oxydants, ce qui peut aider à prévenir ou à ralentir certains types de dommages cellulaires dans les organismes vivants.

I. Etude des pouvoirs antioxydant et antimicrobien de *Lavandula multifida*

I.1. Huile essentielle de la partie aérienne de *Lavandula multifida*

I.1.1. Taux d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne du *Lavandula multifida* a été réalisée par hydrodistillation.

La quantité des huiles essentielle ont été évaluée immédiatement après extraction et ont été exprimée en millilitres (mL) de distillat pour 100 g de matière végétale. Le Taux des produits obtenus a été représenté en pourcentage (%), et il montre combien de grammes de matière végétale séchée ont été utilisés pour extraire 100 g d'huile essentielle.

Le rendement d'extraction a été calculé en utilisant la norme (AFNOR). (Tableau 15)

Tableau 15 : Taux d'extraction

Rendement de l'huile essentielle (%)	Partie aérienne de <i>Lavandula multifida</i>
	0,46 ± 0,01

L'hydrodistillation de la partie aérienne de *Lavandula multifida*, qui a été récolté des plateaux de Rommani, a produit une huile essentielle avec une odeur aromatique et un taux de 0,46 ± 0,01% en fonction du poids de la matière sèche. Anciennes études au Maroc sur différentes parties aériennes de cette plante ont donné des résultats variables, dont certains sont représentés dans le tableau 16.

Tableau 16 : Rendements des huiles essentielles de *Lavandula multifida* marocaine

Région de collecte	Saison de collecte	Elément / Etats	Technique Utilisée	Taux d'extraction (%)	Référence
Sud-Est du Maroc (Errachidia)	Mai 2007	Feuille/ Sèche	Hydrodistillat ion (HD)	1,20	[1]
	Novembre 2010	Feuille/ Sèche		2,4	[2]
Nord-Ouest du Maroc (Tétouan)	Janvier 2011	Fleurs/ fraiche		0,097	[3]

Nous constatons que la partie aérienne de *Lavandula multifida* produit une quantité d'huile essentielle, de la région de Rommani moindre que celle de la zone d'Errachidia, donné par Laghchimi (2014) et Znini (2020) qui ont 2,40 % et 1,2 % respectivement [1 ; 2]. Par contre Douhri (2014) a trouvé une valeur faible qui ne dépasse pas 0,097 % pour la même phase de la région de Tétouan [3].

En outre, dans cette enquête, la même technique d'extraction a été étudiée pour un organe identique de la même espèce dans d'autres pays et a produit des quantités variables d'huiles essentielles, démontrant que la production est influencée par le lieu de récolte, le type de sol, l'environnement, etc.). Le tableau 17 représente quelques résultats.

Tableau 17 : Quelques rendements d'extraction de *Lavandula multifida* du nord de l'Afrique

Pays	Période d'étude	L'élément Traiter	Méthode d'extraction	Rendement (%)	Référence
Maroc Errachidia	Avril - Juin	Feuilles	HD	0,7	[4]
Algerie	Avril 2012	Inflorescence et feuilles		0,8% - 1	[5] [6]
Tunisie	Mai2012	Parties aériennes		1,62	[7]
	-	Parties aériennes		0,26	[8]
Région de l'Anti Atlas (Maroc)	Après la floraison	Parties aériennes	Distillation à la vapeur	2,01	[9]
Algerie	Avril à juin 2011	Parties aériennes	HD	0,1 Avant inflorescent 0,2 après inflorescent	[10]
			Extraction éthanolique	1,4	
Errachidia (Maroc)	Avril-Mai 2007	Parties aériennes	Decoction	6,4	[11]

La quantité de l'huile (Taux) dans les feuilles de *Lavandula multifida* variait de 0,097 à 2,4 %. La variabilité des rendements en huile essentielle rapportée dans les bibliographies repose sur de nombreux paramètres biotiques et abiotiques tels que le type d'organe récolté, le moment de la récolte, le type de sol et les précipitations

Selon Laghchimi (2014), l'hydrodistillation des parties aériennes de *Lavandula multifida* de la région d'Errachidia en novembre donne 2,4 % d'huile essentielle, tandis que l'hydrodistillation de la matière sèche de la même zone de récolte (Errachidia) donne 0,7 %. Le rendement en HE de

Lavandula multifida de la région de l'Anti Atlas est de 2,01 % [9]. Saadi, et al (2016) Obtiennent différentes valeurs de rendement en huile essentielle : 0,8 - 1 % pour la partie aérienne récoltés en Avril 2012 l'Algérie, Msaada (2012) obtient 1,62 % à partir des parties aériennes de *Lavandula multifida* récolté en Mai (2011) en Tunisie.

N'Dédianhoua (2014) a rapporté une valeur de rendement de 2,01 % d'huile essentielle obtenue par distillation à la vapeur à partir de la partie aérienne de *Lavandula multifida* dans la région de l'Anti Atlas au Maroc [9]. Ramchoun (2009), quant à lui, trouve un rendement de 6,4 % dans la région d'Er-Rachidia en utilisant un autre type d'extraction (décoction).

Selon leur recherche [10], il est évident que la méthode d'extraction a un impact sur le taux d'extraction car la même partie de la plante a produit une valeur importante de rendement avec une méthode d'extraction différente.

Le taux de l'extraite aérienne de *Lavandula multifida* par hydrodistillation variait de 0,097 à 2,4 %, pour les prélèvements effectués en juin et de 0,097 à 2,4 % pour ceux prélevés en novembre. Notre huile, avec un taux de 0,46 %, est en train de fleurir. Les résultats ont servi de base à la théorie selon laquelle les variations de la teneur en huiles essentielles de *Lavandula multifida* sont directement liées aux conditions culturelles, y compris le climat et la géographie, la dispersion géographique, l'altitude et le type de sol.

I.1.2. Composition physico-chimique de l'huile essentielle

La qualité d'une huile essentielle se caractérise entre autres par la mesure de l'acidité, la densité, l'indice de réfraction, l'indice de peroxyde...etc.

L'huile essentielle de *Lavandula multifida* est un liquide clair à température ambiante. Elle a une couleur Jaune pâle et une odeur aromatique et légèrement épicée. Pour ces analyses nous avons utilisé l'huile obtenue par hydrodistillation.

a. Indice d'acidité

L'indice d'acidité est obtenu par dosage colorimétrique, on utilise l'hydroxyde de potassium (KOH ; 10^{-1} mol. L⁻¹) comme titrant. L'indicateur colorée utilisée est la phénolphthaléine. A l'équivalence, le mélange prend une couleur rose.

Nos résultats montrent que notre échantillon a un indice d'acidité de 0,065 inférieur à 1,5 %. Cela indique la bonne qualité de notre huile essentielle.

Par comparaison avec d'autres espèces de *Lavandula*, Ma Khouz et collaborateurs [16] ont relaté des résultats similaires. En revanche, K. Bourkache et son équipe [17] ont rapporté des teneurs élevées de l'ordre 3,37 %.

b. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est une grandeur sans dimension, pour une valeur minimale est égale 1. Pour tout milieu matériel transparent l'indice de réfraction est le rapport de la célérité de la lumière dans le vide par la vitesse de la lumière dans ce milieu.

Notre huile a un indice de réfraction de 1,46 et cette valeur semble très proche de celle déclarée dans la norme AFNOR (1,461 - 1,475).

c. Densité

Toutes les espèces chimiques pures sont caractérisées par leur densité. Pour des solides ou des liquides, c'est le rapport entre la masse volumique de l'espèce chimique considérée et celle de l'eau.

La densité de notre huile essentielle, ne dépasse pas 0,94 ce qui rend leur qualité conforme à la norme AFNOR (2000).

I.1.3. Composition chimique de l'huile essentielle

L'identification des composés des huiles essentielles est basée sur la composition :

- De leurs indices de rétention sur les deux colonnes apolaires (Ira) et polaire (Irp), déterminés par rapport aux indices de rétention d'une gamme étalon d'alcane, avec ceux des composés de référence. Les pourcentages relatifs de composants ont été calculés sur la base des aires de pic CG sans utiliser de facteur de correction. Ils sont ensuite comparés avec ceux de produits de référence décrits dans la littérature (Irl).
- De leurs spectres de masse ainsi obtenus avec ceux des produits de référence contenus dans la bibliothèque commerciale et par comparaison des spectres de masse avec ceux de bibliothèque ou de la littérature des données.

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne de *Lavandula multifida* a permis d'identifier 20 composés dont la teneur est supérieure ou égale à 0,2 %. Ces 20 composés ont une aire combinée qui représente 97,8 % des aires combinées de tous les composants de l'huile essentielle.

Le tableau ci-après présente la composition chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne (feuilles et tiges) du *Lavandula multifida*. L'huile a été principalement composée de monoterpène oxygéné (48,7 %) et d'hydrocarbures sesquiterpènes (35,6 %). Les hydrocarbures monoterpène (6,8 %) et les sesquiterpènes oxygénés (6,2 %) dans l'échantillon est révélé faible. Trois composants principaux ont été identifiés par l'analyse de l'huile essentielle : 5,8 % d'oxyde de careophylène, le β -bisabolène (31,9 %), le carvacrol (44,3 %) et le β -bisabolène. En outre, 17

autres composés mineurs étaient présents et ils représentent 16,15 % de les ingrédients totale de l'huile essentielle.

La prédominance du carvacrol dans notre échantillon était en accord avec celles rapportées dans la littérature. Selon A. Saadi [5], les majeurs composants de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* qui étaient le carvacrol (de 27,5 à 57 %), le β -bisabolène (de 25,2 à 38,4 %) et l'oxyde de caryophyllène (de 3,5 à 7,5 %), selon les stades de développement. (Avant inflorescence, pleine inflorescence et post-inflorescence). M. Kouidri a indiqué que l'huile essentielle de *Lavandula multifida* contient un composé majeur qui est de type carvacrol, avec un pourcentage de 61,7 % dans les inflorescences et de 50,9 % dans les feuilles. B. Douhri (2014) [3], ont révélé que l'huile essentielle contient deux composés principaux : le carvacrol (47,6 %), le β -bisabolène (9 %) (Tableau 18).

Tableau 18 : Principaux composés de l'huile essentielle de *Lavandula multifida*

	Portugal (Zuzarte) 2012 [20]	Algeria (Saadi) 2016 [5]	Tunisia Msaada (2012) [7]	Maroc Dauhri (2014) [3]	Notre Etude
Composés	Contribution (%)				
<i>Hydrocarbures monoterpéniques</i>					
α -Pinene	0,8	-	0,45	1,21	0,3
β -Myrcene	-	0,37	-	0,32	0,2
α -Phellandrene	-	-	-	0,09	1,8
3-Carene	0,5	-	-	-	0,3
p-Cymene	0,3	-	1,77	0,67	0,2
(Z)-b-Ocimene	1,7	0,63	-	1,02	1,8
Terpinolene	3,7	0,83	2,05	2,41	2,2
<i>Monoterpènes oxygénés</i>					
Linalool	0,3	5,69	50,05	7,42	0,5
Fenchol	-	0,24	-	-	3,2
α -Terpineol	-	0,69	0,26	0,02	0,4
Carvacrol methyl ether	0,1	-	-	-	0,3
Carvacrol	42,8	50,92	1,33	47,62	44,3

Alcools monoterpéniques					
1-Octen-3-ol	0,6	0,3	0,25	-	0,2
1-Octanol	-	0,14	-	-	0,3
Hydrocarbures sesquiterpéniques					
Oxyde de caryophyllène	0,3	-	0,1	-	2,1
β -Farnesene	2,6	-	0,13	-	0,2
Germacrene-D	0,5	-	0,84	-	1,4
β -Bisabolène	5,6	5,81	-	9,01	31,9
Sesquiterpènes oxygénés					
Caryophyllène	-	1,24	-	-	5,8
α -Cadinol	0,2	-	-	-	0,4

Tableau 19 : Composition chimique de la partie aérienne de Lavandula multifida

N°	RT	RIa	RIb	Composés	Contribution (%)
1	11.9	939	937	α -Pinene (M.H)	0,3
2	12.2	974	971	1-Octen-3-ol (O)	0,2
3	12.9	990	993	β -Myrcene (M.H)	0,2
4	13.5	1002	1000	α -Phellandrene (M.H)	1,8
5	13.9	1008	1010	3-Carene (M.H)	0,3
6	14.4	1024	1026	p-Cymene (M.H)	0,2
7	14.8	1032	1031	β -Ocimene (M.H)	1,8
8	15.5	1068	1070	1-Octanol (O)	0,3
9	15.5	1082	1090	Terpinolene (M.H)	2,2
10	15.6	1095	1091	Linalool (O.M)	0,5
11	16.2	1116	1115	Fenchol (O.M)	3,2
12	16.4	1130	1135	α -Terpineol (O.M)	0,4
13	16.6	1244	1241	Carvacrol methyl ether (O.M)	0,3
14	17.1	1298	1301	Carvacrol (O.M)	44,3
15	18.9	1408	1405	Caryophyllene (S.H)	2,1
16	19.1	1442	1441	β -Farnesene (S.H)	0,2

17	19.8	1484	1486	Germacrene-D (S.H)	1,4
18	21.1	1505	1501	β-Bisabolène (S.H)	31,9
19	21.3	1582	1579	Careophyllène oxide (O.S)	5,8
20	21.6	1652	1650	α-Cadinol (O.S)	0,4
Hydrocarbures monoterpéniques (M.H)					6,8
Monoterpènes oxygénés (O.M)					48,7
Hydrocarbures sesquiterpéniques (S.H)					35,6
Sesquiterpènes oxygénés (O.S)					6,2
Alcools monoterpéniques (O)					0,5
Total des composés identifiés					97,8

- ✓ RT : Temps de rétention
- ✓ RIa : Indice de rétention déclaré
- ✓ RIb : Indice de rétention calculé

Sans tenir compte des composés non identifiés, la composition chimique des huiles essentielles de la partie aérienne de *Lavandula multifida* a montré une prédominance des monoterpènes oxygénés (48,7 %). Il y a des sesquiterpènes hydrocarbonés à 35,6 % et des monoterpènes hydrocarbonés à 6,80 %. Les sesquiterpènes oxygénés et autres représentent 6,2 %, tandis que les sesquiterpènes non oxygénés représentent 0,5 % (Figure 27).

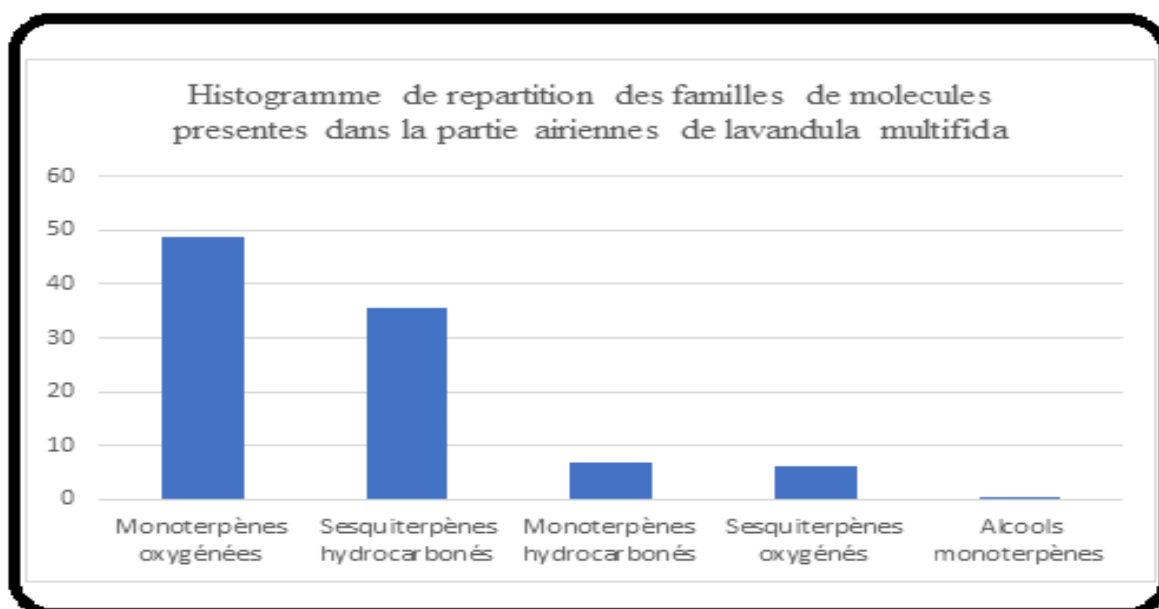


Figure 27 : Principaux familles des molécules de la partie aérienne de *Lavandula multifida*

D'après les résultats du tableau 19, on constate que l'huile essentielle de la partie aérienne de *Lavandula multifida* est principalement composée de carvacrol à 44,30 %, de β - bisabolène à 31,90 % et d'oxyde careophylène à 5,80 %. La figure 28 présente les structures chimiques de ces substances.

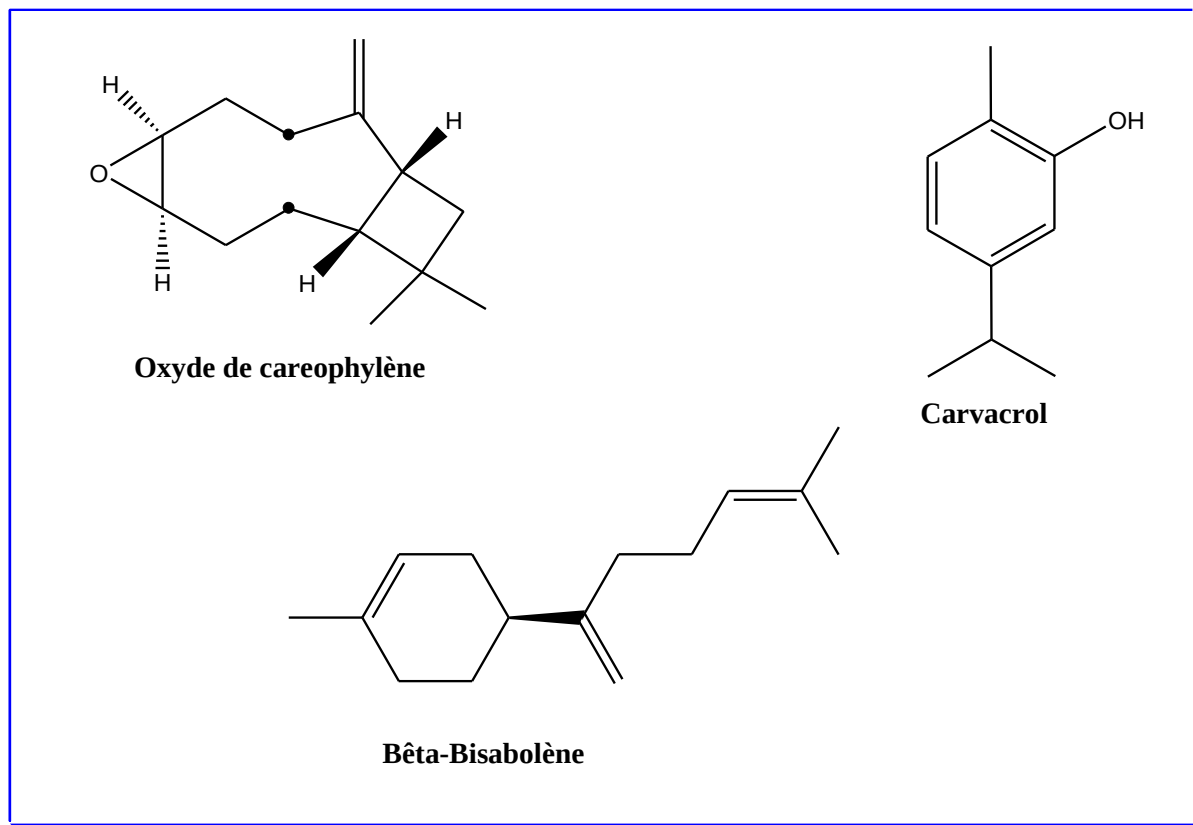


Figure 28 : Structures chimiques des composés majoritaires dans la partie aérienne de *Lavandula multifida*

I.1.4. Activité antibactérienne de l'huile de *Lavandula multifida*

En milieu solide, la valorisation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* (partie aérienne) est calculé en mesure du diamètre des zones d'inhibition. D'une manière générale, on remarque que le pouvoir inhibiteur de l'huile essentielle est à chaque fois très important, les diamètres de la zone d'inhibition s'étalant entre 10 à 20 mm pour chaque souche testée.

Les résultats du test de l'antibiogramme révèlent une variation de l'efficacité d'inhibition de l'huile sur la croissance des différents microorganismes. L'effet antibactérien important a été observé en comparaison avec l'antibiotique de référence contre les souches de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* et *Escherichia coli*. Les diamètres des zones d'inhibition enregistrer varie entre 10 mm et 20 mm, ces zones sont plus importantes que ceux

enregistrer par les antibiotiques sauf pour le cas de la souche *Klebsiella Pneumoniae* où l'antibiotique synthétique testé (Amoxicilline) à donner des valeurs plus importantes que l'huile essentielle 14 mm pour *Klebsiella Pneumoniae*. Des résultats similaires sont rapportés par Douhri (2014) [3] et Benbelaid (2012) [6].

Le screening de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* met en évidence une activité antibactérienne élevée contre les cinq souches de bactéries testées (Tableau 18). La souche *Staphylococcus aureus* est plus sensible à l'huile essentielle de *Lavandula multifida* (CMI= 0.5 µL/mL), tandis que la CMI de cette huile essentielle contre *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* et *Acinetobacter baumannii* est 2µL/mL.

L'huile essentielle *Lavandula multifida* présente un effet bactéricide (CMI = CMB) sur *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella Pneumoniae* et *Escherichia coli*.

Par contre possède un pouvoir bactériostatique contre *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter baumannii* (Tableau 20).

Les effets antimicrobiens de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* peuvent être attribués à la composition chimique de cette plante, spécialement le β-bisabolène et le carvacrol les deux composent majoritaire dans l'huile essentielle et / ou en synergie des mineur composés. Certains auteurs ont démontré que le carvacrol sont les composants antimicrobiens les plus actifs dans certaines plantes ([3] ; [20]).

Il est également démontré que le carvacrol a un fort effet antimicrobien sur de nombreuses bactéries Gram-négatives et Gram-positives ([21-24]).

Tableau 20 : Activité antibactérienne par la méthode de diffusion en gélose de l'huile essentielle *Lavandula multifida*

Microorganismes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	Huile essentielle <i>Lavandula multifida</i>		Antibiotique	
			Am	P
Gram-positive				
Staphylococcus aureus	20 ± 0,00		12 ± 00	NA
Staphylococcus epidermidis	14,66 ± 0,44		07 ± 00	NA
Gram-négative				
Klebsiella Pneumoniae	11 ± 0,00		14 ± 00	NA
Acinetobacter baumannii	10 ,16 ± 0,22		NA	NA
Escherichia coli	10,33 ± 0,44		NA	NA

NA : non actif - Am : Amoxicilline - P : Pénicilline

Le diamètre de la zone d'inhibition, y compris un diamètre de disque de 6 mm, par la méthode de diffusion du disque à une concentration de 15 µL d'huile par disque et à une concentration de 25 et 5 µg par disque d'amoxicilline et de pénicilline, respectivement.

Dans certaines situations, la réponse qualitative ne suffit pas, donc par la suite, (Tableau 21), nous avons essayé de déterminer l'effet quantitatifs, ce qui conduit à déterminer les concentrations minimales inhibitrices.

Tableau 21 : Concentration minimale inhibitrice et bactéricide de l'huile essentielle de *Lavandula multifida*

Microorganismes	Huile essentielle	
	CMI (µL/mL)	CMB (µL/mL)
Gram-positif		
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,5 µL/mL	2 µL/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2 µL/mL	2 µL/mL
Gram-négatif		
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	4 µL/mL	4 µL/mL
<i>Acinetobacter baumannii</i>	2 µL/mL	4 µL/mL
<i>Escherichia coli</i>	2 µL/mL	2 µL/mL

CMI : Concentration minimale inhibitrice -**CMB** : Concentration minimale bactéricide

I.1.5. Activité antioxydante de l'huile de *Lavandula multifida*

Le potentiel antioxydant de l'huile essentielle et des deux témoins (acide ascorbique et Trolox), basé sur la capacité de piégeage des radicaux libres, est mesuré par les méthodes DPPH et FRAP. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 20. La faible valeur IC₅₀ indique également une forte activité protectrice. Les activités antioxydantes de l'huile exprimées en valeurs IC₅₀, étaient de 327, 24 ± 10, 69 et 48, 08 ± 1,71 µg/mL en utilisant les tests DPPH et FRAP, respectivement (Tableaux 22 et 23).

L'activité antioxydante de l'huile essentielle enregistrée peut être considérée comme moins intéressante que les activités antioxydantes des standards utilisés. Les valeurs IC₅₀ standards obtenues par l'acide ascorbique et le Trolox étaient de 13,49 ± 0,48 et 20,72 ± 0,51 µg/mL pour les radicaux DPPH, ainsi que de 19,89 ± 0,41 et 36,95 ± 1,08 µg/mL pour les capacités de réduction du fer. Sur la base des résultats ci-dessus, *Lavandula multifida* semble avoir une activité

antioxydante inférieure à celle trouvée par Messaoud (2012) avec une $IC_{50} = 201,6 \pm 2,0 \mu\text{g/mL}$ pour le DPPH et $39,1 \pm 1,7 \mu\text{g/mL}$ pour FRAP.

Cette étude est la première à étudier l'activité antioxydante de l'huile essentielle dans la région de Zaïre (Rommani). Cette plante a une capacité antioxydante supérieure à celle de *Lavandula steochas* récoltée à Rabat avec une IC_{50} égale à $785,38 \pm 9,04 \mu\text{g/mL}$ et $107,53 \pm 1,74 \mu\text{g/mL}$ par DPPH et FRAP, respectivement [25].

Les propriétés antioxydantes de *Lavandula multifida* sont certainement dues aux principaux composants phénoliques de l'huile essentielle, notamment le carvacrol.

Tableau 22 : Activité antioxydante de l'huile essentielle par rapport aux standards

	DPPH	FRAP
Huile essentielle ($\mu\text{g/mL}$)	$327,24 \pm 10,69$	$48,08 \pm 1,71$
L'acide ascorbique ($\mu\text{g/mL}$)	$13,49 \pm 0,48$	$19,89 \pm 0,41$
Trolox ($\mu\text{g/mL}$)	$20,72 \pm 0,51$	$36,95 \pm 1,08$

Tableau 23 : Le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations d'huile essentielle de *Lavandula multifida*

C ($\mu\text{g/ml}$)	A ₁	A ₂	A _m	RSA (%)
2000	0,057	0,058	0,057	84,311
1500	0,073	0,072	0,071	80,627
1000	0,101	0,099	0,100	72,715
500	0,155	0,153	0,154	57,981
200	0,221	0,219	0,219	40,109
100	0,265	0,272	0,268	26,739

La courbe de la figure 26 représente le pourcentage d'inhibition du DPPH par concentration de l'huile essentielle du *Lavandula multifida*.

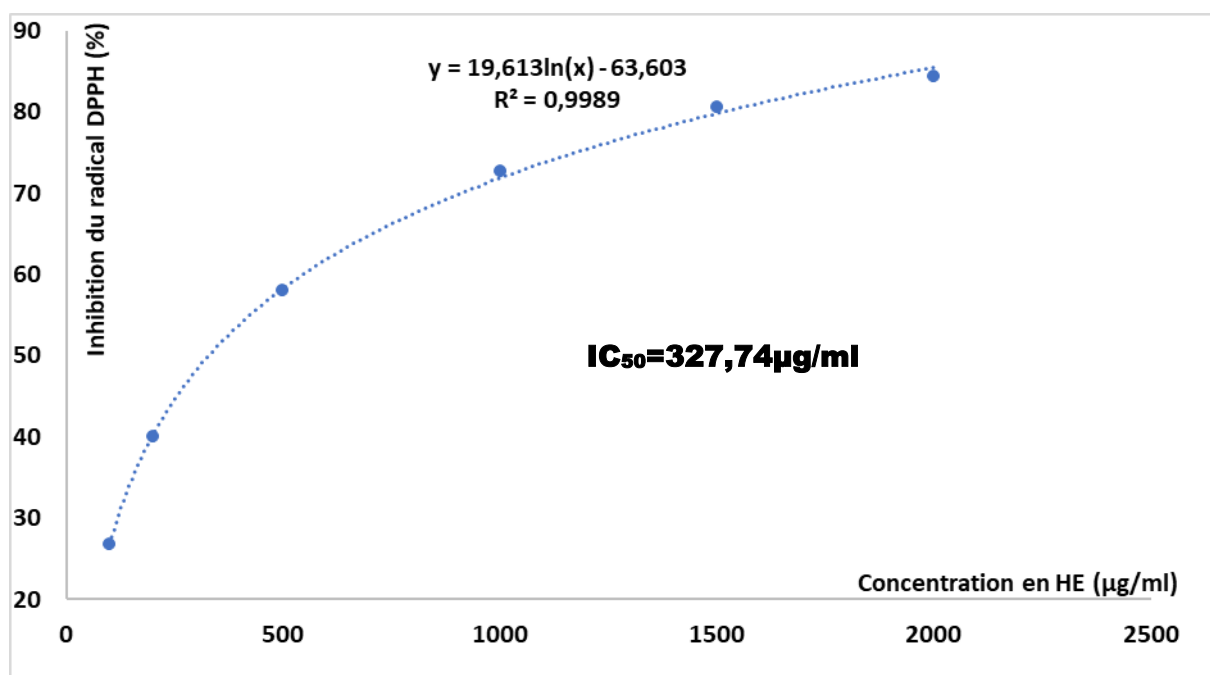


Figure 29 : % d'inhibition du DPPH par concentration de l'huile essentielle du *Lavandula multifida*

Le tableau 24 résume les concentrations CMI et CMB de *Lavandula multifida* de notre étude et deux autres espèces de lavande de la littérature.

Tableau 24 : Comparaison (CMI) et (CMB) des huiles de deux huiles essentielles de lavandes (*L. dentata* et *L. steochas*) et l'huile étudiée de *L. multifida*

Souches bactériennes	Espèces de lavande	CMI (µg/mL)	CMB (µg/mL)	CMB/CMI	Référence
S. Aureus	<i>L. dentata</i>	0,08	0,1	1,25	[26]
	<i>L. steochas</i>	0,17	0,23	1,35	
	<i>L. multifida</i>	2	0,5	0,25	Notre étude
S. Epidermidis	<i>L. dentata</i>	-	-	-	[26]
	<i>L. steochas</i>	-	-	-	
	<i>L. multifida</i>	2	2	1	Notre étude
	<i>L. dentata</i>	0,14	0,16	1,14	

K. Pneumoniae	<i>L. steochas</i>	0,14	0,16	1,14	[26]
	<i>L. multifida</i>	4	4	1	Notre étude
A. baumannii	<i>L. dentata</i>	-	-	-	[26]
	<i>L. steochas</i>	-	-	-	
	<i>L. multifida</i>	4	2	0,5	Notre étude
E. coli	<i>L. dentata</i>	0,14	0,16	1,14	[26]
	<i>L. steochas</i>	0,14	0,16	1,14	
	<i>L. multifida</i>	2	2	1	Notre étude

I.2. Extraits hydroalcooliques de la partie aérienne de *Lavandula multifida*

I.2.1. Rendement d'extraction

Lors de l'extraction de composés, que ce soit dans l'alimentation ou dans le domaine de la parfumerie, il est essentiel de préserver les propriétés sensorielles, physiques et chimiques de l'arôme. Lorsqu'ils utilisent des techniques traditionnelles d'infusion d'arômes, la plupart des clients rencontrent des rendements limités et des ingrédients indésirables. Ceci peut être évité en utilisant une technique d'extraction assistée par micro-ondes.

Cette méthode d'extraction par micro-ondes offre plusieurs avantages par rapport aux méthodes conventionnelles, tels qu'un temps d'extraction plus court, une utilisation réduite ou inexistante de solvant, des taux d'extraction de composés plus élevés et donc un coût global inférieur.

C'est pourquoi nous avons décidé d'extraire avec un bain à ultrasons (EAU) et d'extraire avec une sonde à ultrasons (SU), le tableau 25 donne les taux d'extraction.

Tableau 25 : Taux d'extraction

Extraits	Rendement (%)
Bain à ultrason	11,7 ± 0,31
Sonde ultrasonique	17,63 ± 0,14

Les résultats des extraits bruts de la partie aérienne de *Lavandula multifida* issus des deux méthodes utilisées ont montré que le rendement le plus élevé était lorsque l'extraction était

réalisée à l'aide d'une sonde à ultrasons. Le rendement d'extraction varie donc en fonction de la méthode utilisée.

Nos résultats sont accord avec ceux rapportés par L. Bachiri (2016) [26] qui ont démontré que l'extrait renferme une valeur de $17 \pm 0,10$ %.

I.2.2. Screening phytochimique

Dans le but de rechercher les différentes classes des substances secondaires dans les extraits alcooliques de *Lavandula multifida*, un screening phytochimique a été réalisé via la conduite d'un ensemble de réactions de caractérisation de différents composés chimiques à savoir : les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les alcaloïdes, les anthraquinones, les coumarines, les stéroïdes, et les triterpènes.

Les résultats de la caractérisation chimique sont résumés dans le tableau 26 suivant.

Tableau 26 : Criblage phytochimique des extraits hydroalcooliques

	Extrait (EAU)	Extrait (SU)
Alcaloïdes	-	-
Anthraquinones	±	+
Coumarines	+	+
Saponines	-	-
Stéroïdes	±	±
Triterpénoïdes	+	+
Polyphénols	+	+
Flavonoïdes	+	+
Tanins	±	+

+ : Réaction positive ; ± : Réaction douteuse ; - : Test négatif.

Le criblage phytochimique de la partie aérienne des deux méthodes utilisées a mis en évidence la présence de plusieurs composés chimiques réputées avoir des activités biologiques intéressantes (activité antibactérienne, activité antifongique, activité antioxydante...). Il s'agit

entre autres des substances polyphénoliques dont les tanins catéchiques, des flavonoïdes et triterpènes, en plus des traces des anthraquinones. Les résultats montrent une similitude entre les deux méthodes quant à la présence ou l'absence d'une famille chimique donnée, à l'exception d'une légère différence au niveau des anthraquinones avec une réaction douteuse pour extraction à bain d'ultrason et positive pour l'extrait par sonde ultrasonique, ces résultats attestent que cette dernière est plus efficace que l'autre.

I.2.3. Dosage des composés majeurs

a. Dosage des polyphénols totaux

Pour déterminer la quantité des polyphénols totaux dans la partie aérienne de *Lavandula multifida*, nous avons utilisé comme standard l'acide gallique (EAG).

La teneur en composés phénoliques (TPC) de chaque extrait a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 30) et exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche.

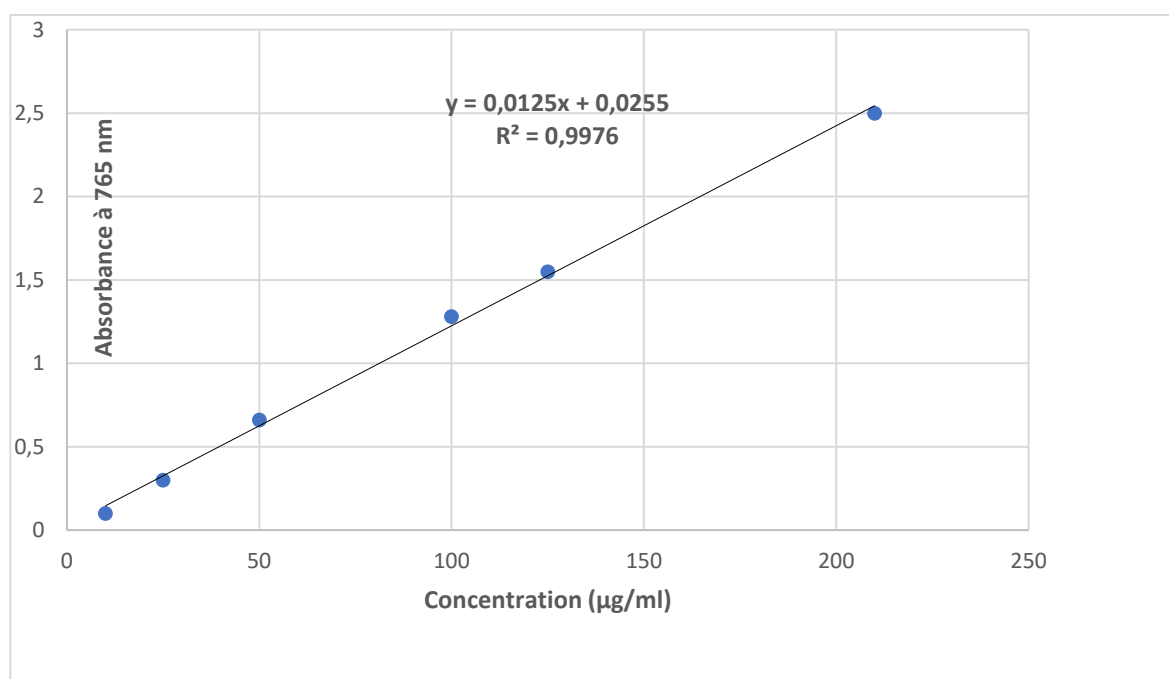


Figure 30 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Notre analyse montre que l'extrait hydroalcoolique trouvé par sonde ultrason est caractérisé par une teneur plus élevée en polyphénols, elle est de l'ordre de $58,16 \pm 2,079$ (mg EAG/g d'extrait) en revanche on a trouvé $33,55 \pm 2,911$ (mg EAG/g d'extrait) pour l'extraction à l'aide d'un bain à ultrason.

Tableau 27 : Composés phénoliques dans la partie aérienne de *Lavandula multifida*

Technique d'extraction	TPC (mg EAG/g d'extrait)
Bain à ultrason	33,55 ± 2,911
Sonde ultrasonique	58,16 ± 2,079

b. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC)

Pour déterminer la quantité des flavonoïdes totaux dans la partie aérienne de *Lavandula multifida*, nous avons utilisé comme standard la quercétine. Cette dernière est utilisée pour établir la courbe d'étalonnage (Figure 31), qui permet de déterminer la teneur en flavonoïdes (TFC) de chaque extrait.

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ / g d'extrait).

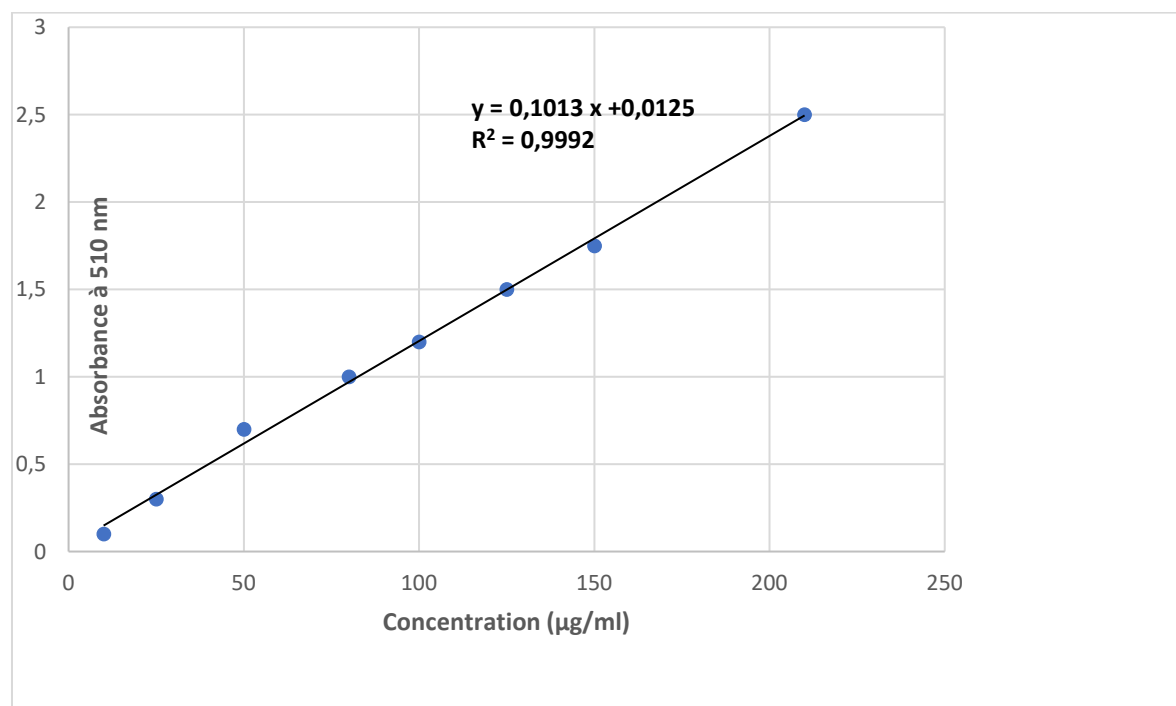


Figure 31 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

L'étude de la teneur en flavonoïdes dans *Lavandula multifida* a montré que la teneur la plus basse en flavonoïdes est présentée par l'extraction par bain à ultrason avec une valeur de $7,5 \pm 0,922$ (mg EQ / g d'extrait), alors que l'extraction par sonde ultrason donne une valeur plus élevée. En

effet l'extrait hydroalcoolique par sond ultrasonique renferme une teneur de l'ordre de $14,65 \pm 1,537$ (mg EQ / g d'extrait).

Tableau 28 : Teneur en flavonoïdes dans la partie arienne de *Lavandula multifida*

Technique d'extraction	TFC (mg EQ /g d'extrait)
Bain à ultrason	$7,5 \pm 0,922$
Sonde ultrasonique	$14,65 \pm 1,537$

c. Teneur en tanins condensés

Les tanins sont des composés phénoliques polaires d'origines végétales Ils existent presque dans chaque partie de la plante (écorce, bois, feuilles, fruits et racines) avec des poids moléculaires très élevés (500-3000 Daltons) [27]. La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 32), établie par la catéchine comme standard.

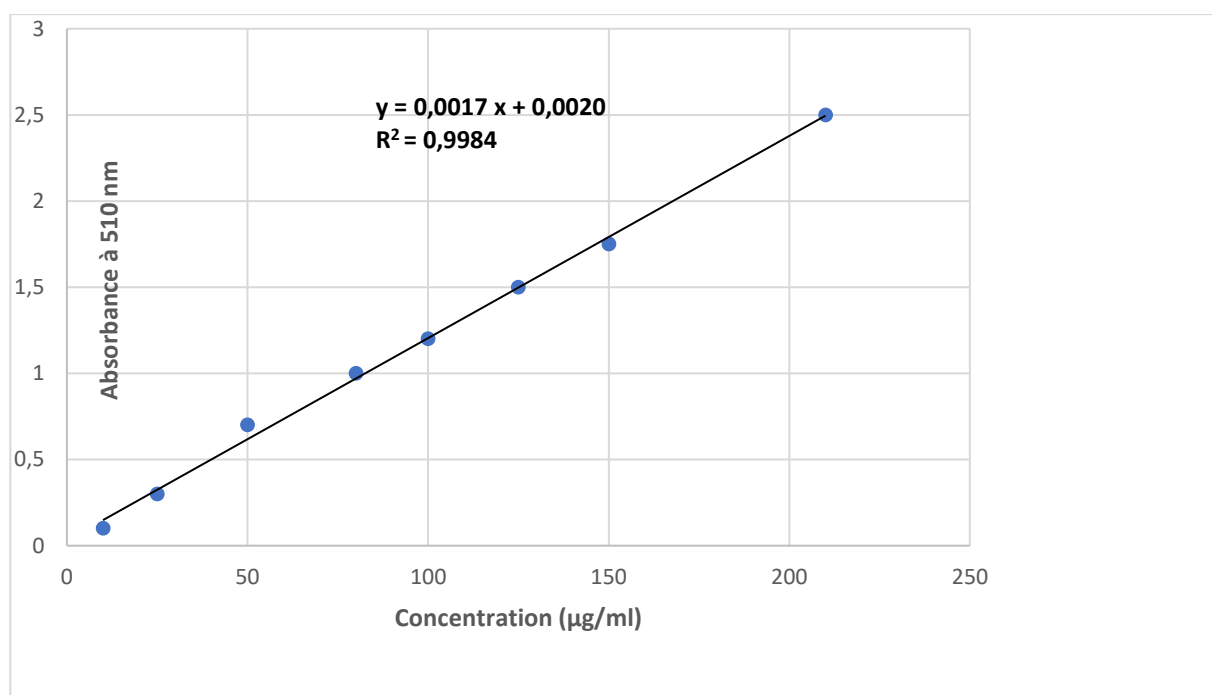


Figure 32 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

Comme le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, la teneur en tanins totaux a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage. Elle est exprimée en milligrammes équivalents de catéchine (EC) par gramme de matière sèche (mg EC/ g d'extrait).

Nos résultats montrent que, les tanins sont présents à une teneur faible (forme des traces) pour les deux extraits avec un moyenne de $0,32 \pm 0,04$ (mg EC/ g d'extrait) pour l'extrait obtenus par EAU et $1,84 \pm 0,642$ (mg EC/ g MS) pour l'extraction par sond ultrason (Tableau 29).

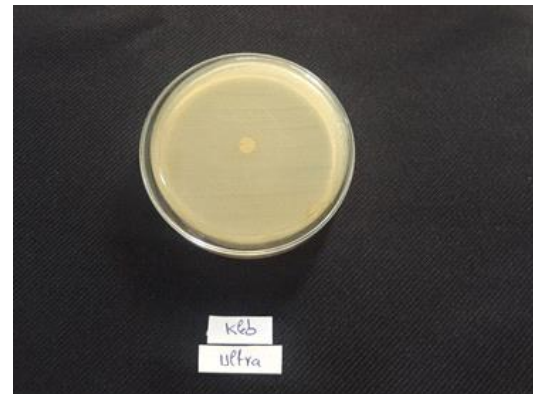
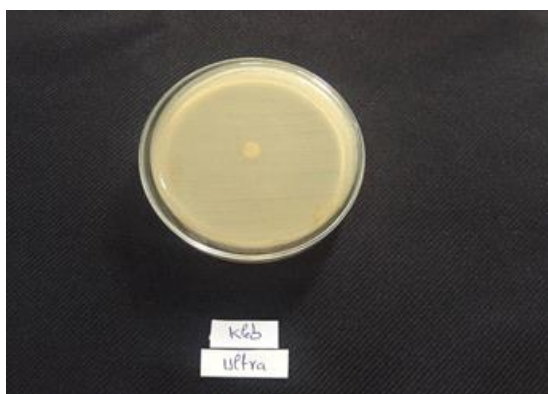
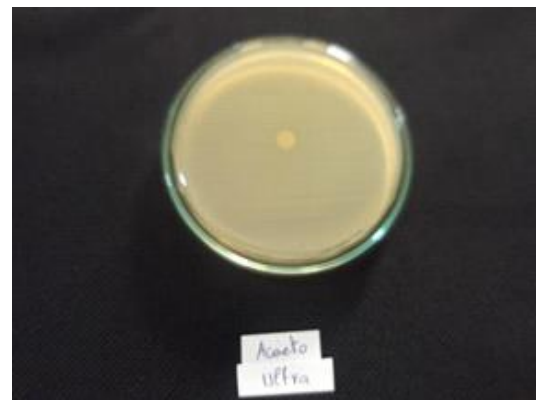
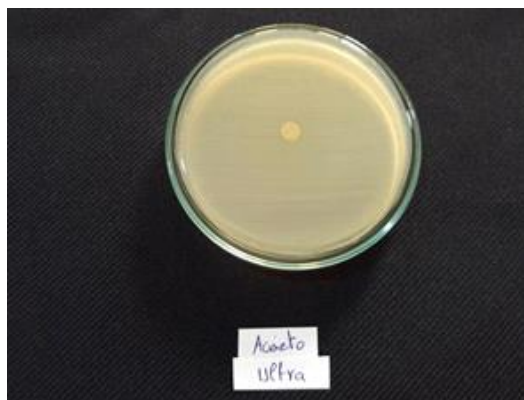
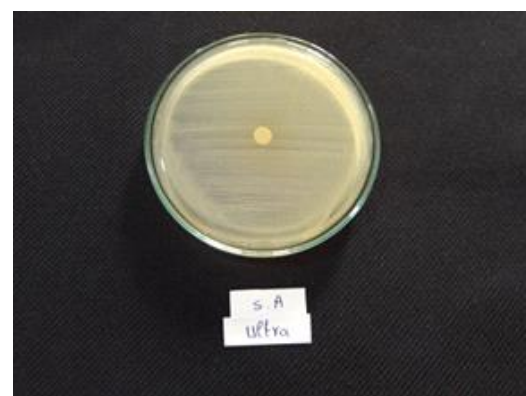
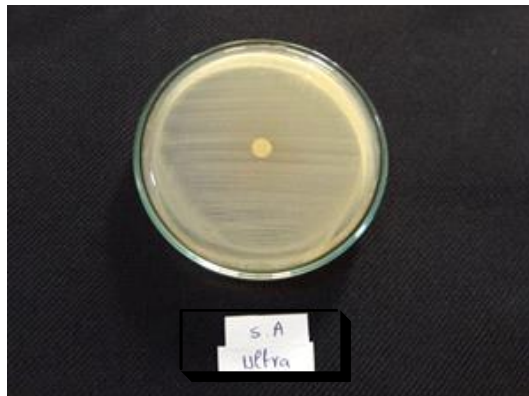
Tableau 29 : Contenu en tanins totaux dans la partie aérienne de *Lavandula multifida*

Technique d'extraction	TTC (mg EC /g d'extrait)
Bain à ultrason	$0,32 \pm 0,04$
Sonde ultrasonique	$1,84 \pm 0,642$

I.2.4. Activité antimicrobienne des extraits

La méthode de diffusion des disques nous a permis de déterminer le pouvoir antimicrobien des extraits hydroalcooliques extrait par deux méthodes innovantes c'est l'extraction avec sond ultrason d'une part et d'autre part l'extraction par bain à ultrason de la partie aérienne de la region de Zaïre via Cinq souches bactériennes deux gram positif et trois à gram négatif.

L'antibiogramme est représenté en dessous (Figure 33).



EAU

SU

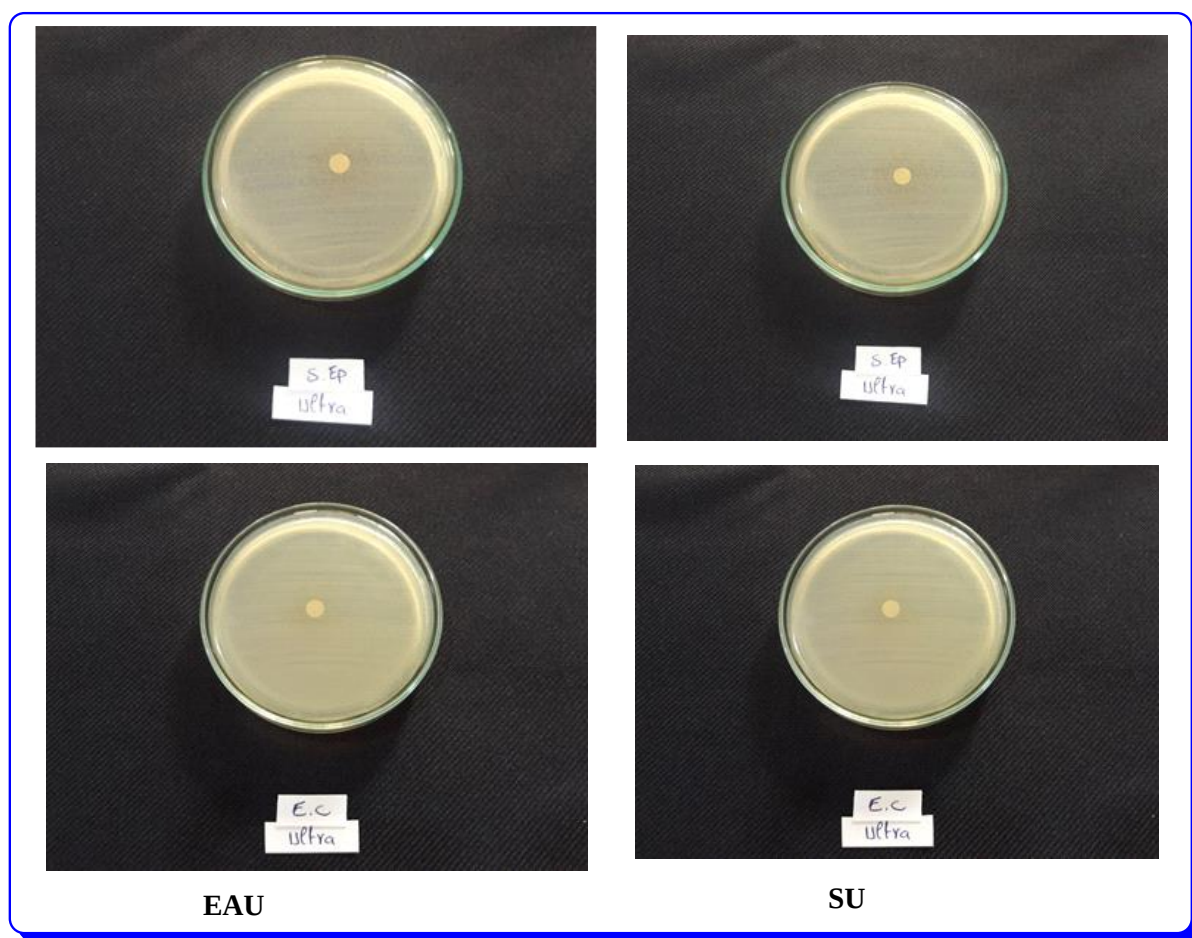


Figure 33 : Antibiogramme des extraits hydroalcooliques

D'après nos résultats illustrés dans la figure 33, nous remarquons que les deux extraits de la partie aérienne de *Lavandula multifida* n'ont aucun effet sur les souches étudiées.

I.2.5. Activité antioxydante

L'activité antioxydante est évaluée en utilisant deux méthodes différentes : La méthode du test DPPH et la méthode de FRAP.

a. Test du piégeage du radical libre DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits hydroalcooliques du *Lavandula multifida* et du témoin positif l'acide ascorbique a été déterminée par la méthode au DPPH. Les résultats obtenus sont Représentés sous forme des droites dans la figure 34.

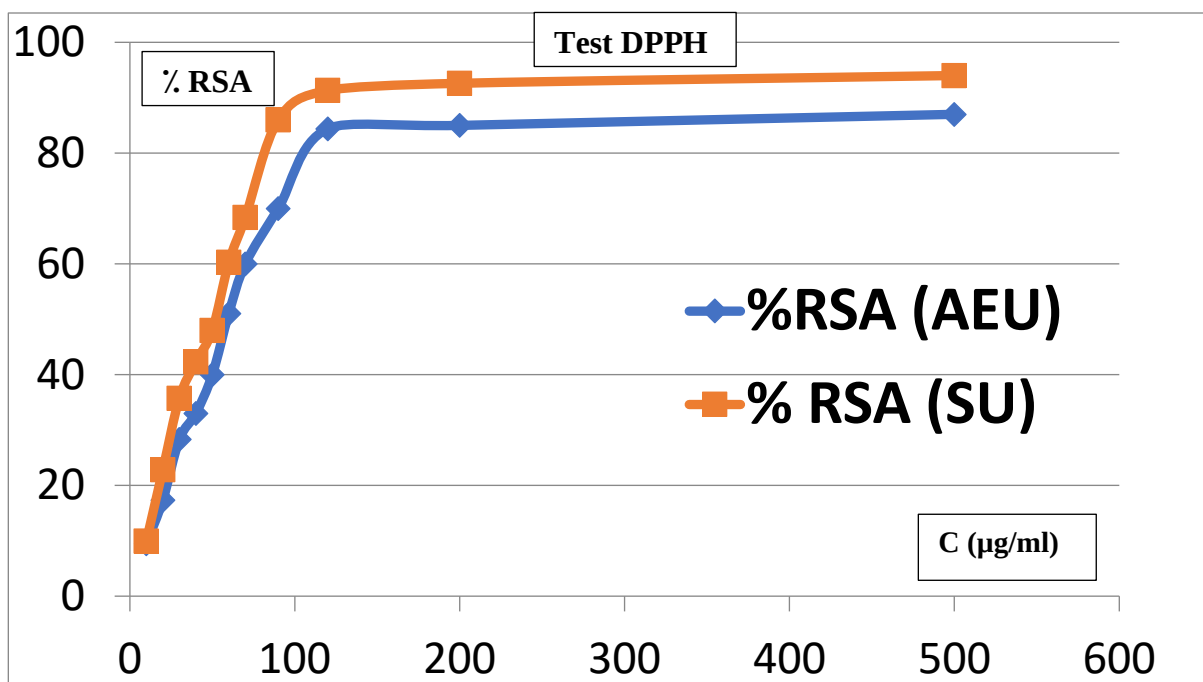


Figure 34 : Activité antioxydante du *Lavandula multifida*

L'activité antiradicalaire de nos extraits est exprimée en IC_{50} . Ce dernier est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre DPPH de 50 %. Les valeurs inférieures d' IC_{50} indiquent l'efficacité de l'extrait et ainsi un pouvoir antioxydant plus fort. Pour chaque échantillon l' IC_{50} est déduite de la courbe correspondante, et les valeurs obtenues sont regroupés dans la figure 35.

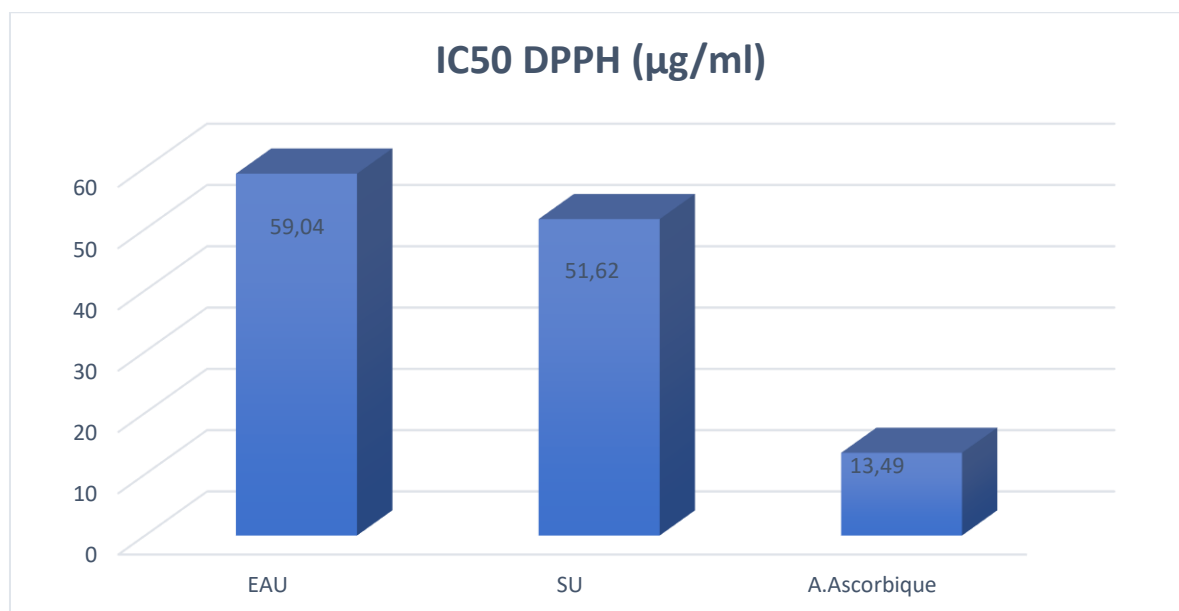


Figure 35 : Valeurs des IC_{50} de test DPPH des extraits et de l'acide ascorbique

Comme figurant ci-dessus l'antioxydant standard acide ascorbique a montré une activité antioxydante puissante avec une IC_{50} de l'ordre de $13,49 \pm 0,48 \mu\text{g/mL}$. Pour les échantillons de *Lavandula multifida* l'extrait eau -éthanol obtenus par sond ultrason est plus actif que celui de trouvé par bain a ultrason. En effet, l'extrait SU présent un IC_{50} de l'ordre de $51,62 \pm 0,182 \mu\text{g/mL}$ contre $59,04 \pm 0,32 \mu\text{g/mL}$ pour l'extrait à bain ultrason. Cette action réductrice peut être expliquée par la présence de taux relativement élevé de polyphénols dans l'extrait du sond ultrason. Turkman, 2007 ont conclu que les polyphénols semblent être efficace d'hydrogène au radical DPPH [28].

b. Réduction de fer (FRAP)

Afin de valider les résultats de l'efficacité antioxydante des extraits hydroalcooliques de *Lavandula multifida* obtenus précédemment par le test anti-radicalaire du DPPH, nous avons utilisé un 2^{ème} test basé sur la capacité à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). Les valeurs de nos échantillons sont regroupées dans la figure 36.

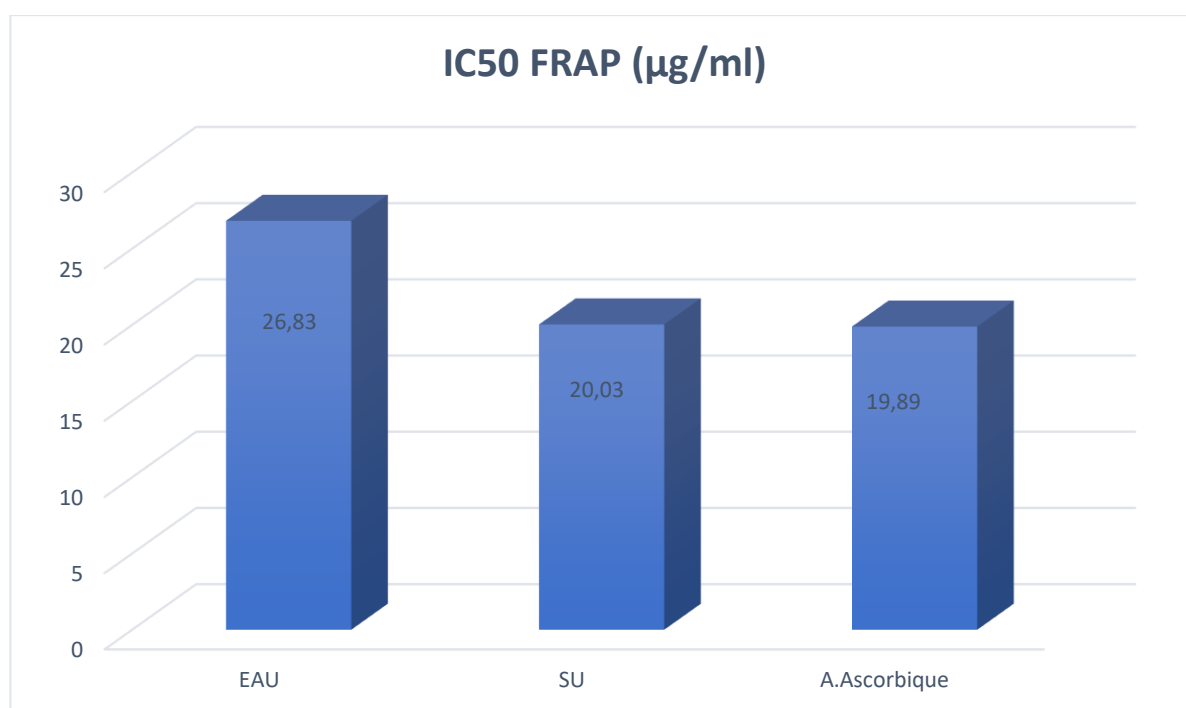


Figure 36 : Valeurs des IC_{50} de test FRAP des extraits et de l'acide ascorbique

Comme constaté par la méthode de DPPH, L'extrait alcoolique qui obtenus par extraction à sonde ultrason présent un pouvoir antioxydant plus élevé que celui extrait par bain à ultrason. En effet, l' IC_{50} d'extrait par sond à ultrason est de l'ordre de $20,03 \mu\text{g/mL}$, par contre l'extrait par bain à ultrason présent un IC_{50} de l'ordre de $26,83 \mu\text{g/mL}$. Cette activité était faible que celle trouvé

pour le témoin acide ascorbique. En revanche, la capacité de l'extrait eau- éthanol extrait par sond à ultrason à réduire les ions Fe^{3+} en Fe^{2+} était relativement semblable à celle de l'acide ascorbique.

II. Etude biologique de Pistachier atlantique

Dans ce paragraphe nous avons intéressé sur l'analyse quantitatif, qualitatif et biologique de l'huile essentielle dérivée des feuilles de *Pistachier atlantique*, dans la région de Rommani province de Khemisset, en se basons sur les variations liées au diamètre du tronc principal. Dans la zone de Zaïre, nous avons déterminé une superficie de 23 mètres de large et 37 mètres de longue c'est-à-dire une superficie de 851 m², contenant différente espèces des arbres, parmi eux les *Pistachier atlantique* où nous avons sélectionné cinq arbres avec des diamètres de tronc principal différents de Ø1 jusqu'à Ø5 dans l'ordre croissante. Les différentes feuilles sont récoltées fin d'Octobre 2021, et conservées dans des sacs séparés les uns des autres, puis transférées à l'institut scientifique de Rabat pour identification. Ces échantillons prenant le code du bon **RAB 113647**, certains sont conservés à l'herbier de l'institut, et d'autres ont été transportés au laboratoire.

II.1. Huile essentielle de feuilles de Pistachier atlantique

II.1.1. Taux d'extraction

Après l'extraction des feuilles nous avons déterminer le rendement des huiles essentielles, qui sont rapportés sous forme de valeurs moyennes avec écarts types. Les résultats sont regroupés dans le tableau 30.

Tableau 30 : Rendement en huile essentielle de feuilles de Pistachier atlantique

Diamètre (Ø 10 ⁻² .m)	HE (%)
Ø1 = 11,46	0,06 ± 0,01
Ø2 = 20,56	0,11 ± 0,03
Ø3 = 22,45	0,09 ± 0,02
Ø4 = 23,73	0,06 ± 0,02
Ø5 = 25,12	0,06 ± 0,02

Comme nous l'avons montré dans le chapitre précédent, l'extraction par hydrodistillations a pour faible rendement en huile pour tous les échantillons. Il semble de nos résultats que

Dont les diamètres les échantillons Ø1, Ø4 et Ø5 ont tous produit la même quantité d'huile essentielle de l'ordre $0,06 \pm 0,02$ %. En revanche les échantillons Ø3 (20,56 cm) et Ø2 présentent des rendements $0,09 \pm 0,02$ % et $0,11 \pm 0,03$ % respectivement.

Selon les études de Tzakou, O., Barrero, A.F. et Hasheminya, S.M. [9, 11], le rendement en huiles essentielles des feuilles de *Pistachier atlantique* est respectivement de 0,13 %, 0,24 % et 0,2 %. Pourtant, nos résultats ne dépassent pas 0,11%. Des études ont révélé qu'entre 0,02 % et 0,12 % des huiles essentielles étaient produites en Algérie [12]. Cette variation est probablement due à l'habitat, à l'âge, à la saison de récolte et à la technique d'extraction. Le tableau 31 présente un résumé des quelques études précédents.

Tableau 31 : Quelques rendements d'extraction de Pistachier atlantique

Pays	Saison de collecte	Partie étudiée	Méthode utilisée	Rendement (%)	Référence
Maroc (Marrakech)	Juillet 2000	Feuilles	HD	0,20	[13]
		Fruits		0,80	
		Resine		32,60	
Algérie	2005	Feuilles	maceration	13,53	[16]
Tunisie	Septembre 2019	Fruits	Supercritique CO ₂	$25 \pm 0,17$	[17]
			Extraction par hexane	$18 \pm 0,25$	
			Extraction par pression	$6 \pm 0,12$	
Grèce	2002	Feuilles	-	0,13 – 0,24	[12]
		Fruits	-	0,20 – 0,22	
Algérie	Octobre 2007	Feuilles	HD	0,02 – 0,12	[15]

Des variations dans la production d'huiles essentielles ont été signalées d'une espèce ou d'un organe à l'autre. Certains auteurs affirment que les éléments qui peuvent également affecter directement la production d'huile essentielle comprennent l'origine de la récolte de l'espèce, la saison de récolte, l'organe de la plante, la durée du séchage et la technique d'extraction [18].

II.2. Caractérisation des Huiles Essentielles

II.2.1. Propriétés Organoleptiques

Les propriétés organoleptiques des huiles essentielles des feuilles de *Pistachier atlantique* et sont résumées dans le tableau 32.

Tableau 32 : Caractéristiques organoleptiques des H. Es de Pistachier atlantique

Espèce	Odeur	Couleur	Aspect physique	Saveur
<i>Pistachier atlantique</i>	Aromatique Persistantes	Jaune Clair au Brun Clair	Liquide Limpide	Épicée

II.2.2. Analyses physiques des huiles essentielles

L'huile essentielle est évaluée et régulée en utilisant sa densité, son indice de réfraction, son indice d'acidité. Ces caractéristiques physicochimiques sont déterminées selon une procédure spécifique et respectent les critères de A.F.N.O.R.

Les résultats moyens des études physiques sont également affichés dans le tableau 33.

Tableau 33 : Propriétés physiques et chimiques moyennes des H.E pour les feuilles de Pistachier atlantique

Espèce	Densité (20°C)	Indice d'acidité (%)	Indice de peroxyde (méq O ₂ / kg)	Indice de Réfraction
<i>Pistachier atlantique</i>	0 ,862	0 ,055	1 ,09	1,485

Par rapport aux résultats, la densité de nos huiles essentielles, est de l'ordre 0,862 à 20 °C, ce qui rend leur qualité conforme à la norme AFNOR (2000). La moyenne des indices de réfraction des huiles a pour valeur de 1,485 ce qui le rend utilisable dans le domaine cosmétique.

Un faible indice d'acidité 0,055 témoigne d'une bonne conservation de l'huile, en effet, lors de sa production, une huile quel que soit sa qualité ne contient que très peu d'acide, ce n'est que lors de sa conservation qu'elle gagnera en acide (devenant progressivement inutilisable). Un indice acide faible indique que les huiles essentielles sont stables et ne provoquent pas d'oxydation). Par ailleurs l'indice de peroxyde permet d'évaluer le niveau d'oxydation primaire produite au cours du stockage de l'huile. Les résultats des huiles analysées donnent une moyenne de 1,09 (még O₂/ kg), ce qui montrent que tous les échantillons étudiés que les huiles essentielles sont stables et ne provoquent pas d'oxydation.

II.3. Etude biologique des huiles essentielles des feuilles de Pistachier atlantique

II.3.1. Composition chimique

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de l'huile essentielle des feuilles de *Pistachier atlantique* révèlent la présence de trente-cinq composés. La CG-MS permet d'identifier ces dernières qualitativement et quantitativement. Selon les résultats, les cinq huiles sont toutes riches en monoterpènes hydrocarbonés, suivis des monoterpènes oxygénés à 70,28% et 26,62%, respectivement. Où l' α -Pinène (18,49 %, 24,67 % et 37,51 %) est le composé majoritaire pour les feuilles de l'arbres dont les diamètres Ø3, Ø2 et Ø1 respectivement, et le Terpène-4-ol pour les deux autres Ø4 (19,00 %) et Ø5 (22,33 %). Les résultats sont résumés sur le tableau 33.

Tableau 34 : Composition chimique des feuilles d'huile essentielle

N	Composés	RT (min)	IK	Area (%) Ø 1	Area (%) Ø 2	Area (%) Ø 3	Area (%) Ø 4	Area (%) Ø 5
1	α-Pinene	6.72	936	37.51	24.67	18.49	15.71	13.38
2	Camphene	7.57	955	11.58	6.33	2.20	-	1.08
3	α -Sabinène	8.69	977	12.03	5.26	7.06	9.84	4.10
4	β -Pinene	9.12	980	4.26	0.43	-	1.34	0.94
5	α -Phellandrene	9.85	1006	-	0.11	1.30	0.42	0.85
6	α -Terpinene	10.19	1020	0.23	0.42	7.15	2.59	4.56
7	Limonene	10.65	1022	1.84	0.59	-	-	-
8	p-Cymene	11.21	1025	1.87	6.71	6.65	13.74	13.97
9	γ -Terpinène	11.99	1059	0.45	1.28	10.33	5.94	7.59
10	Isoterpinolène	12.99	1064	0.51	0.48	2.68	1.71	2.30
11	Nonanal	14.82	1072	-	0.07	0.07	-	0.10
12	3-Terpinen-1-ol	15.86	1088	-	-	-	-	0.12
13	Camphénol	16.13	1109	0.22	-	-	-	-
14	Trans Pinocarvéole	16.35	1136	0.47	1.11	0.17	0.28	0.37

15	α -Phellandrene-8-ol	17.03	1151	0.12	0.11	-	-	-
16	Terpinen-4-ol	17.60	1179	1.68	9.17	16.27	19.00	22.33
17	3-Cyclohexene-1-methanol, $\alpha,\alpha,4$ -trimethyl- (R)	18.40	1183	2.75	2.06	1.41	3.21	3.47
18	p-Cymen-8-ol	18.99	1197	-	-	-	0.37	-
19	Myrténal.	19.42	1220	0.46	0.58	-	-	0.28
20	Verbenone	20.24	1229	0.50	-	-	-	-
21	Acetate de bornyle	20.96	1250	0.09	4.04	1.03	0.72	0.61
22	α -Cubebène	21.23	1257	0.16	-	-	-	-
23	Cumal	21.30	1276	-	0.18	-	0.10	0.33
24	Copaene	22.32	1289	0.69	-	-	0.48	0.89
25	β -bourbenene	22.77	1321	0.82	-	-	-	0.70
26	α -Terpinenylacetate	23.07	1347	-	0.76	0.64	0.98	0.47
27	1, 1, 6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene	23.75	1382	0.17	0.70	-	0.27	0.43
28	Caryophyllene	24.24	1431	-	2.42	4.15	-	0.37
29	Cis- β -Copaene	24.51	1449	0.72	-	-	0.17	0.26
30	Alloaromadendrene	24.76	1467	-	1.37	1.53	-	-
31	α -Gurgujene	25.37	1469	-	0.63	0.75	-	-
32	α -guaïene	25.66	1473	-	1.58	1.22	-	0.48
33	Cis-Muurolo-4(15),5-diene	26.52	1494	7.75	-	-	4.53	-
34	Ledèn	26.64	1510	-	5.32	3.53	-	-
35	α -Muurolene	27.01	1524	-	-	-	1.76	6.33
36	Bicylogermacrene	27.13	1529	-	-	3.87	-	-
37	δ -Cadinene	27.70	1532	4.84	-	-	3.58	2.84
38	Epizonarene	27.92	1537	-	-	-	0.12	0.12
39	(Z)-Calamenene	28.41	1540	0.87	-	-	0.54	0.75
40	Germacrene B	29.25	1546	0.43	-	0.64	-	1.34
41	Palustrol	29.69	1554	-	1.68	-	-	-
42	Spatulenol	30.60	1563	0.89	14.23	3.83	1.02	1.32
43	Junenol	31.57	1570	0.48	-	-	0.55	0.49
44	β -Eudesmol	31.72	1576	-	0.69	0.30	-	-
45	β -guainene	32.04	1580	-	-	-	-	0.36
46	τ -Muurolol	32.47	1589	0.78	-	-	2.44	-
47	α -Cadinol	32.90	1625	1.49	0.75	-	5.01	1.91
48	Phytone	36.23	1667	-	0.31	-	-	0.09
49	Acide benzoïque	38.02	1680	-	-	-	-	0.29
50	Acide phtalique	39.75	1684	-	-	-	0.40	-
Total identifier (%)				96.66	94.72	95.20	96.32	95.51

Ø_i : Diamètre du tronc principal sont exprimés en centimètre (cm).

P1(Ø₂) = 20,86 ; P2(Ø₅) = 25,12cm ; P3(Ø₄) = 23 ,73 ; P4(Ø₁) = 11,46 et P5(Ø₃) = 22,45

Cette augmentation des hydrocarbures monoterpènes peut être considérée comme une stratégie de protection de la photosynthèse contre l'oxydation thermique [26]. Par rapport à d'autres études, nos résultats sont cohérents avec ceux rapportés par [27] (10,9 %), [28] (32,6-54,7 %) et [30] (15,33-40,47 %) pour l' α -Pinène et [31]. (26,20 %) et [32] (15,3 %) pour le Terpinène-4-ol, mais avec des différences dans les proportions des composés. Ceci s'explique par plusieurs facteurs dont les plus marquants sont : la date de récolte, l'âge, type du sol, le climat, les feuilles fraîches ou séchées...etc. Chaque huile est caractérisée par trois composés primaires dominants majeurs, qui sont présents comme suit : α -Pinène (37,51 %), α -Sabinène (12,03 %), Camphène (11,58%) pour les feuilles récoltées sur l'arbre dont le diamètre $\varnothing 1 = 11,46$ cm , où l'on retrouve l' α -Pinène (24,67 %), le Spatulénol (14,23%) et le Terpinène-4-ol (9,17 %) pour $\varnothing 2$ et l'on retrouve également l' α -Pinène (18,48%), le Terpinène-4-ol (16,67 %) et du γ -Terpinène (10,33 %) pour le diamètre $\varnothing 3$ et du Terpinène-4-ol (19,00 %), de l' α -Pinène (15,71%) et du p-Cymène (13,74 %) pour le diamètre $\varnothing 4$, et pour la dernière huile d'un diamètre de 25,12 cm nous avons le Terpinène-4-ol (22,33 %), le p-Cymène (13,97 %) et l' α -Pinène (13,38 %). De plus, des composants ont été identifiés à partir de l'huile essentielle de feuilles de *P. atlantica*, qui représentaient 94,72 % à 96,66 % du contenu total de cette huile. Avec des Monoterpènes d'hydrocarbures (46,28 à 70,28 %) et des monohydrocarbures oxygénés (6,2 à 26,62 %) prédominants, suivis des hydrocarbures sesquiterpéniques (11,18 à 16,28 %) et des sesquiterpènes oxygénés (3,64 à 17,35 %). D'autres composés sont représentés en petites quantités. Ces résultats correspondent à ceux obtenus par [33]. Le rendement, la quantité et la qualité des huiles essentielles varient selon l'origine géographique, les circonstances climatiques et les phases de maturité [34], nos huiles diffèrent souvent par la concentration des composés plutôt que par leur teneur. Car la seule variable qui varie est le diamètre de l'arbre. Les structures chimiques de composés majoritaire sont représentées dans la figure 34 ci-dessous.

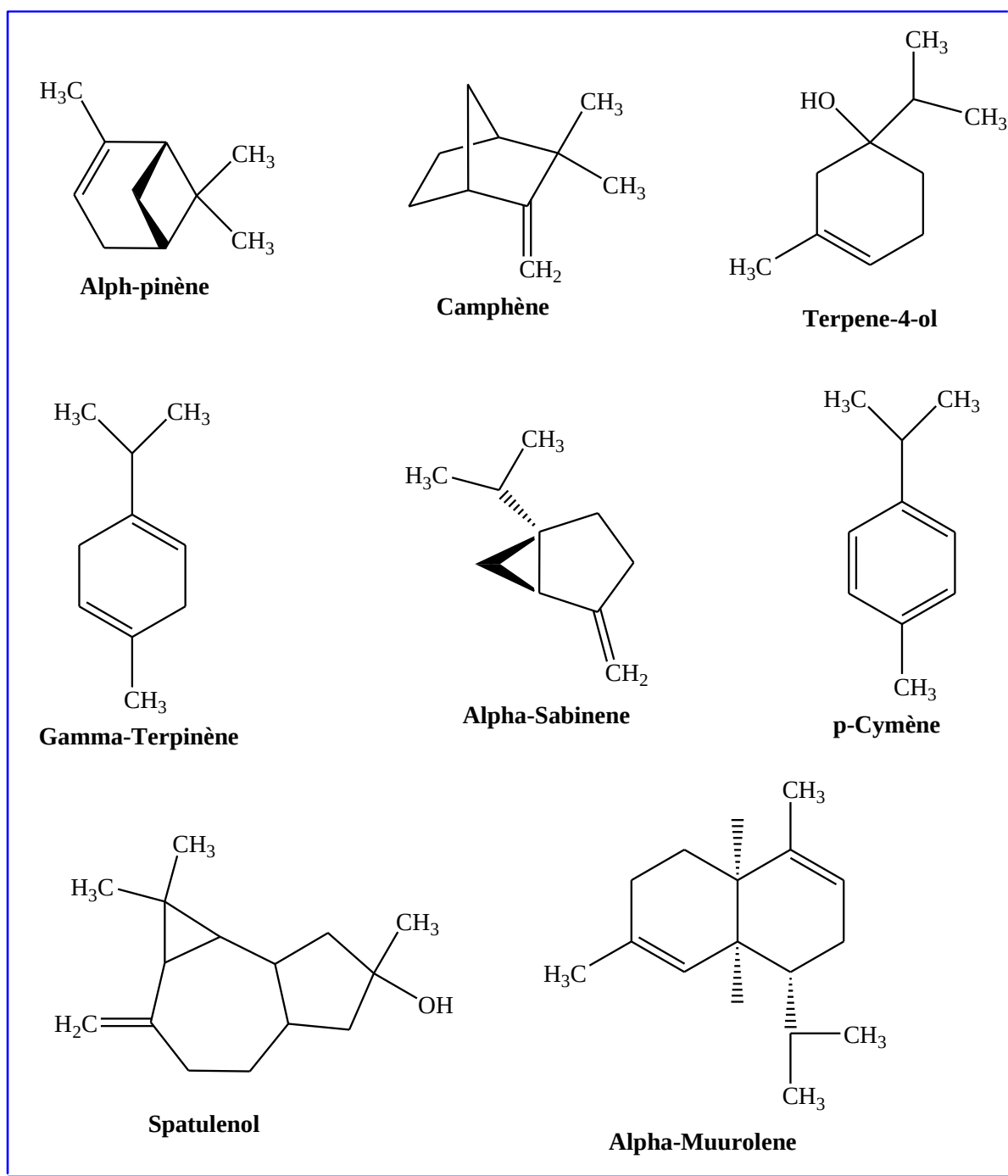


Figure 37 : Structures chimiques des principaux composés des Huiles essentielles

D'après l'analyse, on constate que les huiles essentielles comprennent les sous-classes de Terpènes suivantes : Monoterpènes d'hydrocarbures, Monoterpènes oxygénés, Sesquiterpènes d'hydrocarbures, et les Sesquiterpènes oxygénés. Le tableau 35 résume le pourcentage de sous-classe.

Tableau 35 : Sous-classes de Terpènes de l'huile essentielle de Pistachier atlantique

Classe	% (Ø1=11,46 cm)	% (Ø2=20,86 cm)	% (Ø3=22,45 cm)	% (Ø4=23,73 cm)	% (Ø5=25,12 cm)
Monoterpènes d'hydrocarbures	70,28	46,28	55,86	51,29	48,77
Monoterpènes oxygénés	6,20	13,21	17,85	22,86	26,62
Sesquiterpènes d'hydrocarbures	16,28	12,07	15,69	11,18	14,44
Sesquiterpènes oxygénés	3,64	17,35	4,13	9,02	4,08
Autre	0,26	5,81	1,67	1,97	1,60

II.3.2. Activité antibactérienne

La technique de diffusion sur disque est utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne. Les tableaux 36 et 37 enregistrent les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de feuilles de *Pistachier atlantique*.

L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles de feuilles de *Pistachier atlantique*, récoltées sur cinq arbres de diamètres différents dans le nord-ouest du Maroc, a été testée in vitro sur six souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Acinetobacter baumannii*). Les huiles essentielles sont avérées actives contre toutes les espèces bactériennes testées, avec des zones d'inhibition s'échelonnant entre $6,5 \pm 0,00$ et $15,25 \pm 0,35$ mm. La zone d'inhibition la plus grande a été observée chez *Staphylococcus aureus* (15,25 mm).

L'huile essentielle P4 de *Pistachier atlantique* a montré un pouvoir inhibiteur modéré vis-à-vis les souches gram-positive en comparaison avec les contrôles positif, les diamètres des zones d'inhibition enregistré varient entre 14,5 mm et 15,25 mm pour la souche *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* en présence de l'huile essentielle de la plante (P4), ces zones sont plus importantes que ceux enregistrer par l'amoxicilline, la pénicilline est apparue inactif vis-à-vis ces deux bactéries. En revanche l'huile essentielle de la plante (P2) n'ont montré aucun effet sur toutes les souches gram-négative ; cette huile essentielle exhibe une zone d'inhibition varient de 7 mm contre *Escherichia coli* *Klebsiella Pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *Acinetobacter baumannii*, mais selon Ponce [34] les diamètres qui sont inférieurs à 8 mm sont classés non sensibles.

Les plantes P4(Ø1) et P1 (Ø2) dont les concentrations respectivement (37,51 % et 24,67 %) de α - Pinène, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) en huile essentielle sont égaux à pour une valeur de 4 μ L/mL pour les souches à gram-positive et 10 μ L/mL pour les gram- négative respectivement. Par contre les produits Ø3, Ø4 et Ø5 dont (18,49 %), (15,71 %) et (13,38 %) de α - Pinène respectivement, le CMI et CMB ont la même valeur 10 μ L/mL pour toutes les souches. Les différences observées pour les valeurs de CMI peuvent s'expliquer par l'existence de composés antibactériens dans les huiles essentielles de *Pistachier atlantique* à différentes concentrations, mais aussi par rapport au choix des techniques utilisées. La sensibilité des microorganismes aux divers composés chimiques, qui dépend de la nature de l'espèce végétale, des chémotype et des conditions climatiques, explique certainement la variabilité du pouvoir bactéricide des huiles essentielles [35]. En revanche, l'effet inhibiteur contre les bactéries Gram positif de certaines huiles essentielles, provenant des plantes aromatiques, est dû non pas à leurs principaux constituants, mais à la présence de composés mineurs [36]. De plus, le pouvoir antibactérien des huiles essentielles est très étendu et reflète en quelque sorte la diversité de leurs composés chimiques [37 ; 38].

De plus, cette activité varie selon les huiles essentielles et les types de bactéries. Leur action antibactérienne principale est principalement déterminée par leur composition chimique, à savoir les caractéristiques de leurs principaux composants volatils [39 ; 40].

Tableau 36 : Comparaison de diamètre des zones d'inhibition

Micro-Organismes	Dimensions de l'inhibition (mm)				
	P1 (Ø2)	P2(Ø5)	P3(Ø4)	P4 (Ø1)	P5(Ø3)
<i>S. Aureus</i>	12 $\pm$ 0,10	8 $\pm$ 0,10	9,25 $\pm$ 0,35	15,25 $\pm$ 0,35	10 $\pm$ 0,10
<i>S. Epidermidis</i>	12,5 $\pm$ 0,71	9,25 $\pm$ 0,35	11 $\pm$ 0,72	14,5 $\pm$ 0,70	12,5 $\pm$ 0,71
<i>K. Pneumoniae</i>	9,5 $\pm$ 0,37	6,5 $\pm$ 0,89	8,25 $\pm$ 0,35	9,75 $\pm$ 0,35	9,75 $\pm$ 0,35
<i>A. Baumannii</i>	9 $\pm$ 0,78	7 $\pm$ 0,70	8 $\pm$ 0,73	11 $\pm$ 0,07	7,25 $\pm$ 0,35
<i>E. Coli</i>	10,25 $\pm$ 0,53	6,5 $\pm$ 0,31	8,5 $\pm$ 0,97	10 $\pm$ 0,18	10 $\pm$ 0,61
<i>E. Cloacae</i>	10 $\pm$ 0,28	7 $\pm$ 0,58	8,25 $\pm$ 0,35	10,5 $\pm$ 0,71	8 $\pm$ 0,34

Dans certaines situations, la réponse qualitative ne suffit pas, donc par la suite, nous avons essayé de déterminer l'effet quantitatifs, ce qui conduit à déterminer les concentrations minimales inhibitrices, pour mieux préciser le niveau de l'activité de ces substances, plus la CMI est faible plus l'effet est puissant.

Le screening de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Pistachier atlantique*, on peut noter que la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) en huile essentielle sont égales à une valeur de 4 µL/mL pour les souches à gram positif et de 10 µL/ mL pour les souches à gram négatif respectivement.

Par contre, les produits Ø3, Ø4 et Ø5, contenant (18,49 %), (15,71 %) et (13,38 %) d' α -Pinène respectivement, présentent tous une valeur de CMI et de CMB de 10 µL/ mL pour toutes les souches. Donc, ces huiles essentielles présentent un effet bactéricide (CMI = CMB).

Le tableau 37 présente les résultats obtenus.

Tableau 37 : Comparaison de CMI et CMB

Microorganism es	CMI et CMB (µL/ mL)											
	S. <i>Aureus</i>		S. <i>Epermidis</i>		K. <i>Pneumonia</i>		A. <i>Baumannii</i>		E. <i>Coli</i>		E. <i>Cloacae</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
P4 (Ø1)	4	4	4	4	10	10	10	10	10	10	10	10
P1 (Ø2)	4	4	4	4	10	10	10	10	10	10	10	10
P5 (Ø3)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
P3 (Ø4)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
P2 (Ø5)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

II.3.3. Activité antioxydante

Les études sur la composition chimique des huiles essentielles des plantes aromatiques en relation avec le screening de leurs activités biologiques sont abondantes. Il est établi dans de nombreux travaux que l'activité d'une huile essentielle est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre les constituants.

a. Activité anti-radicalaire grâce aux tests DPPH

La réduction du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH°), permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire d'extraits végétaux. Le radical DPPH° a pour une couleur initialement violet qui se transforme en DPPH-H de couleur jaune pâle selon l'équation chimique suivante. (Figure 38).

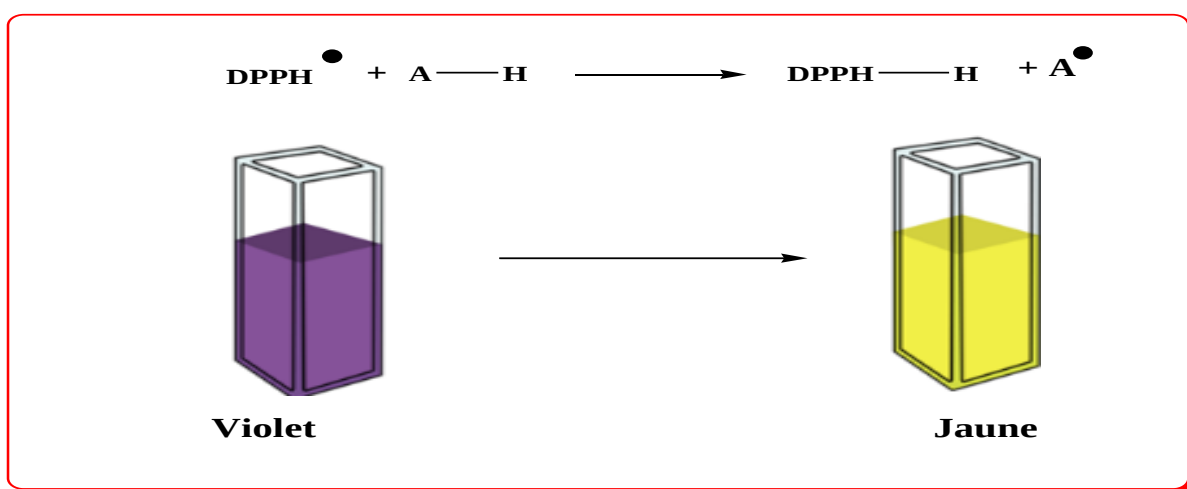


Figure 38 : Réduction de DPPH°

La concentration inhibitrice à 50 % ou IC₅₀ pour les cinq échantillons, allant de 8,70 ± 0,02 à 11,46 ± 0,01 µg/mL, le tableau 38 résume nos résultats.

Tableau 38 : Activité antioxydante de l'huile essentielle selon le protocole DPPH

Diamètre (Ø 10 ⁻² .m)	IC ₅₀ (µg/mL)		Moyenne ± Ecartype
	Max	Min	
Ø1= 11,46	08,73	08,68	08,70 ± 0,02
Ø2= 20,86	09,24	09,20	09,22 ± 0,02
Ø3=2245	11,16	11,14	11,15 ± 0,01
Ø4= 23,73	11,20	11,24	11,22 ± 0,03
Ø5= 25,12	11,47	11,45	11,46 ± 0,01

Plusieurs chercheurs ont étudié les propriétés antioxydantes des huiles essentielles de *pistachier atlantique*, telles que les feuilles, les oléorésines et les fruits [28 ; 30 ; 31]. Nos résultats sont différents pour certains mais équivalents pour d'autres. Les cinq échantillons ont montré une

efficacité significative contre les oxydants utilisés. Cette différence est due à plusieurs facteurs, dont la période de récolte, le climat typique, la nature du sol, les conditions de rétention, etc.

Les concentrations inhibitrices de 50 % pour les diamètres Ø3, Ø4 et Ø5 sont presque identiques ($IC_{50} = 11,15 ; 11,23 ; 11,46 \mu\text{g/mL}$, respectivement). L'activité des huiles essentielles pour les arbres dont les diamètres Ø1 et Ø2 est supérieure à celle des Ø3, Ø4 et Ø5, avec des valeurs IC_{50} de $08,70 \pm 0,02$ et $9,22 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ respectivement.

En général, les valeurs IC_{50} des cinq échantillons étaient relativement proches. Il a également été constaté que l'activité antioxydante de diverses huiles essentielles était inférieure à celle des composés antioxydants standards testés dans diverses expériences. Selon des études antérieures l'huile essentielle de *pistachier atlantique* peut considérer comme un bon antioxydant [30 ; 31].

b. Activité anti-radicalaire grâce aux tests FRAP

Le test de capacité de réduction ferrique (FRAP) a été utilisé pour estimer l'efficacité antioxydante des huiles essentielles de *Pistachier atlantique* en utilisant l'acide ascorbique comme antioxydant de référence. La concentration d'inhibition 50% (EC_{50}) varie de $8,27 \pm 0,04$ à $12,76 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$. (Voir tableau 39)

Tableau 39 : Activité antioxydante de l'huile essentielle selon le protocole FRAP

Diamètre (10^{-2} cm)	EC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Moy $\pm$ Ecartype ($\mu\text{g/mL}$)
Ø 1 (P4): 11,46	8,27	8,24	8,32	$8,27 \pm 0,04$
Ø2 (P1): 20,86	8,65	8,35	8,29	$8,43 \pm 0,19$
Ø3 (P5) : 22,45	12,37	12,27	12,13	$12,26 \pm 0,12$
Ø4 (P3) : 23,73	12,51	12,39	12,18	$12,36 \pm 0,16$
Ø5 (P2) : 25,12	12,76	12,91	12,6	$12,76 \pm 0,16$

Les résultats indiquent que Ø1 et Ø2 sont les diamètres les plus actifs. Ces résultats confirment les affirmations de la méthode DPPH. Nous examinerons la composition chimique de chaque échantillon individuellement pour déterminer la cause de cette différence. Sur la base de la composition des composés chimiques, l' α -pinène pourrait être considéré comme le principal composé responsable de l'action antioxydante, ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par

[41 ; 42]. De manière générale, les huiles essentielles des feuilles de *Pistachier atlantique* présentent une activité antioxydante significative et supérieure à celles trouvées dans la littérature pour différents organes testés.

Le tableau 40 révèle l'activité antioxydante de notre étude et quelque étude de la littérature.

Tableau 40 : Comparaison des valeurs des tests DPPH et FRAP

Origine	Organe	Période de récolte	DPPH IC ₅₀ (µg/mL)	FRAP EC ₅₀ (µg/mL)	Référence
Maroc (Khenifra)	Feuilles	Mai	82,85	1,71	[30]
Algerie	Feuilles	Octobre	13,91 ± 1,79 18,95 ± 6,67	05,70 ± 2,78 09,02 ± 0,92	[31]
		Juin – Octobre	20 ,61 ± 0,49 27,87 ± 0,30	04,95 ± 0,18 08,39 ± 0,07	[13]
Iran	Fruits	Octobre	25,20 ± 0,03	06,02 ± 0,10	[28]
			23,00 ± 0,01	05,29 ± 0,02	[43]
Maroc (Rommani)	Feuilles	Octobre	08,70 ± 0,02 11,46 ± 0,01	08,27 ± 0,04 12,76 ± 0,16	Notre étude

En revanche, les huiles essentielles des feuilles de *Pistachier atlantique* ont montré une faible activité antioxydante par rapport aux antioxydants conventionnels Trolox et acide ascorbique. (Tableau 41).

Tableau 41 : Activité antioxydante de quelques antioxydants synthétiques

Antioxydant artificiel	IC ₅₀ (µg/mL)	EC ₅₀ (µg/mL)
Acide ascorbique	4,85 ± 0,58	0,093 ± 0,01
Trolox	4,47 ± 0,54	-

II.4. Matrice des corrélations

Une corrélation positive significative ($p \leq 0,01$) a été observée entre les deux méthodologies (DPPH et FRAP) utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante, avec une valeur R² de 0,99. De plus, un rapport de corrélation considérable ($p \leq 0,05$) a été trouvé entre le DPPH et d'autres facteurs, tels que *S. aureus* résistant à la méticilline ($R^2 = - 0,97$) et *E. cloacae* ($R^2 = 0,95$). De plus, il existait une corrélation positive substantielle ($p < 0,05$) entre l'indice FRAP et plusieurs bactéries, dont *S. aureus* résistant à la méticilline ($R^2 = - 0,98$), *K. Pneumoniae*, *E. coli* ($R^2 = 0,98$), et entre *A. baumannii* et *S. aureus* ($R^2 = 0,97$). La forte corrélation observée

entre les différentes variables pour les cinq huiles essentielles indique une confirmation mutuelle entre les variables (Tableau 42).

Tableau 42 : Coefficient de la matrice de corrélation de Pearson et valeurs p entre les indices de qualité (S. aureus, S. epidermidis, S. aureus Résistant à la méticilline, K. Pneumoniae, A. baumannii), DPPH et FRAP des cinq huiles étudiées

	Rdt (%)	DPPH	FRAP	S. Aureus	S. epidermidis	S.a. methicillinresistant	K. pneumonia	A. baumannii	E. coli	E. cloacae
Rdt (%)	1.00	-0.26	-0.35	0.09	0.25	0.30	0.46	-0.06	0.47	0.27
DPPH	-0.26	1.00	0.99	-0.94	-0.80	-0.97	-0.64	-0.93	-0.73	-0.95
FRAP	-0.35	0.99	1.00	-0.90	-0.76	-0.98	-0.63	-0.89	-0.72	-0.94
S. aureus	0.09	-0.94	-0.90	1.00	0.91	0.84	0.75	0.97	0.80	0.93
S. epidermidis	0.25	-0.80	-0.76	0.91	1.00	0.65	0.91	0.81	0.91	0.85
S. aureus m. resistant	0.30	-0.97	-0.98	0.84	0.65	1.00	0.50	0.86	0.61	0.89
K. Pneumonia	0.46	-0.64	-0.63	0.75	0.91	0.50	1.00	0.61	0.98	0.72
A. Baumannii	-0.06	-0.93	-0.89	0.97	0.81	0.86	0.61	1.00	0.69	0.92
E. coli	0.47	-0.73	-0.72	0.80	0.91	0.61	0.98	0.69	1.00	0.80
E. cloacae	0.27	-0.95	-0.94	0.93	0.85	0.89	0.72	0.92	0.80	1.00

La figure 39 résume la corrélation entre tous les paramètres expérimentaux des huiles essentielles.

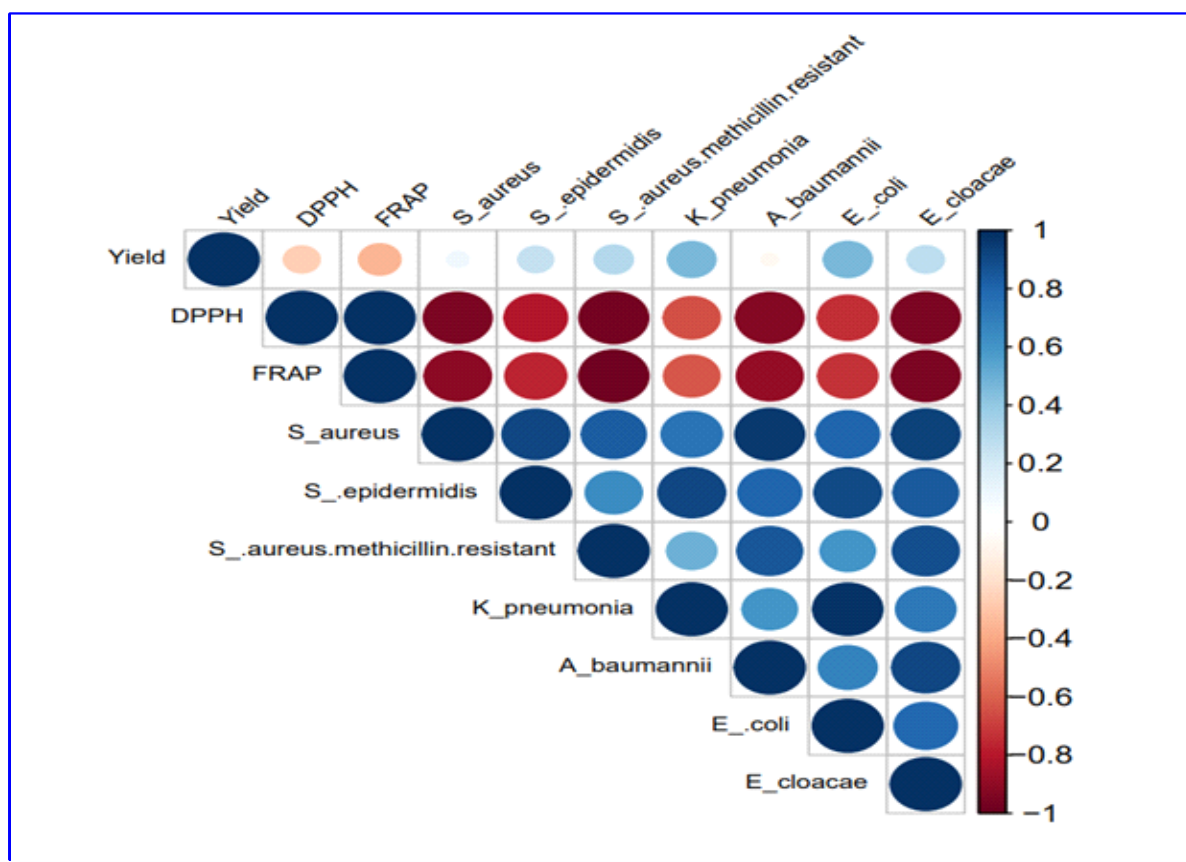


Figure 39 : Corrélation entre les paramètres expérimentaux des huiles essentielles

II.4.1. Analyse des composants principaux

Les résultats dérivés d'études biologiques et phytochimiques pertinentes, qui incluent *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. aureus* résistant à la méticilline, *K. Pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. coli*, *E. cloacae*, DPPH et FRAP, servent de variables actives. Ces variables sont représentées sur le plan factoriel (PC1- PC2) à l'aide de l'analyse en composantes principales (ACP), comme le montre la figure 40. PC1 représente 77,10 % de la variance totale, tandis que PC2 représente 13,1 %, représentant cumulativement 90,20 % de l'inertie totale, ce qui signifie une combinaison linéaire notable puisqu'elle dépasse 50 %. L'axe PC1 est principalement établi par la corrélation positive inverse entre les tests antioxydants (DPPH, FRAP) et trois tests antibactériens (*K. Pneumoniae* ; *E. coli* et *S. epidermidis*), et une corrélation entre un autre ensemble de quatre tests (*E. cloacae*, *S. aureus*, *S. aureus* résistant à la méticilline et *A. baumannii*). Deux groupes distincts ressortent de cette analyse. Le premier groupe contient des produits obtenus par hydrodistillation de feuilles

de *Pistachier atlantique* dont le diamètre du tronc principal est de Ø3, Ø4 et Ø5. A l'inverse, le deuxième groupe concerne les diamètres Ø1 et Ø2, extraits selon la même méthode que celle démontrée sur la figure 40. Conformément aux résultats théoriques indiqués dans la figure 39, le premier groupe (Ø1 et Ø2) présente des taux de monoterpènes oxygénés plus faibles (respectivement 6,2 % et 13,21 %), mais les tests DPPH et FRAP montrent qu'ils sont de puissants antioxydants. En revanche, les huiles prélevées sur des troncs de diamètre Ø3, Ø4 et Ø5 ont une concentration plus élevée de monoterpènes oxygénés (respectivement 17,85 %, 22,86 % et 26,62 %), ce qui signifie qu'ils sont moins efficaces pour lutter contre les radicaux libres. L'analyse du cosinus carré met en évidence l'importance d'une composante pour une observation spécifique en indiquant sa contribution à la distance carrée de cette observation par rapport à l'origine. Plus précisément, il souligne que la plupart des variables, à la seule exception du rendement, revêtent une importance considérable pour tous les échantillons, comme le montrent les figures 41 et 42.

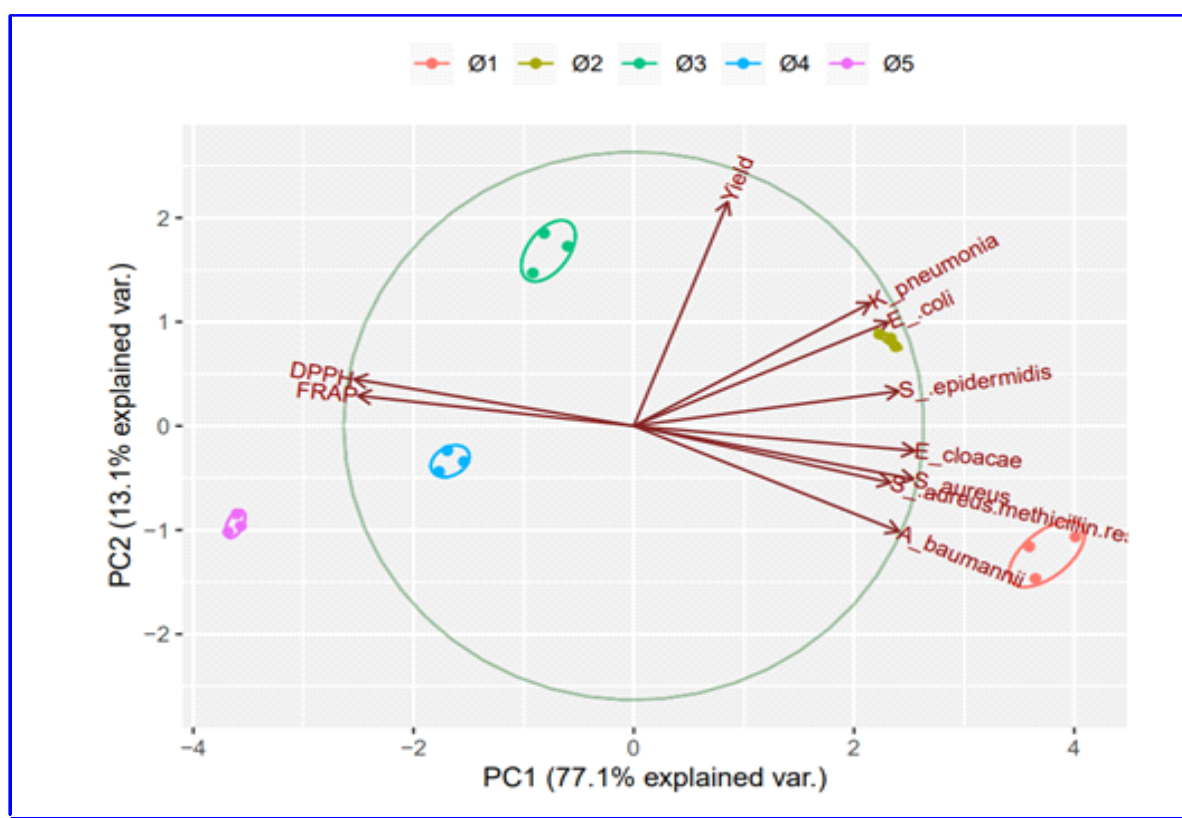


Figure 40 : Corrélation entre les différentes variables

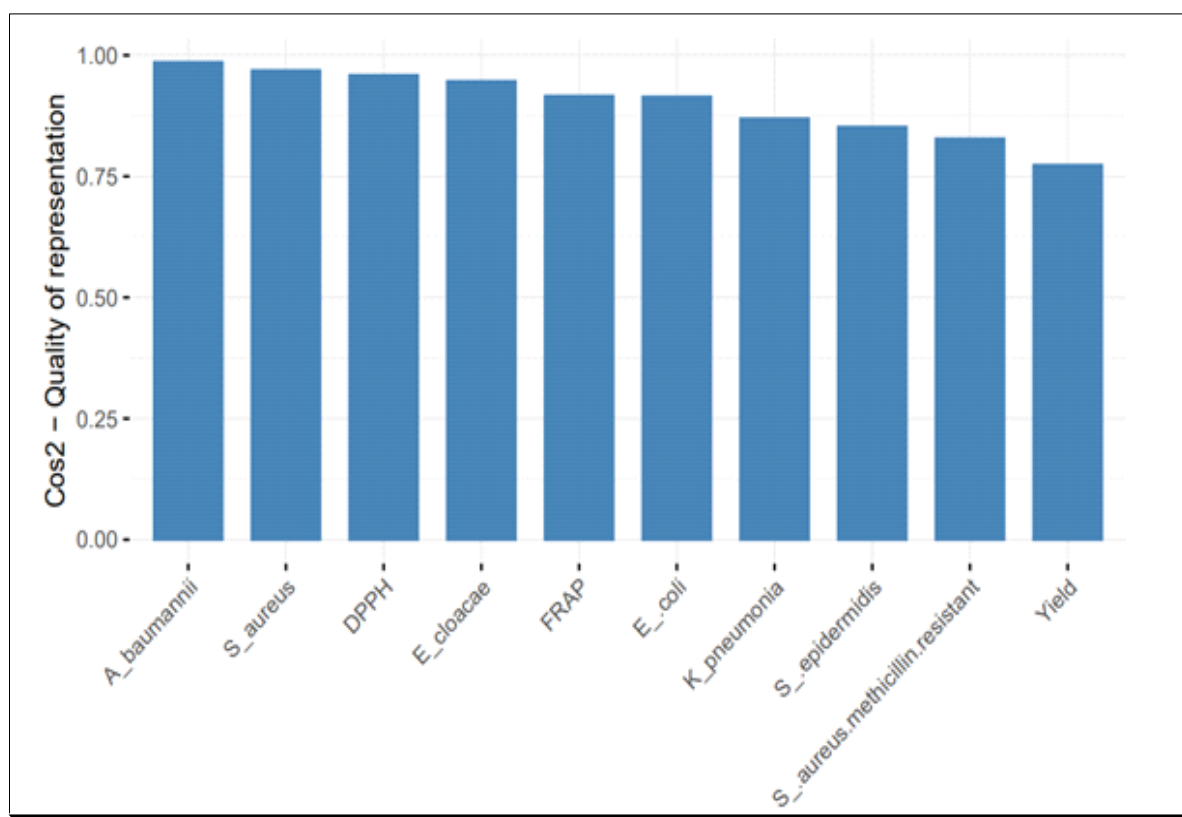


Figure 41 : Cos² des variables à dimension Ø1 et Ø2

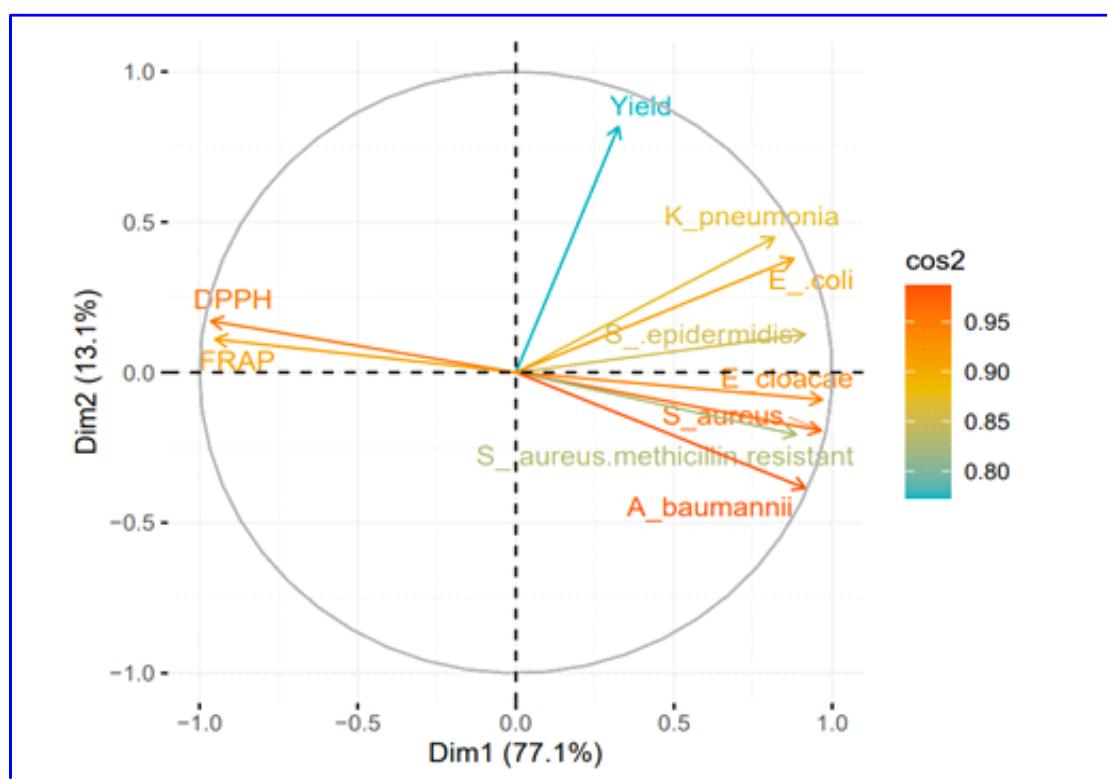


Figure 42 : Variables – ACP

II.5. Préparation des extraits et dosages

Pour approfondir relativement nos recherches, nous avons choisi une autre fraction pour les feuilles de *Pistachier atlantique* qui est l'extrait hydroalcoolique.

Dans cette partie nous avons choisi deux méthodes d'extraction : extraction par bain à ultrason comme la première méthode et extraction par sond ultrasonique est le second.

Sur la base des résultats du premier chapitre, et les données de la partie précédente nous avons décidé d'étudier dans ce paragraphe les feuilles des arbres P2, P3, et P5 ensemble.

II.5.1. Détermination du rendement

Dans ce paragraphe nous allons nous focaliser sur les extraits éthanolique (140 : 60) des feuilles de *Pistachier atlantique*. Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du cristalliseur plein après évaporation et le poids du cristalliseur vide. Le rendement de nos échantillons est présenté dans la figure 40.

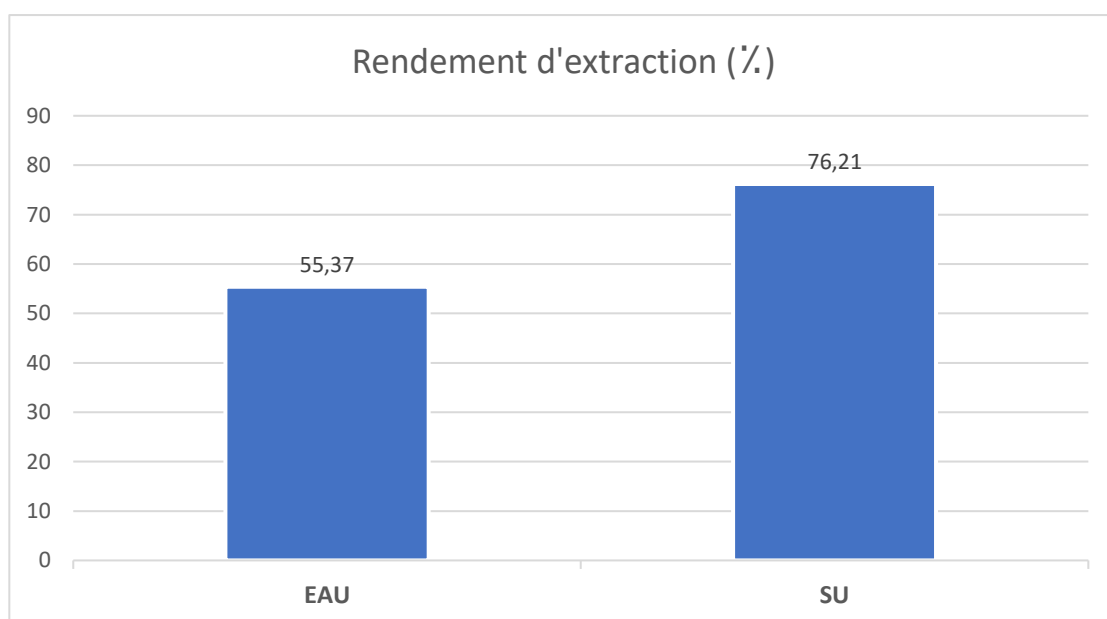


Figure 43 : Taux de rendement des deux extraits du *Pistachier atlantique*

L'extraction par sond ultrason a pour rendement de l'ordre 76,21 %, par contre 55,37 % pour extraction à bain à ultrason. En effet la première méthode **SU** est efficace à cause de contact direct du sond avec les cellules productives, qui facilite l'extraction des métabolites. D'une manière efficace au contraire de la méthode **EAU** qui est le contact est indirect.

Le rendement de deux techniques est supérieur à 7,21% rapporté par Lakić et ses collaborateurs (2010) [44] ayant utilisé une autre technique d'extraction pour les feuilles de même plante.

II.5.2. Criblage phytochimique

Les résultats issus de screening phytochimique des deux extraits de la zone de Zaïre sont présentés dans le tableau 43. Il ressort que les extraits étudiés sont riches en métabolites secondaires et sont caractérisés par la présence de tanins, des flavonoïdes, les alcaloïdes, des coumarines et des triterpénoïdes. Nous avons noté l'absence des anthraquinones, et des saponines. Des stéroïdes sous forme des traces dans les deux extraits.

Tableau 43 : Criblage phytochimique des extraits eau- éthanol

	Extrait (EAU)	Extrait (SU)
Alcaloïdes	+	+
Anthraquinones	-	-
Coumarines	+	+
Saponines	-	-
Stéroïdes	±	±
Triterpénoïdes	+	+
Polyphénols	+	+
Flavonoïdes	+	+
Tanins	+	+

+ : Réaction positive ; ± : Réaction douteuse ; - : Test négatif

II.5.3. Dosage des polyphénols, des flavonoïdes, et des tanins

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des feuilles de *Pistachier atlantique*, un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydante des plantes leur sont attribués [45]. La méthode de dosages des polyphénols totaux est celle de Folin-Ciocalteu, l'acide gallique a été utilisé comme standard ($y = 0,0103x + 0,017$ avec un coefficient de corrélation de $R^2 = 0,9991$). Alors que, le dosage de flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium en utilisant comme standard la rutine ($y = 2,5532x + 0.0285$; $R^2 = 0,9975$), et le dernier dosage est le dosage des tanins condensé réalisé par la méthode de vanilline,

est déterminé à partir de la courbe d'étalonnage d'une solution standard de la Catéchine ($y = 0,0016x + 0,0316$; $R^2 = 0,9973$). Les résultats sont représentés dans le tableau 44.

Tableau 44 : Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes, des tanins condensés

Extraits	EAU	SU
TPC (mg EAG/g d'extrait)	55,37 ± 0,63	156,04 ± 0,150
TFC (mg ER/g d'extrait)	116,18 ± 0,61	28,32 ± 0,040
TTC (mg EC/g d'extrait)	1,59 ± 0,07	2,15 ± 0,150

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'extrait alcoolique récupéré par bain à ultrason est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de $116,18 \pm 0,61 \mu\text{g ER/g d'extrait}$, par contre l'extrait par sond ultrasons, est le plus riche en polyphénols, et en tanins condensé que l'extrait obtenus par la deuxième technique (EAU).

Ce dosage indique la présence de deux métabolites secondaires polyphénols et les flavonoïdes, mais les tanins présents sous forme des traces dans les deux extraits.

Nos résultats, montrent que la teneur en flavonoïdes est supérieure à celle trouvé par [46], qui est de l'ordre $16,09 \pm 1,43 (\mu\text{g ER/mg})$ est contrairement pour les polyphénols qui est de l'ordre de $266,50 \pm 41,33 (\mu\text{g EAG/mg})$.

II.5.4. Activité antibactérienne des extraits éthanoliques des feuilles du Pistachier atlantique

Le pouvoir antibactérien des extraits a été estimé en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de six souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, et *Klebsiella Pneumoniae* (Tableau 45).

La variation de l'activité antibactérienne des extraits explique la variation de leur composition chimique comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une activité antibactérienne si son diamètre d'inhibition est supérieur à 10 mm [47].

Tableau 45 : Activité antibactérienne des extrait éthanoliques

Micro-organisme	EAU	SU
Gram- positif		
Staphylococcus aureus	N. A	N. A
Staphylococcus epidermidis	N. A	N. A
Gram- négatif		
Acinetobacter baumannii	N. A	N. A
Escherichia coli	N. A	N. A
Enterobacter cloacae	N. A	N. A
Klebsiella Pneumoniae	N. A	N. A

Les résultats présentés dans le tableau 45, démontrent que les deux extraits n'ont aucun effet bactérien sur toutes les souches testées. Quy Diem Do (2014), [48] a trouvé une activité bactéricide avec un diamètre de la zone d'inhibition varié de 14mm à 27,6 mm.

Conclusion

Notre étude comparative montre que l'huile essentielle de la partie aérienne de *Lavandula multifida* de la région de Zaïre est particulièrement à faible rendement, par contre cette herbe est relativement riche en extraits hydroalcooliques.

L'analyse quantitative de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* révèle deux composés majeurs le carvacrol et le β -bisabolène représentent 76,2% de l'huile essentielle. En revanche le criblage photochimique, des extraits éthanoliques étudiés contiennent des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins, des triterpénoïdes et des coumarines.

La teneur en composés phénoliques présente dans l'extrait hydro-éthanolique de *Lavandula multifida* ainsi que la quantité de flavonoïdes était supérieure pour la sonde ultrasonique (SU) que l'extraction assistée par ultrason (EAU).

D'après les résultats obtenus on constate que les extraits, n'ont aucun effet sur les souches étudiées. Par contre l'antibiogramme, révèle une variation de l'efficacité d'inhibition, de l'huile essentielle de *Lavandula multifida*, sur la croissance des différents microorganismes.

Les résultats des méthodes DPPH et FRAP à montrer que les extraits par deux méthodes sont doués d'une activité antioxydante très importantes avec une IC_{50} est plus faible en comparaison avec le standard (acide ascorbique) particulièrement pour les extraits de *Pistachier atlantique*.

L'activité antioxydante des extraits alcooliques par deux méthodes ont une forte activité antioxydante. Il est évident que les extraits par sondes ultrasons sont extrêmement puissants que les extraits obtenus par la méthode indirect.

Par contre, L'huile essentielle présente une valeur IC_{50} plus élevée, ce qui met en évidence sa faiblesse en tant qu'antioxydant par rapport aux extraits, pour le test DPPH. Cependant, l'huile essentielle présente des résultats significatifs pour le test FRAP.

Conclusion générale et perspectives

Les recherches présentées dans cette thèse de doctorat visent à valoriser les feuilles de Pistachier atlantique et les parties aériennes de *Lavandula multifida*. Notre étude s'est concentrée sur l'analyse de leur composition chimique, ainsi que sur l'évaluation de l'activité biologique et antioxydante de leurs huiles essentielles et extraits hydroalcooliques.

Pour caractériser la composition chimique, nous avons adopté une approche méthodologique distincte. Les huiles essentielles, riches en composés volatils, ont été extraites par hydrodistillation à l'aide d'un appareil Clevenger. Les extraits hydroalcooliques, quant à eux, riches en métabolites secondaires, ont été obtenus par une méthode d'extraction assistée par ultrason ou sonotrode.

L'analyse des huiles essentielles de *Lavandula multifida* a révélé la présence prédominante de carvacrol (44,3%) et de β -bisabolène (31,9%), tandis que pour le Pistachier atlantique, l' α -pinène et le terpiné-4-ol ont été identifiés comme principaux composés.

Les huiles essentielles extraites des deux plantes se présentent sous forme de liquides limpides jaunes, avec un parfum aromatique distinct. Elles ont démontré une activité antibactérienne similaire, particulièrement efficace contre les bactéries à Gram positif.

En ce qui concerne l'activité antioxydante, les huiles essentielles et les extraits de feuilles de *Pistachier atlantique* ont montré une forte capacité à réduire les radicaux libres. Ces résultats mettent en évidence l'influence significative des méthodes d'extraction sur la répartition et l'accumulation des métabolites secondaires des plantes.

Les propriétés physico-chimiques telles que les indices de peroxyde, les indices de réfraction et la densité des échantillons sont conformes aux normes AFNOR établies.

Nos résultats indiquent clairement le potentiel prometteur des huiles essentielles étudiées, les rendant applicables dans divers secteurs tels que la cosmétique, l'alimentaire et le pharmaceutique. Cependant, il reste encore beaucoup à explorer et approfondir dans ce domaine.

À la lumière de ces résultats encourageants, plusieurs perspectives s'ouvrent pour de futures recherches et applications, notamment :

- Utilisation de techniques plus précises comme la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et la résonance magnétique nucléaire (RMN) qui permet d'isoler et de caractériser les principes actifs.
- Etudier les activités anti-inflammatoires, antidiabétique, antihypertenseur in vivo et in vitro, fongicide.

- Passer de la culture in vitro à la culture in vivo ouvrant de nouvelles possibilités thérapeutiques. Proposer des remèdes et préparer des formulations sous forme de gélules, comprimés ou sirops.

Références bibliographiques

- [1] : Znini M. Manssouri , A. Ansari , A. Laghchimi , L. Majidi 1 , J. Costa 2. Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants.2020.
- [2] : Laghchimi, A., Znini, M., Majidi, L., Renucci, F., El-Harrak, A., Costa, J. Composition chimique et effet de la phase liquide et vapeur de l'huile essentielle de Lavandula multifida sur le mycélium croissance de champignons responsables de la pourriture de la pomme.2014.
- [3] : Douhri, B., Douhri, H., Farah, A., Idaomar, M., Senhaji, N., Abrini, J. Analyse phytochimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de Lavandula multifida L. non définie.2014.
- [4] : Sellam et al: Oxydants et antioxydants en science médicale. 2013.
- [5] :Saadi, A., Brada, M., Kouidri, M., Dekkiche, H., Attar, F. Composition chimique et teneur en huile essentielle de Lavandula multifida d'Algérie. Chimique. Nat. Compd. 2016.
- [6] : Benbelaid F., Bendahou M., Khadir A., Abdoune M. A., Bellahsene C., Zenati F., Bouali W. et Abdelouahid D.E... Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Lavandula multifida L. Journal of Microbiology and Biotechnology.Research. 2012.
- [7] : Msaada, K., Salem, N., Sonia, T., Majdi, H., Saharkhiz, M., Debiche, N., Limam, F., Mazouk, B. Composition en huiles essentielles de Lavandula dentata, L. stoechas et L. multifida Cultivées en Tunisie. J. Essent. Ours de pétrole. Plantes .2012.
- [8] : C. Messaoud et al., Natural Product Research .2012.
- [9] : N'Dédianhoua.et al. Revue internationale de l'innovation et de la recherche scientifique. . 2014.
- [10] : Abdelmounaim Khadir *et al.*, TEOP.2016 .
- [11] : M. Ramchoun et al., Vol 1, Numéro 3, mai-juin. Recherche en pharmacognosie.2009.
- [12] : Tzakou, O.; Bazos, moi; Yannitsaros, A. Métabolites volatils de Pistacia atlantica Desf. de Grèce. 2007.
- [13] : Barrero, AF; Herrador, MM; Arteaga, JF; Akssira, M.; Mellouki, F.; Belgarrabe A.; Blázquez, M. A. Composition chimique des huiles essentielles de Pistacia atlantica. Desf. Journal de recherche sur les huiles essentielles .2005.
- [14] : Hasheminya, SM; Dehghannya, J. Composition, teneur phénolique, activité antioxydante et antimicrobienne de Pistacia atlantica subsp. huile essentielle de coques de kurdica. Bioscience alimentaire .2020.

- [15] : Gourine, N.; Yousfia, M.; Bombarda, I.; Nadjemi, B.; Stocker, P.; Gaydoub, E.M. Activités antioxydantes et composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia atlantica* d'Algérie. / Cultures et produits industriels .2010.
- [16] : Nabila Benhammou^{1*} Fawzia Atik Bekkara¹ et Tatjana Kadifkova Panovska². Activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de *Pistacia lentiscus* et de *Pistacia atlantica*. Journal Africain de Pharmacie et Pharmacologie .2008.
- [17] : Manel Salhi¹, Mariem Gharsallaoui, Slimane Gabsi. Qualité physicochimique et nutritionnelle de *Pistacia atlantica*. Huile de graines DESF extraite par trois méthodes. Journal européen de la science et de la technologie des lipides.2021.
- [18] : Daouda Toure. études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire. Chimie organique. Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire, 2015. Français. (NNT: 29/2015) - (Thèse).
- [19] : Zuzarte, M., Vale-Silva, L., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Vaz, S., Canhoto, J., Pinto, E., Salgueiro, L. Activité antifongique de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* L. Riche en phénoliques. EUR. J. Clin. Microbiol. Infecter. 2012.
- [20] : A. Ultee, M. H. J. Bennik, R. Moezelaar. Le groupe hydroxyle phénolique du carvacrol est essentiel pour lutter contre le pathogène d'origine alimentaire *Bacillus cereus*. Microbiologie alimentaire .2002.
- [21] : Oubihi, A., Ouryemchi, I., Nounah, I., Tarfaoui, K., Harhar, H., Ouhssine, M., Guessous, Z. Composition chimique, activités antibactériennes et antifongiques de l'huile essentielle de *Thymus leptobotrys* Murb. Av. Tradition. Méd. 2020.
- [22] : El Asbahani, A., Jilale, A., Voisin, S.N., Aït Addi, E. habib, Casabianca, H., El Mousadik, A., Hartmann, D.J., Renaud, F.N., 2015. Composition chimique et activité antimicrobienne de neuf huiles essentielles obtenues par distillation à la vapeur d'eau de plantes de la Région Souss-Massa (Maroc).2015.
- [23] : Antonia Nostro, Andrea Soudano Roccaro, Giuseppe Bisignano, Andreana Marino, Maria A. Cannatelli, Francesco C. Pizzimenti, Pier Luigi Cioni, Francesca Procopio et Anna Rita Blanco. Effets de l'origan, du carvacrol et du thymol sur les biofilms de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Journal de microbiologie médicale .2007.
- [24] : Zayyad, N., Farah, A., Bahhou, J. Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de trois espèces de *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. algeriensis* et *T. bleicherianus*. Taureau. Société R. Sci. Liège .2014.

- [25] : Elmakaoui, A., Bourais, I., Oubihi, A., Nassif, A., Bezhinar, T., Shariati, M.A., Blinov, A.V., Hleba, L., Hajjaji, S.E. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Lavandula Multifida*. J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci. 2022.
- [26] : Bachiri, L., Echhegadda, G., Ibjibjen, J., Nassiri, L. Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux espèces de Lavande Autochtones Au Maroc :« *Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L. ». 2016.
- [27] : Bertamini, M.; Faralli, M.; Varotto, Claudio.; Grando, MS; Cappellin, L. Les émissions de monoterpènes des feuilles limitent la régulation photosynthétique négative sous stress thermique dans la vigne cultivée en plein champ). Semis. 2021.
- [28] : Hasheminya, SM; Dehghannya, J. Composition, teneur phénolique, activité antioxydante et antimicrobienne de *Pistacia atlantica* subsp. huile essentielle de coques de kurdica. Bioscires alimentaires. 2020.
- [29] : Mecherara-Idjeri, S.; Hassani, A.; Castola, V.; Casanova, J. Composition des huiles essentielles de feuilles, de fruits et de galles de *Pistacia atlantica* algérienne Desf. J. Essent. Rés.pétrole. 2017.
- [30] : Gourine, N.; Yousfia, M.; Bombarda, I.; Nadjemi, B.; Stocker, P.; Gaydoub, E.M. Activités antioxydantes et composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia atlantica* d'Algérie. Cultures ind. Prod. 2010.
- [31] : Khiya, Z.; Oualcadi, Y.; Zerkani, H.; Gamar, A.; Amine, S.; EL Hamzaoui, N.; Berrekhis, F.; Zaïr, T.; EL Hilali. F. Composition chimique et activités biologiques de *Pistacia atlantica* Desf. Huile essentielle du Maroc. J. Essent. Ours de pétrole. Plantes. 2020.
- [32] : Ben Ahmed, Z.; Yousfi, M.; Viaène, J.; Dejaegherb, B.; Demeyer, K.; Heyden, Y. V. Quatre sous-espèces de *Pistacia atlantica* (*atlantica*, *cabulica*, *kurdica* et *mutica*): une revue de leur botanique, ethnobotanique, phytochimie et pharmacologie. J. Ethnopharmacol. 2021.
- [33] : Khia, A.; Ghanmi, M.; Satrani, B.; Aafi, A.; Aberchane, M.; Quaboul, B.; Charrouf, Z. Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. Phytothérapie. 2014.
- [34] : Ponce, AG; Fritz, R.; del Valle, C.; Roura, S. I. Activité antimicrobienne des huiles essentielles sur la microflore native de la bette à carde biologique. Science alimentaire. Technologie. 2003.
- [35] : Benabderrahmane, M.; Benali, M.; Aouissat, H.; Jordán Bueso, M.J. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie. Phytothérapie. 2009.

- [36] : Cosentino, CIG; Tuberoso, B.; Pisano, M.; Satta, V.; Mascia, E.; Arzedi.; Palmas, F. Activité antimicrobienne in vitro et composition chimique des huiles essentielles de thymus sarde. Lett. Appl. Microbiol. 1999.
- [37] : C. F. Carson¹, K. A. Hammer¹ et T. V. Riley^{1,2}. Examens de microbiologie clinique, société américaine de microbiologie.2006.
- [38] : Abdellah Elmakaoui , Houda Damour , Ilhame Bourais , Bouabid Badaoui , Hamada Imtara , Karima El kabous , Asmaa Oubihi , Omar M. Noman , Mahmoud Tarayrah and Souad El hajjaji. ACG Publications. Chemical Composition, Antioxidant Potential and Antibacterial Activity of *Pistacia atlantica* Desf. Essential Oil Leaves, with A Focus on Variations in The Main Trunk Diameter.2024.
- [39] : D. Kalembe^{*1} et A. Kunicka². Propriétés antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles. Chimie médicinale actuelle. 2003.
- [40] : Guy Alain Alitonou, Jean-Pierre Noudogbessi, Philippe Sessou, Aretas Tonouhewa¹, Félicien Avlessi, Chantal Menut, Dominique C. K. Sohounhloue. Composition chimique et activités biologiques des huiles essentielles de *Pimenta racemosa* (Mill.) J. W. Moore du Bénin. International Journal of Biosciences.2020.
- [41] :Kazem, M.; Masoumeh, K.M.K.; Roustia, A.; Rahnema, M.; Amini, R. L'effet neuroprotecteur de l'alpha-pinène est médié par la suppression de la voie TNF- α /NF- κ B dans le modèle de rat de la maladie d'Alzheimer. J. Biochimie. Mol. Toxicol. 2022.
- [42] : Bin, L.; Ming, T.; Hui, C. L'activation de la voie de signalisation ROS/CncC régule le cytochrome P450 CYP4BQ1 responsable de la tolérance (+) - α -pinène chez *Dendroctonus armandi*. Int. J. Mol. Science. 2022.
- [43] : Rezaie, M., Farhoosh, R., Sharif, A. et al. Composition chimique, propriétés antioxydantes et antibactériennes de l'huile essentielle de coque de Bene (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*). J Food Sci Technol .2015.
- [44] : Lakić N.S., Mimica-Dukić N.M., Isak J.M. et Božin B.N. Antioxidant properties of *Galium verum* L. (Rubiaceae) extracts. Central European Journal of Biology.210.
- [45] : Meziti, 2009Meziti A.Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa*. L'étude in vitro et in vivo. Mémoire de Magister en Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbes, Sétif. 2009.
- [46] : Ziane Nafissa Contribution à l'étude de l'activité hypoglycémiant des extraits de *Pistacia atlantica* Desf de la réserve nationale d'El-Mergueb (M'sila) -Algérie mémoire.

[47] : Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle,C., Roura, S.I. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard . Lebensm. Wiss. u.- Techno, 2003.

[48] : Quy Diem Do . Artik Elisa Angkawijaya, Phuong Lan Tran-Nguyen, Lien HuongHuynh Felycia Edi Soetaredjo , Suryadi Ismadji , Yi-Hsu Ju . Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica* J Food Drug Anal. 2014.

Résumé

Ce travail vise à approfondir l'étude des huiles essentielles de deux plantes communément utilisées dans la région de Zaïre (Rommani), en se focalisant sur leur composition chimique détaillée. Nous avons entrepris l'extraction d'huile à partir des parties aériennes de *Lavandula multifida* et des feuilles de *Pistachier atlantique* afin d'évaluer leur composition chimique, leurs composés volatils, ainsi que leurs propriétés antioxydantes et antibactériennes.

Nos résultats révèlent que l'huile essentielle de *Lavandula multifida* est particulièrement riche en Carvacrol (44,3 %) et en β -Bisabolène (31,9 %), constituant ainsi 76,1 % de ses composants. De même, les feuilles de *Pistachier atlantique* présentent des profils de composition variés en fonction du diamètre des arbres, avec des variations significatives dans les pourcentages d' α -pinène, d' α -sabinène, de camphène, de spatulenol, de terpinène-4-ol, et d'autres composés.

En particulier, chaque huile révèle trois composés primaires dominants. Par exemple, les feuilles récoltées sur des arbres de différents diamètres présentent des variations notables dans la concentration des principaux composés, notamment l' α -pinène, le terpinène-4-ol, et le p-Cymène.

Les résultats suggèrent que le *Pistachier atlantique* et *Lavandula multifida* pourraient être des sources prometteuses de composés naturels bioactifs. L'étude approfondie de leur composition chimique et de leurs propriétés biologiques ouvre de nouvelles perspectives pour leur utilisation potentielle dans divers domaines, notamment en tant qu'agents thérapeutiques ou additifs alimentaires.

Mots-clefs : *Lavandula multifida*, *Pistachier de l'atlas*, Carvacrol, Camphène, DPPH

Abstract

This work aims to deepen the study of the essential oils of two commonly used plants in the Zaïre (Rommani) region, focusing on their detailed chemical composition. We conducted oil extraction from the aerial parts of *Lavandula multifida* and the leaves of *Pistachier atlantique* to evaluate their chemical composition, volatile compounds, as well as their antioxidant and antibacterial properties.

Our findings reveal that the essential oil of *Lavandula multifida* is particularly rich in Carvacrol (44.3%) and β -Bisabolene (31.9%), constituting 76.1% of its components. Similarly, the leaves of *Pistachier atlantique* exhibit varied composition profiles depending on the diameter of the trees, with significant variations in the percentages of α -pinene, α -sabinene, camphene, spatulenol, terpinene-4-ol, and other compounds. In particular, each oil reveals three dominant primary compounds. For instance, leaves harvested from trees of different diameters show notable variations in the concentration of key compounds, including α -pinene, terpinene-4-ol, and p-Cymene.

These results suggest that *Pistachier atlantique* and *Lavandula multifida* could be promising sources of natural bioactive compounds. The comprehensive study of their chemical composition and biological properties opens new perspectives for their potential use in various fields, including as therapeutic agents or food additives sources of natural bioactive compounds.

Keywords (5): *Lavandula multifida*, *Atlantic pistachio*, Carvacrol, Camphene, DPPH