



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة غرداية  
Université de Ghardaïa

N° d'enregistrement

/...../...../...../...../.....

كلية العلوم والتكنولوجيا  
Faculté des Sciences et de la Technologie

قسم هندسة الطرائق  
Département de Génie des Procédés

Mémoire de fin d'étude, en vue de l'obtention du diplôme

## Master

Domaine: Sciences et Technologie

Filière: Génie des Procédés

Spécialité: Génie Chimique.

## Thème

*Extraction et étude des activités biologiques de  
l'huile essentielle des plantes aromatiques  
médicinales*

Présenté par :

*Raounak RACHED*

*Hibat-Allah RAMDANI*

Devant le jury composé de:

Dr. RAACHE Imane	MCB	Univ. Ghardaïa	Encadrant
Dr. KHANE Yasmina	MCB	Univ. Ghardaïa	Examinateur
Dr. BENCHEIKH Salah Eddine	MCB	Univ. Ghardaïa	Examinateur

Année universitaire : 2021/2022

# Dédicace

*Ce travail modeste est dédié :*

*À mon soleil, Ma mère, Le plus beau cadeau que Dieu m'a offert. Le symbole de la tendresse, du courage, de la responsabilité et de l'amour. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager depuis ma naissance. Tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait.*

***Que DIEU le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie et te protège de tout mal .***

*À ma lune, Mon cher père, école de mon enfance et berceau de ma culture. Tes conseils ont toujours ma raison de vivre, mes sources de force, d'inspiration, de courage et d'espoirs. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.*

***Que DIEU le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal .***

*À mes chers frères Said et Makrem merci pour tous les soutiens inconditionnels tout au long de mes études et la confiance qu'ils m'a toujours témoigné. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et succès.*

*À tous les membres de ma famille .*

*À mon collègue Hiba, qui a partagé le travail avec moi.*

*À tous nos amis et collègues!*

*À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer .*

*À tous mes chers enseignants qui ont enseigné moi au long de ma vie scolaire .*

***Raounak***

# Dédicace

*Ce travail est dédié :*

*À celle qui A celle que je me préfère, qui s'est sacrifiée pour moi, et n'a ménagé aucun effort  
pour me rendre toujours heureuse de ma vie:*

*« Ma chère mère smahi A »*

*À la personne le plus chère dans le monde au propriétaire d'un visage gentil et de bonnes  
actions, il ne nous a pas épargnés toute sa vie qui a sacrifié et souffert les plus belles années  
de sa vie pour me voir un jour réussir:*

*« Mon cher père lalmi » .*

*À mes chers frère " Mohamed et Adlane " pour leurs encouragements permanents, et leur  
soutien moral.*

*A ma chère soeur "fatna" pour son soutien et ses encouragements.*

*A mon collègue raounak, qui a partagé le travail avec moi.*

*À tous nos amis et collègues.*

*À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer .*



# **Remerciements**

*Nous remercions ALLAH qui nous a données la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*فَاللّٰهُمَّ لَكَ الْحَمْدُ كَمَا يَنْبَغِي لِجَلَالِ وَجْهِكَ وَعَظِيمِ سُلْطَانِكَ*

*Nous aimerions exprimer notre admiration sans limite pour notre promotrice **Dr.RAACHE Imane** pour avoir accepté de nous encadrer, Grâce à sa gentillesse. Sans lui, ce thème n'aurait jamais été. Qui depuis le début, n'a cessé de nous faire bénéficier de ses nombreux conseils, de ses critiques, de ses compétences et de son soutien. Et malgré les difficultés et sa maladie, ce qui ne l'a pas empêchée de poursuivre sa marche avec nous et de nous soutenir. Nous lui sommes extrêmement merci mille fois Pour votre soutien, tous les mots de remerciement ne suffisent pas à la remercier et notre gratitude envers elle. Merci de nous guider avec autant de professionnalisme et d'avoir consacré énormément de temps et d'attention pour la correction ce mémoire ; je ne peux, que sincèrement vous exprimer ma parfaite considération pour cette qualité d'encadrement si sérieuse et consistante.*

***Que dieu** préserve votre optimisme et votre enthousiasme. Nous avons l'honneur de travailler avec vous.*

*Je vous remercie à tous les membres du jury qui nous faire l'honneur de juger ce modeste travail.*

*Nous voudrions remercier également l'ensemble des membres du laboratoire pour leur gentillesse et leur soutien. **Mr Yacine**, Assistante au laboratoire d'analyses Médicales **ESSALEM** .*

*Enfin, Nous ne pourrions oublier de remercier du fond du cœur nos parents pour nous avoir toujours permis de suivre le chemin des études. Merci pour leurs soutiens, leurs encouragements et surtout leur amour qui a toujours été une source motivant*

## Résumé :

Notre travail s'inscrit dans le cadre de l'étude des activités biologiques, et de la composition chimique des plantes aromatiques et médicinales, afin de déterminer les indices physico-chimiques et d'évaluer les activités antimicrobiennes et antioxydantes de l'huile essentielle des plantes aromatiques *Rosmarinus officinalis L* et *Ocimum basilicum L* de la région de Ghardaia.

Ces huiles essentielles extraites par hydrodistillation. Le rendement d'extraction obtenu est de 0.47% pour le basilic et 0.83% pour le romarin, L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis d'identifier 68 constituants pour les HEs de basilic où le composé majoritaire dans cette huile essentielle est le Linalool et 47 constituants pour les HEs de romarin avec 16,85 % de Bornéol.

La capacité de nos huiles essentielles à inhiber les micro-organismes a été testée sur six souches bactériennes. Les deux plantes ont montré un large spectre d'action sur les bactéries testées. A noter que le pouvoir antibactérien de l'HEs d'*Ocimum basilicum L* s'est révélé supérieur à celui de *Rosmarinus officinalis L*. Et le potentiel piègeur de l'huile essentielle de basilic était supérieur à celui de l'huile essentielle de romarin, les valeurs IC50 sont respectivement égales à 1,4154mg/ml et 9,4750mg/ml.

Enfin, en raison de l'importance des huiles essentielles et de la possibilité de leur évaporation, nous avons testé le procédé d'encapsulation par la méthode de gélification inverse sur notre huile essentielle afin de la stabiliser et de la protéger (contre la lumière, l'oxygène et la température).

**Mots clés :** Huiles essentielles, *Ocimum basilicum L*, *Rosmarinus officinalis L*, CG/MS, Activité antimicrobienne, Activité antioxydante, Encapsulation.

## **Abstract :**

Our work is part of the study of the biological activities, and the chemical composition of aromatic and medicinal plants, in order to determine the physico-chemical indices and to evaluate the antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of aromatic plant *Rosmarinus officinalis L* and *Ocimum basilicum L* from the Ghardaia region.

The extraction yield of these essential oils by hydrodistillation is 0.47% for basil and 0.83% for rosemary. Analysis by gas phase chromatography coupled with mass spectrometry made it possible to identify 68 constituents for the oil of basil where the majority compound in this essential oil is Linalool and 47 constituents for the oil of rosemary with 16.85 % of Borneol

The ability of our essential oils to inhibit microorganisms has been tested on six bacterial strains. two plants showed a broad spectrum of action on the bacteria tested. Note that the antibacterial power of the essential oil of *Ocimum basilicum L* proved to be greater than that of *Rosmarinus officinalis L*. And the scavenging potential of basil essential oil was superior to rosemary essential oil, the IC50 values are equal to 1.4154mg/ml and 9.4750mg/ml respectively.

Finally, because of the importance of essential oils and the possibility of their evaporation, we tested the encapsulation process by the reverse gelation method on our essential oil in order to stabilize it and protect it (against light , oxygen and temperature).

**Keywords:** Essential oils, *Ocimum basilicum L*, *Rosmarinus officinalis L*, CG/MS, Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Encapsulation .

## المخلص :

عملنا هو جزءاً من دراسة الأنشطة البيولوجية، والتركيب الكيميائي للنباتات العطرية والطبية، من أجل تحديد المؤشرات الفيزيائية الكيميائية وتقييم الأنشطة المضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة للزيت الأساسي للنبات الريحان (*Ocimum basilicum L*) و إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis L*) من منطقة غرداية .

هذه الزيوت الأساسية المستخرجة عن طريق التقطير المائي. بلغ مردود الاستخلاص 0.47% للريحان و 0.83% لإكليل الجبل، و قد تم تحليل الزيوت بواسطة الغاز إلى جانب قياس الطيف الكتلي (GC/MS). الفحص سمح بتحليل 78 مكوناً لزيت الريحان، المركب الرئيسي في الزيت الأساسي للريحان هو Linalool بنسبة 24.67%، و Borneol بنسبة 16.85% في زيت الإكليل الأساسي.

تم اختبار قدرة الزيوت الأساسية لدينا على تثبيط الكائنات الحية الدقيقة على ست سلالات بكتيرية. أظهر كلا النباتين قدرة تثبيطية واسعة على البكتيريا التي تم اختبارها. لاحظنا من خلال نتائجنا إلى أن زيت *ocimum basilicum L* أظهر أعلى فعالية لتثبيط نشاط الجذر الحر DPPH (IC=1.4154mg/ml), و (*Rosmarinus officinalis L* بالنسبة لزيت (IC = 9.4750mg/m)

أخيراً ، نظراً لأهمية الزيوت الأساسية وإمكانية تبخرها ،قد قمنا بتجربة عملية التغليف على الزيت الأساسي الخاص بنا من أجل تجميد المركبات المتطايرة من الزيت العطري و حمايته ( ضد الضوء والأكسجين ودرجة الحرارة).

**الكلمات المفتاحية :** الزيوت الأساسية, *Ocimum basilicum L*, *Rosmarinus officinalis L*,

GC/MS, الفعالية المضادة للبكتيريات, الفعالية المضادة للأكسدة, التغليف

## ***LISTE D'ABREVIATION***

<b>HEs</b>	Huiles essentielles
<b>HE</b>	Huile essentielle
<b>HD</b>	Hydro-distillation
<b>pH</b>	Potentiel d'Hydrogène
<b>IR</b>	Indice de réfraction
<b>IA</b>	Indice d'acide
<b>IC50</b>	Concentration inhibitrice à 50%
<b>GC/MS</b>	Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse
<b>DPPH</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazil
<b>DMSO</b>	Diméthyl sulfoxyde
<b>MHA</b>	Mueller–Hinton
<b>°C</b>	Degrés Celsius
<b>g</b>	Gramme
<b>ml</b>	Millilitre
<b>Min</b>	Minute
<b>mm</b>	Millimètre
<b>AFNOR</b>	Association française de normalisation
<b>D</b>	Diamètre.
<b>Sig</b>	signification.
<b>R</b>	résistante.
<b>S</b>	sensible.
<b>ATB</b>	antibiotiques

## ***LISTE DES FIGURES***

<b><i>Figure I. 1</i></b>	Structure de l'isoprène (C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ).....	<b>5</b>
<b><i>Figure I.2</i></b>	Structure Chimiques de quelques composés aromatiques.....	<b>6</b>
<b><i>Figure I.3</i></b>	Mécanismes de gélification externe (A) et inverse (B) pour la fabrication de billes d'alginate.....	<b>15</b>
<b><i>Figure I.4</i></b>	Morphologies des billes obtenues par gélification externe.....	<b>16</b>
<b><i>Figure II.1</i></b>	<i>Ocimum basilicum L.</i> (Basilic).....	<b>18</b>
<b><i>Figure II.2</i></b>	Répartition géographique d' <i>Ocimum basilicum L.</i> .....	<b>18</b>
<b><i>Figure II.3</i></b>	Le <i>Rosmarinus officinalis L.</i> (Romarin).....	<b>22</b>
<b><i>Figure II. 4</i></b>	Les Feuilles de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	<b>23</b>
<b><i>Figure II. 5</i></b>	Les fleurs de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	<b>23</b>
<b><i>Figure III.1</i></b>	l'organigramme de la partie expérimentale.....	<b>27</b>
<b><i>Figure III.2</i></b>	Photographie des plantes étudiées.....	<b>28</b>
<b><i>Figure III.3</i></b>	Principe de la méthode de diffusion sur disques.....	<b>36</b>
<b><i>Figure III.4</i></b>	Tests de antibiogramme.....	<b>37</b>
<b><i>Figure III.5</i></b>	Réalisation de la gamme de dilution des huiles essentielles.....	<b>38</b>
<b><i>Figure IV.1</i></b>	Rendements en huiles essentielles de basilic et de romarin.....	<b>40</b>
<b><i>Figure IV.2</i></b>	Chromatogramme en GC/SM d'HE de <i>Ocimum basilicum L.</i> .....	<b>43</b>
<b><i>Figure IV.3</i></b>	Chromatogramme en GC/SM d'HE de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	<b>44</b>
<b><i>Figure IV.4</i></b>	Distribution en fonction du pourcentage des différents composants existant dans l'huile essentielle de <i>Ocimum basilicum L.</i> .....	<b>45</b>
<b><i>Figure IV.5</i></b>	Distribution en fonction du pourcentage des différents composants existant dans l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	<b>45</b>
<b><i>Figure IV.6</i></b>	Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (RH).....	<b>47</b>
<b><i>Figure IV.7</i></b>	Activité anti-radicalaire des huiles essentielles d' <i>ocimum basilicum L.</i> et <i>Rosmarinus officinalis L.</i> .....	<b>47</b>
<b><i>Figure IV.8</i></b>	Activité anti-radicalaire d' l'Acide Ascorbique.....	<b>48</b>
<b><i>Figure IV.5</i></b>	Diamètre des zone d'inhibition des souches microbiennes testées vis-à-vis de l'HEs.....	<b>52</b>

## ***LISTE DES FIGURES***

<b><i>Figure IV.6</i></b>	Effet de l'HEs de Basilic et de Romarin sir la croissance des différentes souches bactériennes.....	<b>53</b>
<b><i>Figure IV.7</i></b>	Les morphologies des obtenues par gélification inverse.....	<b>54</b>

## ***LISTE DES TABLEAUX***

<b><i>Tableau I.1</i></b>	avantages et inconvénients des différents procédés d'extraction des huiles essentielles.....	<b>8</b>
<b><i>Tableau I.2</i></b>	Quelques Domaines d'application de l'encapsulation.....	<b>13</b>
<b><i>Tableau I.3</i></b>	Classification des procédés de l'encapsulation.....	<b>14</b>
<b><i>Tableau II.1</i></b>	Classification et systématique d' <i>Ocimum Basilicum L.</i> .....	<b>20</b>
<b><i>Tableau II.2</i></b>	Les noms et les synonymes d' <i>Ocimum basilicum L.</i> .....	<b>20</b>
<b><i>Tableau II.3</i></b>	Classification de <i>Rosmarinus Officinalis L.</i> .....	<b>24</b>
<b><i>Tableau III.1</i></b>	Produits et matériels utilisés dans l'analyse de l'indice d'acide.....	<b>30</b>
<b><i>Tableau III.2</i></b>	Produits et matériels utilisés dans l'activité antioxydante.....	<b>33</b>
<b><i>Tableau III.3</i></b>	Produits et matériels utilisés dans l'activité antibactérienne.....	<b>35</b>
<b><i>Tableau III.4</i></b>	Valeurs critiques des zones d'inhibition des antibiotiques.....	<b>37</b>
<b><i>Tableau III.5</i></b>	Caractéristiques de polysaccharide utilisé comme matières enrobantes...	<b>39</b>
<b><i>Tableau IV.1</i></b>	Caractéristique physico-chimique des huiles essentielles.....	<b>41</b>
<b><i>Tableau IV.2</i></b>	Caractéristiques organoleptiques des HES d' <i>Ocimum basilicum L</i> et de <i>Rosmarinus officinalis L</i> .....	<b>42</b>
<b><i>Tableau IV.3</i></b>	Concentration inhibitrice à 50% des huiles essentielles et de l'Acide Ascorbique.....	<b>48</b>
<b><i>Tableau IV.4</i></b>	Diamètre des zones d'inhibition en mm pour les micro-organismes testés.....	<b>50</b>

# *Table de matières*

*Dédicace*

*Remerciements*

*Résumé*

*Liste des abréviations*

*Liste des figures*

*Liste des tableaux*

Introduction générale ..... 1

## **Partie I : Synthèse bibliographique**

### **Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles**

I.1 Introduction ..... 3

I.2 Définition des huiles essentielles ( HEs)..... 3

I.3 La répartition d’huiles essentielles ..... 3

I.4 Le Rôle des huiles essentielles ..... 4

I.5 Composition chimique des huiles essentielles ..... 4

I.5.1 Les composés terpéniques..... 5

I.5.2 Composés aromatiques..... 5

I.5.3 Composés d’origine variée..... 6

I.6 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles..... 7

I.7 Méthode d’extraction des huiles essentielles..... 7

I.8 Activités biologique des huiles essentielles..... 10

I.8.1 Activités antioxydante ..... 10

I.8.2 Activités antimicrobienne..... 10

I.9 Toxicités des huiles essentielles..... 11

## ***Table de matières***

I.10 Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	11
I.10.1 Les industries agro-alimentation .....	11
I.10.2 La médecine et l'industrie pharmaceutique .....	12
I.10.3 L'industrie de la parfumerie et de la cosmétique.....	12
I.11 Conservation des huiles essentielles .....	12
I.11.1 Définition et applications de l'encapsulation .....	13
I.11.2 Techniques d'encapsulation des huiles essentielles.....	14
I.11.2.1 Encapsulation par gélification ionotropique.....	14

### **Chapitre II : Aspect botanique des espèces végétales étudiées**

II.1 Introduction.....	17
II.2 Famille des Lamiacées.....	17
II.3 Espèce <i>Ocimum basilicum L</i> .....	17
II.3.1 Historique d' <i>Ocimum basilicum L</i> .....	18
II.3.2 Répartition géographique d' <i>Ocimum basilicum L</i> .....	18
II.3.3 Description botanique du basilic .....	19
II.3.4 Classification d' <i>Ocimum basilicum L</i> .....	19
II.3.5 Noms et synonymes d' <i>Ocimum basilicum L</i> .....	20
II.3.6 L'huile essentielle d' <i>Ocimum basilicum L</i> .....	21
II.4 Espèce <i>Rosmarinus officinalis L</i> .....	21
II.4.1 Historique de <i>Rosmarinus officinalis L</i> .....	22
II.4.2 Genre <i>Rosmarinus officinalis L</i> .....	22
II.4.3 Distribution géographique .....	22
II.4.4 Description botanique du <i>Rosmarinus officinalis L</i> .....	23
II.4.5 Classification de <i>Rosmarinus Officinalis L</i> .....	24

# ***Table de matières***

II.4.6 L'huile essentielle d' <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	24
--	----

## **Partie II: Etude Expérimentale**

### **Chapitre III : Matériels et Méthodes**

III.1 Introduction.....	26
III.2 Préparation du matériel végétal .....	28
III.3 Extraction des huiles essentielles.....	28
III.4 Caractérisation des huiles essentielles.....	29
III.4.1 Caractéristiques organoleptiques .....	29
III.4.2 Caractéristiques physico-chimique.....	29
III.4.2.1 Détermination des rendements en huiles essentielles.....	29
III.4.2.2 Indice de réfraction (norme NF T 75 – 112) .....	30
III.4.2.3 Indice d'acide.....	30
III.4.2.4 La Densité .....	31
III.4.2.5 Mesure de pH .....	32
III.4.3 Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par GC/MS.....	32
III.5 Activités biologique .....	33
III.5.1 Activité antioxydante .....	33
III.5.1.1 Méthode de DPPH .....	33
III.5.2 Activité antibactérienne .....	34
III.5.2.1 Souches bactériennes utilisées .....	35
III.5.2.2 Méthode de diffusion sur gélose.....	35
III.5.2.3 Principe de l'antibiogramme.....	35
III.5.2.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	37
III.6 Essai de l'encapsulation des HEs par gélification d'alginate de sodium.....	38

## *Table de matières*

III.6.1 Matériels .....	39
III.6.2 Production de billes par gélification inverse .....	39
<b>Chapitre IV : Résultats et discussion</b>	
IV.1 Les analyses physico-chimiques.....	40
IV.1.1 La détermination de rendement d'extraction .....	40
IV.1.2 La détermination des constant physico-chimiques.....	41
IV.2 Caractères Organoleptiques.....	42
IV.3 L'analyse de composition chimique des huiles essentielles .....	42
IV.4 Activités biologique.....	46
IV.4.1 Activité antioxydante.....	46
IV.4.2 Activité antibactérienne.....	49
IV.5 Résultat de l'essai de production de capsules des HEs par gélification inverse .....	53
Conclusion Générale .....	55
Références bibliographiques.....	57
Annexes.....	65

***Introduction Générale***  
**INTRODUCTION GÉNÉRALE**

## ***Introduction générale***

Les plantes médicinales et aromatiques furent utilisées par l'homme depuis l'antiquité. De nos jours leur utilisation a pris un essor considérable dans les industries de parfum, produits cosmétiques et pharmaceutiques[1].

Les plantes sont la source principale de substances actives où au moins 35 000 espèces sont utilisées dans le monde. L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs, présente une flore de 3 510 espèces dont 450 espèces sont répertoriées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays [2].

La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs huiles essentielles [3].

En effet, les huiles essentielles sont des principes actifs issus du métabolisme secondaire, des plantes médicinales pour leurs propriétés biologiques (antimicrobienne, antioxydante, analgésique, anti-inflammatoire, anti-cancérogène, antiparasitaire, insecticide...)[4].

L'importance économique que représentent ces essences du fait de leurs propriétés biologiques, thérapeutiques, odoriférantes..., de leur impact au niveau de l'environnement et de leur utilisation dans le traitement de certaines maladies infectieuses pour lesquelles les antibiotiques de synthèse sont de moins en moins actifs ou dans la conservation des aliments contre l'oxydation comme alternatives aux produits chimiques de synthèse suscitent de plus en plus l'intérêt des biologistes, des médecins et des chimistes. Par ailleurs, l'utilisation de nouvelles techniques faisant appel aux critères de chimie verte et de développement durable pour l'extraction ; le stockage et la conservation de substances bioactives, sont devenus fortement intéressants car il répond aux enjeux scientifiques et aux problèmes économiques et environnementaux actuels [5].

L'objectif de ce travail est dans un premier temps, de réaliser la technique d'hydro-distillation permettant d'extraire des huiles essentielles de deux plantes aromatiques et médicinales Algérienne en général et de la région de Ghardaïa en particulier, à savoir : ***Rosmarinus officinalis L.*** et ***Ocimum basilicum L.*** qui appartient à la famille des lamiacées. Elles se considèrent parmi les familles de plantes les plus utilisées comme source mondiale

## ***Introduction générale***

d'épices et d'extraits à qualité médicale intéressante ; et de déterminer les propriétés physico-chimiques et la composition chimique de ces huiles d'une autre part.

Et dans un second temps ; de déterminer l'effet biologique des huiles extraites dans différentes activités notamment l'activité antimicrobienne et antioxydante, finalement de tester un procédé de l'encapsulation des huiles essentielles.

Le plan de travail de cette étude est articulé autour quatre chapitres :

✓ Les deux premiers chapitres sont consacrés à la partie théorique reliée à notre travail, qui est relative à une étude générale sur les huiles essentielles et une description des plantes étudiées.

✓ La deuxième partie représente la partie expérimentale où nous présenterons les techniques utilisées :

- Extraction des huiles essentielles des *Rosmarinus officinalis L* et *Ocimum basilicum L* par l'hydro-distillation.

- Détermination de quelques caractéristiques physico-chimiques, organoleptiques et de la composition chimique des huiles essentielles, par méthodes chromatographiques.

- L'étude l'effet : antibactérien et antioxydant des huiles essentielles.

Enfin les résultats obtenus des caractéristiques physico-chimiques ; de la composition des huiles essentielles et leurs activités antibactériennes et antioxydants sont interprétés à la lumière de la littérature. Le travail est clôturé par une conclusion générale.

*PARTIE I :*  
*PARTIE I :*

*Synthèse bibliographique*  
*ΣΥΝΘΕΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗΣ*

# Chapitre I :

## CHAPITRE I :

### *Généralités sur les huiles essentielles*



**I.1 Introduction :**

L'énormité de territoire algérien (2,382 millions km<sup>2</sup>) et la caractéristique de climat de chaque région favorisent la diversité des ressources végétale, notamment les plantes médicinales qui poussent généralement à l'état spontané et pour mieux connaître les propriétés thérapeutiques d'une plante, il est nécessaire d'analyser la composition chimique de ses principes actifs tel que les huiles essentielles qui nous permettra de lutter contre les infections produites par les bactéries ou certains autres agents pathogènes[ 6 ].

**I.2 Définition des huiles essentielles ( HEs) :**

Le terme "huile" s'explique par la propriété de la solubilité dans les graisses et par leur caractère hydrophobe . Le terme " essentielle" fait référence au parfum (essence), à l'odeur dégagés par la plante[7].

Les huiles essentielles (HEs) sont des liquides organiques, Ils sont également appelés huiles volatiles qui sont sécrétés par de minuscules structures situées dans les diverses parties d'une plante : les graines, les herbes, les racines, les écorces, les tiges, les fruits, les fleurs, les résines, les zestes et les bois de plantes [8].

L'Agence Française de Normalisation (AFNOR) donne la définition suivante (NF T 75006) : L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première végétale. Elle tire son nom de la plante dont elle provient. Par exemple, « l'huile essentielle de la fleur de lavande serait appelée huile de lavande ». Se compose généralement d'une combinaison complexe, il est soumis à la réglementation des produit cosmétique, des biocides, ou des médicaments. [9].

Elles ont des applications importantes en médecine soit par leur qualité odorante soit pour soulager la douleur ou pour leur efficacité physiologique [10].

**I.3 La répartition d'huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont généralement extraites à partir d'une ou des plusieurs parties de la plante. Ces différentes parties sont [11] :

- Les fleurs ( rose, jasmine, giroflier, mimosa, romarin, lavande ).
- Les feuilles ( menthe, Ocimum, jamrosa, Citronnel ).
- les feuilles et les tiges ( géranium, patchouli, verveine, cannelle).
- l'écorce (cannelle, cassia).
- le bois (cèdre, pin).
- les racines (angélique, sassafras, vétiver, valériane).
- les graines (fenouil, coriandre, carvi, aneth, muscade).
- les fruits (bergamote, orange, citron, genévrier).
- les rhizomes (gingembre, calamus, curcuma).
- les gommés ou exsudats d'oléorésine (baumier du Pérou, baume de Tolu, styrax, myrrhe, benjoin)

#### **I.4 Le Rôle des huiles essentielles :**

L'action des huiles essentielles dépend de la nature des actifs qu'elles contiennent. La plupart des gens pensent que l'intérêt des huiles essentielles se résume à leur pouvoir anti-infectieux : elles peuvent être antivirales, antibactériennes et antifongiques. Cependant, elles assurent bien d'autres fonctions[12]:

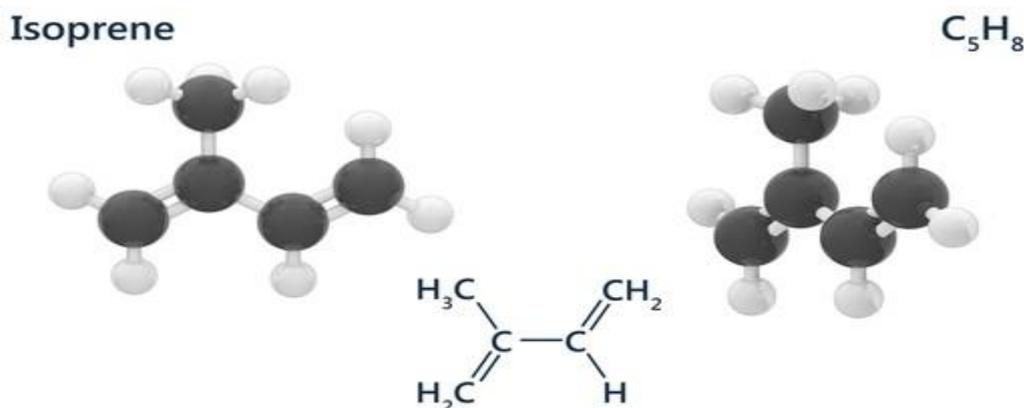
- Anti-inflammatoires.
- Antispasmodiques.
- Antiparasitaires.
- Régulatrices du système immunitaire.
- Tonifiantes.Calmantes.
- Anxiolytiques.
- Cicatrisantes.
- Hypotensives et hypertensives.
- Régulatrices du système hormonal.
- Actives sur la sphère digestive.
- Favorables à l'élimination des gaz intestinaux.
- Hépatorégulatrices et hépatostimulantes.
- Régulatrices des fonctions de la vésicule biliaire.
- Fluidifiantes sanguines ou hémostatiques.
- Antioxydantes
- Insecticides.

#### **I.5 Composition chimique des huiles essentielles :**

Les HEs sont des mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: Les terpènes volatils et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane[13].

### I.5.1 Les composés terpéniques :

Il s'agit d'une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Ils sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbone (C5) nommée : isoprène :



**Figure I.1** : Structure de l'isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>).

Juste les monoterpènes en C<sub>10</sub> et les sesquiterpènes en C<sub>15</sub> peuvent être extraits par distillation, mais les autres terpènes (diterpènes en C<sub>20</sub> et triterpènes en C<sub>30</sub>) n'étant pas entraînés par la vapeur d'eau [14].

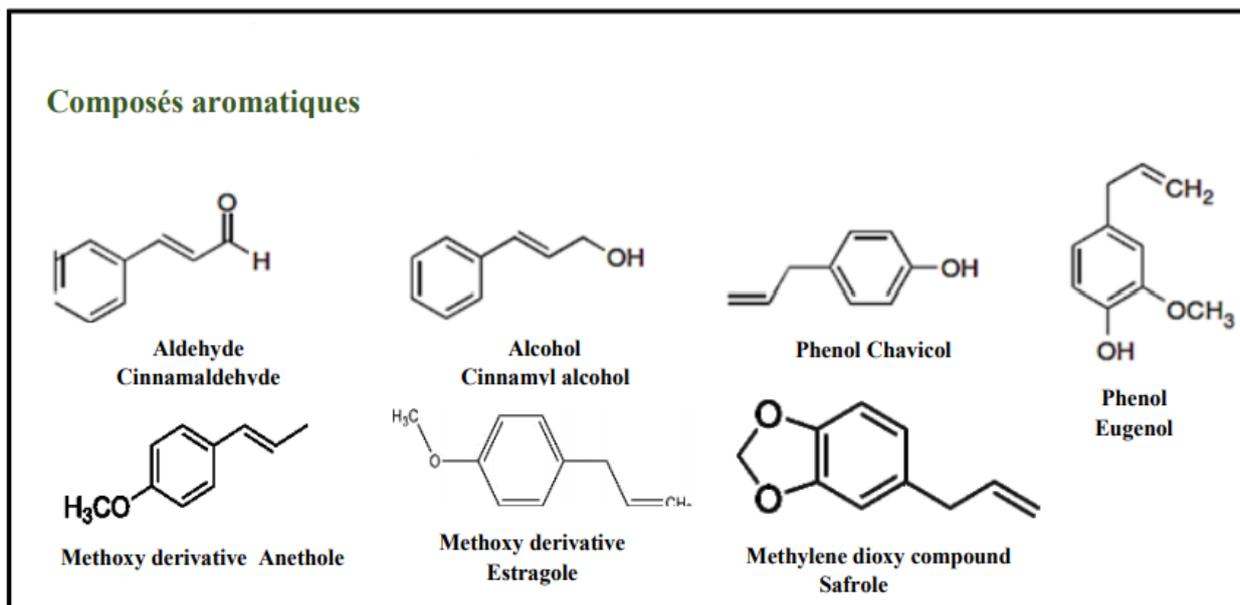
Ils sont classés selon :

- Leurs fonctions : alcools (géraniol, linalol), esters (acétate de linalyle), aldéhydes (citral, citronellal), cétones (menthone, camphre, thuyone), éthers-oxydes (cinéole).
- Leur structure : linéaire (farnésène, farnésol) ou monocyclique (humulène, zingiberène), bicyclique (cadinène, caryophyllène, chamazulène) ou tricyclique (cubébol, patchoulol, viridiflorol)

### I.5.2 Composés aromatiques :

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes. Citons [14] :

- l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (HEs de cannelle).
- l'eugénol (HEs de girofle).
- l'anéthole et l'aldéhyde anisique (HEs de badiane, d'anis, de fenouil).
- le safrole (HEs de saffras).



**Figure I.2 :** Structure Chimiques de quelques composés aromatiques.

### I.5.3 Composés d'origine variée :

A cause de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, en général de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydro-distillation. Ces produits peuvent être azotés, soufrés, des carotènes ou des acides gras[15] .

- **Alcools** : Menthol, géraniol, linalol,...
- **Aldéhydes** : Géraniol, citronellal,...
- **Cétones** : Camphre, pipéritone
- **Phénols**: Thymol, carvacrol ...
- **Esters** : Acétate de géranyle,...
- **Acides** : Acide gérannique,...
- **Oxydes** : 1,8-cinéole,...
- **Phénylpropanoïdes** : Eugénol.
- **Terpènes** : Limonène, para-cymène,...
- **Autres** : Ethers, composés soufrés, composés azotés, sesquiterpène,...

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

Les huiles essentielles sont généralement liquides et volatiles à température ambiante. La volatilité dépendra de la composition chimique. Une huile essentielle riche en monoterpènes sera plus volatile qu'une huile essentielle riche en sesquiterpènes. [16].

Elles sont plus ou moins colorées. Elles peuvent être incolores lors de leur obtention (ou légèrement colorées en jaune) pour la majorité d'entre elles, et foncent au cours de la conservation à l'air et à la lumière. Dans les cas extrêmes, l'huile essentielle vieillie et oxydée peut présenter des risques de toxicité. Notons cependant quelques couleurs caractéristiques : rouge pour l'huile essentielle de cannelle, bleue pour la camomille et verte pour l'absinthe [16].

Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (celles de la cannelle de Ceylan et des clous de girofle, sont légèrement supérieures à 1). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée [16,17].

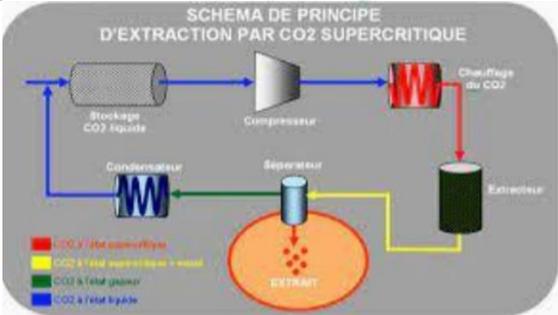
Elles sont en général solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Leur solubilité dans l'eau est quasiment nulle (inférieure à 1 %) ; elle dépendra de la présence de terpènes possédant des fonctions organiques polarisées (par exemple, alcool, aldéhyde) [16,18].

**I.7 Méthode d'extraction des huiles essentielles.**

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales ; Le tableau ci-dessous présente quelque méthode d'extraction des HES avec leurs avantages et inconvénients :

Tableau I.1 : avantages et inconvénients des différents procédés d'extraction des huiles essentielles [19, 20, 21].

Méthodes	Figures	Avantages	Inconvénients
Hydro-distillation		<p>Le rendement en HE très élevé , Essence en bonne qualité, très concentrée , Contact direct entre matière végétale-eau.</p>	<p>Perte d'une partie d'essence par vaporisation, oxydation. Procédé violant.</p>
Entraînement par la vapeur d'eau	<p>1. Feu 2. Eau 3. Vapeur d'eau 4. Plantes aromatiques 5. Vapeur d'eau chargée d'H.E. 6. Eau froide 7. Eau chaude 8. Eau + H.E. 9. Huile essentielle 10. Hydrolat</p>	<p>Convient à la majorité des plantes sauf jasmin , Gain de temps : la distillation commence juste après le chargement ; Efficacité d'extraction.</p>	<p>Nécessité d'acquérir une source de vapeur externe : chaudière vapeur gasoil, gaz, bois ou électrique</p>
Extraction assistée par micro-ondes		<p>L'extraction assistée par micro- ondes est plus rapide ; la consommation de solvants est plus faible et si besoin, des températures plus élevées peuvent être utilisées .</p>	<p>Les coûts de l'investissement sont plus élevés ; Les matières thermosensibles peuvent être Dégradées.</p>

<p><b>Extraction par ultrasons</b></p>		<p>Rapide &amp; extraction efficace , Processus doux et non thermique ,Extraits de haute qualité , Rendement élevé.</p>	<p>Les coûts de l'investissement sont un peu plus élevés.</p>
<p><b>Extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique</b></p>		<p>C'est un produit naturel, abondant dans la nature et disponible ; Il est non toxique, inerte, inodore, incolore et insipide.</p> <p>les températures d'extraction par CO<sub>2</sub> sont basses</p>	<p>le coût élevé des équipements.</p>
<p><b>Enfleurage à froid</b></p>		<p>Les températures très faibles qu'elle nécessite. on l'utilise surtout pour des plantes fragiles qu'une distillation endommagerait.</p>	<p>Cette pratique, entièrement manuelle et très onéreuse ;Cout très élevé. La durée nécessaire est très longue.</p>

**I.8 Activités biologique des huiles essentielles :**

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants [22].

Les plantes aromatiques possèdent plusieurs activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les activités Fongicide, Insecticide, Herbicide, Bactéricide, Antioxydante...etc.

Certaines activités biologiques ont été rapportées pour des huiles essentielles, comme l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne [23].

**I.8.1 Activités antioxydante :**

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques .Ce sont des composés capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit [24].

L'activité antioxydante peut être primaire ou préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, empêchant ainsi la destruction des structures biologiques. Ils peuvent agir comme agents réducteurs capables de passer leurs électrons aux ROS et les éliminer [25].

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation [26].

**I.8.2 Activités antimicrobienne :**

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales ainsi que de leurs huiles essentielles sont connues depuis longtemps. Toutefois, leur utilisation se basait

sur des pratiques traditionnelles sans fondements scientifiques. Il a été rapporté que les HEs contenant des aldéhydes ou des phénols, tels que le cinnamaldéhyde, le citral, le carvacrol, l'eugénol ou le thymol comme composés majoritaires présentaient l'activité antibactérienne la plus élevée [27].

Donc, l'activité antimicrobienne des HEs est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HEs. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HEs ait son propre mécanisme d'action [27].

### **I.9 Toxicités des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont présentées, généralement comme «sans danger». Mais ces substances naturelles sont aussi des composés puissants [28].

Malgré les activités bénéfiques des huiles essentielles, elles peuvent s'avérer plus ou moins toxique, soit in situ (irritation, réaction allergiques et phototoxiques), soit au niveau d'un organe (neurotoxicité, hépatotoxicité, néphrotoxicité...etc.). Il est nécessaire d'évaluer le danger potentiel, qu'elles sont susceptibles de représenter à un certain niveau d'exposition afin d'éviter tous risques [29].

### **I.10 Domaines d'utilisation des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles peuvent être utilisés dans différents secteurs tel que :

#### **I.10.1 Les industries agro-alimentation :**

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes utilisées dans l'assaisonnement des aliments a été reconnue depuis longtemps. C'est pour cela, que l'on pense de plus en plus à les utiliser dans la conservation des denrées alimentaire, sans pour autant en dénaturer le goût puisque ces aromates entrent dans la composition de la préparation alimentaire. [30].

**I.10.2 La médecine et l'industrie pharmaceutique :**

L'importance des plantes aromatique est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle-ci leur confèrent de grandes perspectives d'application. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique [30].

**I.10.3 L'industrie de la parfumerie et de la cosmétique :**

Dans le domaine des parfums et cosmétiques les huiles essentielles sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes et antiseptiques qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. Ces essences naturelles servent à préserver ces cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable grâce à leurs composés volatils [31].

**I.11 Conservation des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont des substances très délicates, et s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile[32] . Cependant, l'utilisation industrielle en cosmétique et parfumerie doit faire face à de nombreux problèmes à cause de leur coût, la variabilité de leur composition, leur instabilité au stockage et le potentiel allergène de certains de leurs constituants. On reconnaît que la température, la lumière et la disponibilité en oxygène ont un impact prépondérant sur la préservation de l'intégrité de l'huile essentielle [33]. Une autre limite à l'utilisation des huiles essentielles est leur caractère volatil. Les constituants des huiles essentielles sont majoritairement formés de terpenoïdes parmi les monoterpènes qui présentent des tensions de vapeur élevée à 25°C [34].

Certaines techniques permettent de réduire l'effet de ces problèmes qui conditionnent l'utilisation industrielle des huiles essentielles. L'encapsulation et l'adsorption sur un support (argile, généralement) sont deux techniques couramment utilisées. Elles permettent de stabiliser de l'huile essentielle et de la protéger (contre la lumière, l'oxygène et la température) [35].

**I.11.1 Définition et applications de l'encapsulation :**

L'encapsulation est un procédé qui a pour but de piéger une substance ou un mélange de substances précis à l'aide de matériaux adaptés. Les substances qui feront l'objet d'une encapsulation peuvent être liquides, solides ou gazeuses. Généralement, ce sont des principes actifs sensibles ou instables à certains facteurs environnementaux et qui ont une action bien ciblée. Il peut aussi s'agir de substances dont on souhaite modifier l'état comme par exemple la transformation d'un liquide en solide [35].

Les applications de l'encapsulation sont très nombreuses et généralisées à plusieurs secteurs d'activités partant de la chimie à l'agroalimentaire. Suivant les domaines et les applications, l'encapsulation a pour but d'assurer la protection, la compatibilité et la stabilisation d'une matière active dans une formulation. Elle permet d'améliorer la présentation d'un produit ou encore de masquer une odeur ou un goût. [36] [37].

**Tableau I.2 :** Quelques Domaines d'application de l'encapsulation [36]

<b>Domaine industriel</b>	<b>Exemples de composés encapsulés</b>
<b>Pharmacie et médical</b>	Antibiotiques, contraceptifs, enzymes, vaccins, bactéries, vitamines, minéraux, antigènes, anticorps
<b>Cosmétique</b>	Parfums, huiles essentielles, anti transpirants, agents bronzants, crèmes solaires, colorants capillaires, baumes démêlants, mousses à raser...
<b>Alimentaire</b>	Huiles essentielles, graisses, épices, arômes, vitamines, minéraux, colorants, enzymes, levures, micro organismes...
<b>Agriculture</b>	Herbicides, insecticides, engrais, répulsifs, hormones végétales...
<b>Biotechnologie</b>	Enzymes immobilisées, microorganismes, cellules vivantes, cellules artificielles, cultures tissulaires, composés nutritionnels...
<b>Chimie</b>	Catalyseurs, enzymes, inhibiteurs de corrosion, retardateurs d'incendie, colorants et pigments, agents UV protecteurs, parfums, huiles essentielles, agents lubrifiants...

**I.11.2 Techniques d'encapsulation des huiles essentielles :**

Plusieurs techniques permettant l'encapsulation de principes actifs sont disponibles donnant lieu à la formation des capsules de grandeurs et de formes variées suivant la technique mise en œuvre [36]. Elles peuvent être basées sur la nature du solvant utilisé, le coût énergétique ou encore les applications industrielles. Une des classifications les plus courantes consiste à diviser ces technologies selon la nature du procédé mis en jeu (**Tableau I.3**) [38].

**Tableau I.3 : classification des procédés de l'encapsulation**

<b>Procédés physico-chimiques</b>	<b>Procédés physico-mécaniques</b>	<b>Procédés chimiques</b>
Coacervation (simple ou complexe)	Séchage par atomisation (spray-drying)	Polymérisation interfaciale
Evaporation/extraction de solvant	Lyophilisation (freeze-drying)	Polymérisation en milieu dispersé
Solidification thermique	Enrobage en lit fluidisé	
Gélification de gouttes	Utilisation de fluides supercritiques  (Co) Extrusion	

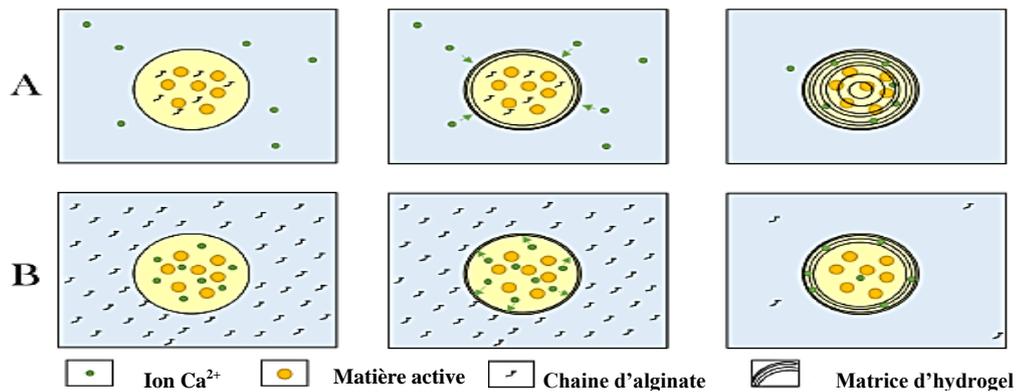
En raison de l'essai de l'encapsulation des HEs dans cette étude ; l'encapsulation par gélification ionotropique sera détaillé de façon plus approfondie.

**I.11.2.1 Encapsulation par gélification ionotropique [38] :**

L'encapsulation par gélification ionotropique consiste à utiliser un composé capable de former des hydrogels en présence d'ions divalents pour former la matière enrobante. Le procédé le plus courant est la gélification par l'alginate de sodium. En effet, l'alginate de sodium est couramment utilisé pour sa bonne résistance mécanique et la stabilité des gels qu'elle forme. Dans ce cas, des ions divalents sont utilisés (il s'agit généralement d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  en raison de leur non-toxicité comparativement aux autres ions divalents) afin de s'associer aux l'alginate de sodium pour former une structure de type « boîte à oeufs »

La production de particules par gélification d'alginate de sodium comprend généralement deux grandes étapes. La première étape consiste à disperser la solution

contenant l'alginate de sodium ou les ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Il existe une multitude de techniques permettant d'effectuer ces dispersions. La deuxième étape est la gélification de l'alginate de sodium. Cette gélification peut se produire selon quatre mécanismes principaux qui sont les gélifications externe, inverse, interne, et interfaciale. Dans cette étude, la gélification inverse a été utilisée.



**Figure I.3 :** Mécanismes de gélification externe (A) et inverse (B) pour la fabrication de billes d'alginate

➤ La gélification externe est le mécanisme le plus couramment utilisé (A). Dans ce cas, des gouttes contenant la matière active et la solution d'alginate sont plongées dans un bain contenant des ions  $\text{Ca}^{2+}$ . Ces ions vont alors réticuler avec les chaînes d'alginate situées en périphérie. Cette première étape va créer une membrane semi-solide enrobant un cœur encore liquide. Les ions  $\text{Ca}^{2+}$  vont ensuite diffuser à travers les interstices pour initier la gélification à l'intérieur de la goutte. Le produit final obtenu se présentera sous la forme d'une bille d'alginate à l'intérieur de laquelle la matière active sera enrobée de façon aléatoire entre les chaînes réticulées d'alginate.

➤ Dans le cas de la gélification inverse (B), une solution contenant la matière active et les ions  $\text{Ca}^{2+}$  est plongée au goutte-à-goutte dans un bain de solution d'alginate. Lors du contact de la goutte avec le bain, les ions  $\text{Ca}^{2+}$  vont diffuser en périphérie de la goutte, et réticuler avec les chaînes d'alginate situées à l'interface entre la goutte et le bain. Le procédé se poursuit jusqu'à épuisement du stock d'ions divalents. Les billes obtenues sont ainsi constituées d'un cœur liquide entouré d'une membrane semi-perméable d'hydrogel d'alginate.

En fonction du procédé utilisé, les billes d'alginate pourront prendre différentes morphologies. Les morphologies les plus classiques sont les structures de type « sphère », possédant un diamètre supérieur à 1 mm. On parlera de capsules lorsqu'elles sont constituées d'une membrane continue d'alginate réticulé entourant un cœur liquide contenant la matière active.



**Figure I.4 :** Morphologies des billes obtenues par gélification externe [38].

## *Chapitre II :*

### *Aspect botanique des espèces végétales étudiées*



## **II.1 Introduction :**

L'avènement des techniques innovatrices d'extraction des HEs, qu'on vient de présenter dans le chapitre précédent, a permis à ces essences végétales d'occuper une place de plus en plus importante dans diverses industries particulièrement celles de l'agroalimentaire, des cosmétiques, de la parfumerie et de la pharmacie.

Avant d'aborder l'extraction proprement dite de l'HEs de basilic et Romarin par Hydrodistillation (HD), une étude botanique des plantes étudiées s'impose.

## **II.2 Famille des Lamiacées :**

La famille des lamiacées connue également sous le nom des labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites ; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen [39].

Les lamiacées sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses. Un très grand nombre d'espèces appartenant toutes au même genre ; tel que les menthes, les lavandes et le romarin ou les basilics. Un bon nombre de ces espèces sont des plantes médicinales. Du point de vue chimique, cette famille a fait l'objet d'intenses investigations particulièrement sur les *Ocimum* et les *Rosmarinus* [39,40].

## **II.3 Espèce *Ocimum basilicum L* :**

L'*Ocimum basilicum L.* a le nom commun « le basilic », le mot basilic a l'origine vient de grec basilikon qui signifie plante royale. Est une plante aromatique annuelle ; de la famille lamiacée plus utilisé comme plante condimentaire pour ces propriétés culinaires, par ailleurs cette plante est utilisée en médecine traditionnelle. [40,41]



Figure II.1 : *Ocimum basilicum* L. (Basilic) [photo personnelle].

### II.3.1 Historique d'*Ocimum basilicum* L :

Le basilic est originaire d'Asie, l'Amérique et l'Inde. Au début des années 1600, les anglais utilisent basilic dans leur nourriture. Le basilic à une longue histoire de légende et utiliser à échelle mondiale. Il est aussi référé comme sacré dans l'Inde, car il est utilisé pour désinfecter la maison contaminée par Paludisme lequel tue les moustiques [42,43].

### II.3.2 Répartition géographique d'*Ocimum basilicum* L :

L'*Ocimum basilicum* L pousse à l'état sauvage dans les régions tropicales et subtropicales incluant l'Afrique centrale et le sud-est d'Asie, il est commercialisé dans nombreux pays à travers le monde : la France, la Hongrie, la Grèce, l'Egypte, le Maroc, l'Algérie et l'Indonésie et dans plusieurs Etas Américains [40].



Figure II.2: Répartition géographique d'*Ocimum basilicum* L.

### II.3.3 Description botanique du basilic :

Le basilic est une plante herbacée pouvant atteindre 30 à 60 cm de hauteur, son odeur et sa saveur sont fortement aromatiques. Sa culture exige un climat chaud et ensoleillé, un sol irrigable, riche en matières organiques [44].

Les tiges sont anguleuses et ramifiées portent des feuilles longues de 2 à 5 cm opposées de forme ovale à oblongue et couleur généralement verte à l'aspect brillant. Ses fleurs assez petites de couleur blanc rosé ou rouge-carmine ; sont disposées au sommet comprend 4 à 6 fleurs, L'ensemble a l'allure d'un épi qui peut atteindre 10 à 15 cm de long. [40]

### II.3.4 Classification d'*Ocimum basilicum* L:

Le genre *Ocimum* considéré comme l'un des plus grands genres de la famille des lamiacées compte plus de 150 espèces de plantes herbacées annuelles. Parmi lesquelles figurent : [45].

- Le basilic citron (*Ocimum Canum* L.)
- Le basilic Ceylan (*Ocimum gratissimum*)
- Le basilic sacré (*Ocimum sanctum* L.)
- Le plus connu le basilic commun (*Ocimum basilicum* L.)

La classification de la plante " *Ocimum basilicum* L. " dans le systématique est donnée dans le tableau suivant [46]:

Tableau II.1 : Classification et systématique d'*Ocimum Basilicum L.*

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Embranchement</b>	Spermaphyte ( phanérogame )
<b>Division</b>	Magnoliophta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Ocimum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Ocimum basilicum L.</i>

### II.3.5 Noms et synonymes d'*Ocimum basilicum L.* :

Tableau II.2 : les noms et les synonymes d'*Ocimum basilicum L* [44].

<b>Nom scientifiques</b>	<i>Ocimum basilicum L.</i>
<b>Synonyme</b>	- <i>Ocimum basilicum</i> var. <i>glabratum</i> benth, - <i>Ocimum basilicum</i> var. <i>majus</i> benth
<b>Noms vernaculaire</b>	- Lahbeq - Habeq - Hamahim - Rehan
<b>Autres noms</b>	-Basilic -Basilic commun -Basilic officinal -Basilic de jardin -Herbe aux sauces -Pisto ou pesto (en Italie) -Reyhan (en Turki)

**II.3.6 L'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* L.**

La composition et le contenu de l'huile de basilic varient largement avec les cultivars, les régions géographiques, les tissus, les stades de croissance, la régulation de la croissance, les conditions de culture, la fertilisation et l'amendement du sol et les conditions de récolte. Le rendement en huile de basilic était d'environ 0,1-0,7% [47].

Les composants majoritaires de l'huile de basilic comprennent le linalol, l'estragole(méthyl chavicol), l'anéthole, l'eugénol et le méthylegénol [40,47]

**II.4 Espèce *Rosmarinus officinalis* L.:**

Le nom latin *Rosmarinus* est interprété, comme dérivé de "ros" rosée et "marinus" appartenant à la mer autrement rosée marin, ce qui fait référence à la présence du romarin sur les côtes et les îles de la Méditerranée [48]. Le *Rosmarinus officinalis* L. est une plante aromatique et médicinale originaire du bassin méditerranéen. Il fait partie des espèces végétales des écosystèmes terrestres qui se présentent à l'état sauvage dans les zones littorales près de la mer, dans les milieux continentaux au climat semi humide, sec et arides. On le reconnaît aisément, toute l'année [1,49].

Le romarin a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. Il possède des propriétés anti-inflammatoires et antispasmodiques et une action sur le système nerveux . Le romarin, comme toutes les plantes aromatiques et médicinales, contient des composés chimiques ayant des propriétés antibactériennes. [15].



**Figure II.3 :** Le *Rosmarinus officinalis* L [photo personnelle].

#### **II.4.1 Historique de *Rosmarinus officinalis* L :**

Le romarin, chargé de symboles chez les Anciens qui en faisait des couronnes, a servi à l'élaboration d'un remède longtemps réputé, « l'Eau de la reine de Hongrie » qui en fait est un alcoolat : à l'aide de ce remède, la souveraine, âgée de 72 ans, guérit des rhumatismes et de la podagre. Les médecins arabes utilisaient beaucoup le romarin et ce sont eux qui réussirent les premiers à en extraire l'huile essentielle [50].

#### **II.4.2 Genre *Rosmarinus* :**

Le genre *Rosmarinus* fait partie de la famille des Lamiacée, et ne regroupe que trois espèces[51] :

- *Rosmarinus officinalis* Linné, de loin l'espèce la plus aromatique et importante.
- *Rosmarinus eriocalix* Jord. & Fourr.
- *Rosmarinus tomentosus* Huber-Morath et Maire, morphologiquement très proche de *R. eriocalyx*.

#### **II.4.3 Distribution géographique :**

Le Romarin, plante commune à l'état sauvage, est, sans doute, l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on le trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante. Plante indigène poussant spontanément, le *Rosmarinus officinalis* L est originaire du bassin méditerranéen Commun dans les maquis, les garrigues et les forêts claires, il est

subspontané en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec [52,53].

#### II.4.4 Description botanique du *Rosmarinus officinalis L.*

Le romarin est un arbuste aromatique toujours vert pouvant atteindre jusqu'à 1,50 mètre de hauteur, voire jusqu'à 2 mètres en culture. La tige est ligneuse et carrée. Les feuilles sessiles et opposées, sont persistantes et vivaces. Elles sont enroulées sur les bords, vertes à la face supérieure, velues et blanchâtres à la face inférieure dont elle est parcourue par une nervure médiane [54]. Elles possèdent des poils sécréteurs qui lui confèrent une odeur aromatique spécifique.



**Figure II.4 :** Les Feuilles de *Rosmarinus officinalis L* [55].

Les fleurs de couleur bleu lavande à blanche sont disposées en courtes grappes à l'aisselle des feuilles, sur la partie supérieure des rameaux, la floraison a lieu presque toute l'année, [54].



**Figure II.5 :** Les fleurs de *Rosmarinus officinalis L* [55].

#### II.4.5 Classification de *Rosmarinus Officinalis L* :

La classification de la plante " *Rosmarinus Officinalis L.* " dans la systématique est donnée dans le tableau suivant [56].

**Tableau II.3** : Classification de *Rosmarinus Officinalis L*

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Classe</b>	Décotylédone
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	lamiaceae (labiées)
<b>Sous-famille</b>	Nepetoideae
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i>

**Noms vernaculaires** : Cette plante communément appelé "El-Halhali", et a connue par les noms communs suivants : Iklil Al Jabal, Klil, Hatssalouban, Hassalban, Lazir, Azîr, Ouzbir, Aklel, Touzala [57].

#### II.4.6 L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* :

Le romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires [58].

D'autre part l'huile essentielle de romarin a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutique et agro-alimentaire. Il possède d'excellentes propriétés antioxydantes dues à certains composés ; Diverses compositions ont été décrites en fonction des constituants majoritaires, à savoir : cinéole supérieur à 40% (Maroc, Tunisie, Turquie, Grèce, Yougoslavie, Italie, France),  $\alpha$ -pinène, 1,8-cinéole et camphre en proportions voisines

## Chapitre II : *Aspect botanique des espèces végétales étudiées*

---

(Espagne, France, Italie, Grèce, Bulgarie), myrcène à une teneur élevée de (Espagne, Portugal, Argentine) [59].

*PARTIE II :*  
PARTIE II :

*Partie Expérimentale*  
PARTIE EXPERIMENTALE

**Chapitre III :**  
**OBJETIF III :**

***Matériels et Méthodes***  
**INTRODUCTION**

**III.1 Introduction**

Le présent travail consiste premièrement à la détermination de la composition chimique et les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles issues de deux espèces végétales la famille des Lamiacées de la région de Ghardaia.

Deuxièmement ce travail est consacré à effectuer le screening des propriétés antiradicalaires et antibactériennes de ces huiles. Nos résultats sont comparés avec ceux de la littérature.

Dans ce chapitre qui décompose en trois parties principales, nous avons présenté les matériels et les différentes techniques expérimentales utilisés dans ce travail :

- La première partie, est consacrée à présenter la méthode de l'extraction des huiles essentielles, l'analyse physico-chimiques de ces dernières et la caractérisation par la méthode chromatographique en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (GC/MS) des huiles essentielles extraites.
- La deuxième partie présente les protocoles des tests biologiques notamment l'activité antiradicalaire et antibactérienne.
- Finalement la troisième partie est consacrée à tester la méthode de l'encapsulation de l'huile essentielle.

Les différentes étapes de ce travail ont été réalisées au laboratoire de génie des procédés GP4 de la faculté des sciences et technologies et au laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa. La détermination de la composition des huiles essentielles a été effectuée au laboratoire de recherche de génie des procédés de la faculté des sciences appliquées de l'université de Ouargla. Concernant l'activité antibactérienne a été réalisée au laboratoire d'analyse médicales Essalam Ghardaia .

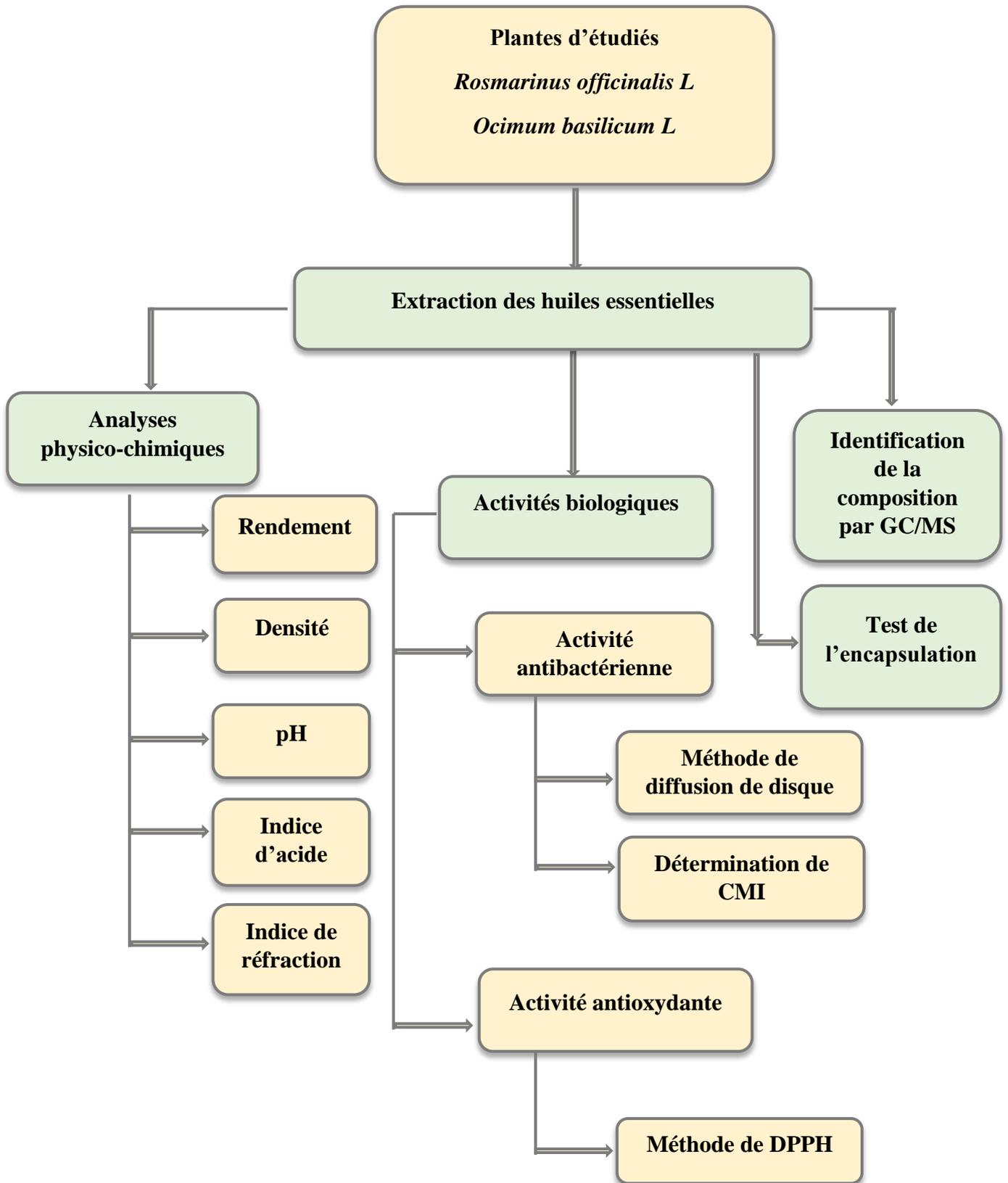


Figure III.1 : l'organigramme de la partie expérimentale

### III.2 Préparation du matériel végétal :

Notre étude porte sur la partie aérienne de *Ocimum basilicum* L qui a été récolté de la région de Ghardaïa, et sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis* L qui ont été collectées d'un herbier existe au faculté de sciences et technologies de l'université de Ghardaïa, au mois de Novembre 2021 .

Le matériel végétal aromatique a été nettoyé, séché à une température ambiante à l'abri du soleil.

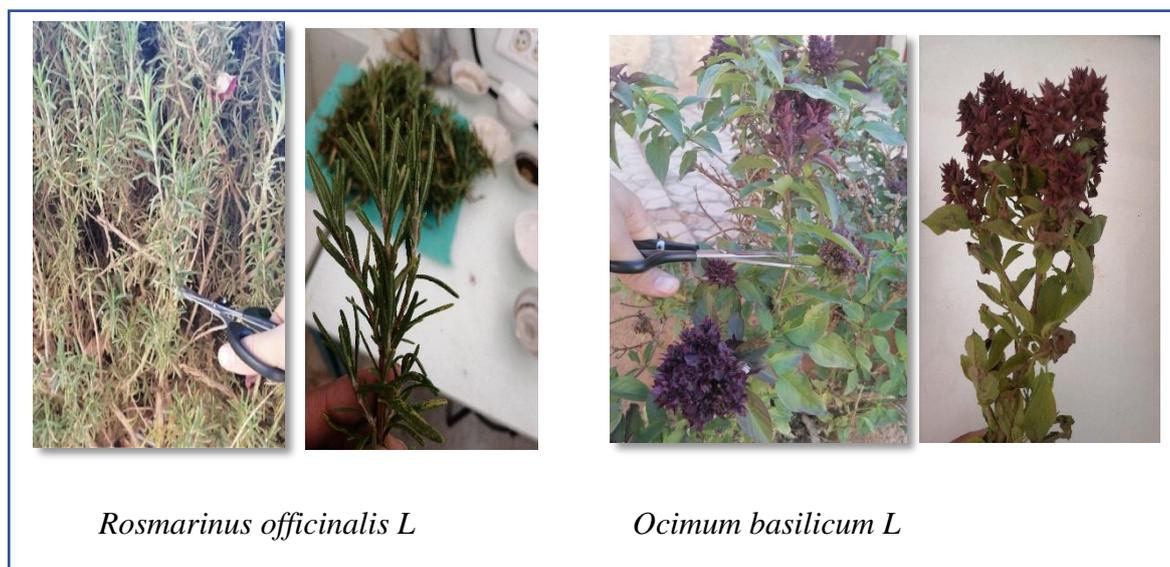


Figure III.2 : Photographie des plantes étudiées.

### III.3 Extraction des huiles essentielles :

Nous avons vu précédemment que les huiles essentielles sont extraites par diverses techniques; la plus simple et la plus courante étant l'hydrodistillation. C'est cette méthode que nous avons utilisée pour l'obtention de nos essences.

L'extraction est réalisée par à un montage de type Clevenger composé d'une chauffe ballon, un ballon de capacité de 1L, d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et une ampoule à décanter qui reçoit les extraits de la distillation. L'opération consiste à immerger une masse échantillon végétale avec une quantité d'eau distillée correspondant à 2/3 du volume du ballon. Le ballon avec son contenu a été mis sur le chauffe-ballon, qui est optimisé à une température qui correspond à un débit optimal. Les HEs entraînées par les

vapeurs d'eau générées dans le ballon sont dirigées vers le coude qui relie le ballon avec le réfrigérant.

Une fois les vapeurs arrivées dans le réfrigérant, elles se condensent rapidement et se descendent dans l'ampoule à décantation qui permet la séparation immédiate de l'HEs par la différence de sa densité avec celle de l'eau.

Après deux heures d'extraction, l'HEs a été recueillie dans un petit et pour éliminer toute trace d'eau, nous séchons le produit avec une aliquote de Sulfate de magnésium anhydre. Le sulfate de magnésium anhydre a la capacité d'absorber l'humidité et d'éliminer toute la quantité d'eau. Les échantillons des huiles essentielles sont conservés à l'abri de l'air et de la lumière à une température de 4°C.

### **III.4 Caractérisation des huiles essentielles :**

La caractérisation d'une huile essentielle consiste à :

- Vérifier ses caractéristiques organoleptiques.
- Déterminer ses indices physico-chimique (Rendement, densité, indice de réfraction, indice d'acide ; pH).

#### **III.4.1 Caractéristiques organoleptiques :**

Les propriétés organoleptiques des HEs de Basilic et de Romarin ont été analysées par une évaluation sensorielle suivant la couleur ; l'odeur et l'aspect.

#### **III.4.2 Caractéristiques physico-chimique :**

Les constantes physico-chimiques des HEs de Basilic et de Romarin ont été déterminées selon les normes AFNOR sur les huiles essentielles.

##### **III.4.2.1 Détermination des rendements en huiles essentielles :**

Le rendement en HEs est estimé par le rapport des masses de l'HEs et de la matière végétale utilisée [59]. Le rendement est exprimé en pourcentage. Sa valeur est donnée par l'équation suivante :

$$R(\%) = \frac{M_e}{M_0} \times 100$$

**R** : Rendement de l'HEs en %.

**M<sub>e</sub>** : Quantité d'extraits récupérée en g.

**M<sub>0</sub>** : Quantité de la matière végétale utilisée pour l'extraction exprimée en g.

### III.4.2.2 Indice de réfraction (norme NF T 75 – 112):

Les indices de réfraction sont mesurés à l'aide d'un réfractomètre (NAR-2T) à la température ambiante puis ramenés à 20°C par la formule suivante [60]:

$$[n]_D^t = n_D^{t'} + 0.00045(t' - t)$$

Avec :

**n<sub>D</sub>t** : indice réfraction de référence

**n<sub>D</sub>t'** : indice de référence à la température de mesure.

**t'** : température au moment de mesure.

**t** : température de référence (20°C)

### III.4.2.3 Indice d'acide :

Ce paramètre est une variable qui dépend essentiellement des conditions de conservation et surtout des conditions d'extraction. Il est défini comme étant le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huiles essentielles. La mesure d'indice acide est réalisée par titrage où les acides libres sont neutralisés par une solution d'Ethanol titrée de KOH selon la norme **AFNOR - NFT - 60 -2000** [60].

#### a) Matériels et produits

**Tableau III.1** : Produits et matériels utilisée dans l'analyse de l'indice d'acide

Matériels	Produits
-Montage de titrage	-les huiles essentielles ; - Phénolphtaléine. - éthanol ; - KOH ;

**b) Mode opératoire :**

On introduire 1g d'huile essentielle dans une fiole e on ajoute 10 ml d'éthanol. Après on fait l'agitation et le titrage avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium titrée ( (KOH) = 0.1 N ). En utilisant la phénolphthaléine comme indicateur coloré. La couleur jaune clair du liquide (la couleur de l'huile essentielle) vers une couleur rose. Noter le volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé.

L'indice d'acide est exprimé en mg de KOH par g d'huile par la formule suivante :

$$I_A = \frac{(56,11 \times N \times V)}{m}$$

**N** : normalité de KOH.

**V** : Volume en ml de la solution éthanolique de KOH utilisée pour le titrage.

**m** : Masse en g de l'huile essentielle.

**III.4.2.4 La Densité :**

La densité est le rapport de la masse volumique d'un liquide à celle de l'eau. La densité est mesurée selon la norme (NF T 75 - 111) à l'aide d'un densimètre à la température ambiante puis ramenés à 20°C par la formule suivante [60] :

$$D_{20} = D_{t'} + 0.00068 (t' - t)$$

Avec :

**D<sub>20</sub>** : densité à 20°C .

**D<sub>t'</sub>** : densité à la température de mesure.

**t'** : température au moment de mesure.

**t** : température de référence (20°C)

**III.4.2.5 Mesure de pH :**

L'abréviation de potentiel hydrogène mesure l'activité chimique des ions hydrogène  $H^+$  en solution. Cette mesure est effectuée par un *pH*-mètre.

**III.4.3 Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par GC/MS :**

La chromatographie en phase gazeuse est une technique d'analyse permettant de séparer les différentes molécules d'un mélange. Elle s'applique principalement aux composés thermorésistants et susceptibles de se vaporiser par chauffage sans se décomposer. Ces molécules sont séparées en fonction de leur température de volatilisation et de leur affinité pour la phase stationnaire. Le type de colonne, le débit du gaz vecteur ainsi que la température du four sont des paramètres qui peuvent être modifiés et optimisés afin d'avoir une bonne résolution des pics. A cause de la volatilité de ses constituants, les huiles essentielles seront particulièrement adaptées pour les séparations en phase gazeuse.

L'analyse des huiles essentielles des plantes étudiées a été réalisée au Laboratoire de recherche de Génie des Procédés de l'Université Kasdi Merbah Ouargla. L'appareil utilisé est un adopté est un ***Bruker SCION 436 GC*** couplé à un détecteur de type spectrométrie de masse à tension d'ionisation quadripolaire de 70 *ev*.

Le mode d'injection « split » est utilisé ; l'échantillon est introduit dans une chambre d'injection chauffée en fonction des molécules qui doivent être séparées. Le volume d'injection dépend du mode utilisé et dans ce cas-ci, 1  $\mu$ L d'huile essentielle pure est injectée. La colonne utilisée est de type P-5MS; 5% Phenyl Methyl Siloxane (30m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). Le gaz vecteur utilisé est l'hélium avec un débit de 1,5 *ml / min* Et la température est programmée : de 50 °C à 280 °C à une vitesse de 10 °C / *min* ;

Les indices de rétention linéaire (RI) pour tous les composés ont été déterminés en utilisant des n-alcanes comme étalons. L'identification des composés individuels a été réalisée en faisant correspondre leurs modèles de fragmentation spectrale de masse avec les données correspondantes disponibles (bibliothèque Wiley 275 (6ème édition)).

**III.5 Activités biologique :****III.5.1 Activité antioxydante :****III.5.1.1 Méthode de DPPH :**

L'activité anti-radicalaire a été évaluée en utilisant le DPPH, qui fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante [61].

Le DPPH<sup>\*</sup> (2,2 –diphényl -1- picrylhydrazyl) est un radical libre stable possédant un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Cette délocalisation empêche la polymérisation du composé, qui reste sous forme monomère relativement stable à température ambiante. Ainsi, cet état induit l'apparition d'une couleur violet foncé bien caractéristique de la solution DPPH.

Cette couleur disparaît en présence d'antioxydant lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle du groupe picryl ; et l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Le suivi de la délocalisation est réalisé par spectrophotométrie à 517nm [62 , 63].

**a) Matériels et produits****Tableau III.2 :** Produits et matériels utilisée dans l'activité antioxydante

Matériels	Produits
<ul style="list-style-type: none"> <li>- balance électrique ;</li> <li>- Micro-seringue ;</li> <li>- vortex ;</li> <li>- UV. Visible (UVILINE 9400C).</li> <li>- tubes à essais ;</li> <li>- fiole ;</li> <li>- Spatule .</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- huile essentielle ;</li> <li>- éthanol ;</li> <li>- <i>DPPH</i> .</li> </ul>

**b) Mode opératoire :**

- Une solution de *DPPH* 0,1mM est préparée en dissolvant 2 mg de *DPPH* dans 50 ml d'éthanol.
- Une série des dilutions des huiles essentielles est préparée par l'éthanol.

- Des mélanges de 1 ml de solution de *DPPH* avec 1 ml d'huile essentielle de chaque plante à différentes concentrations sont préparés.
- Après 30 minutes de l'incubation à l'obscurité à la température ambiante. Une lecture de l'absorbance à 517 nm par un spectrophotomètre UV vis (UVILINE 9400C) ; est effectuée.
- un mélange de 1 ml de la solution de *DPPH* et de 1 ml d'éthanol est pris comme témoin.

Le taux réduit du *DPPH* par ces molécules est exprimé en pourcentage suivant la formule suivante :

$$I\% = \left( \frac{A_0 - A_e}{A_0} \right) \times 100$$

Avec :

**A<sub>0</sub>**: Absorbance du témoin.

**A<sub>e</sub>**: Absorbance de l'échantillon.

A titre d'indication, l'acide ascorbique comme standard connu pour son effet anti-radicalaire a été testé en parallèle. Quant aux concentrations inhibitrices (IC<sub>50</sub>), elles sont calculées à partir des courbes de régression linéaire.

### **III.5.2 Activité antibactérienne :**

L'évaluation de l'effet antibactérien de huiles essentielles est testée par la méthode de la diffusion sur gélose selon les recommandations NCCLS [64]. La méthode des disques est une méthode de diffusion des produits à tester à partir d'un disque de papier (whatman N°3) qui permet de mesurer qualitativement la sensibilité des souches aux effets antimicrobiens. La méthode des disques est choisie dans cette étude pour sa fiabilité et sa simplicité. Cette méthode nous fournit des résultats préliminaires sur la sensibilité des souches et les activités antibactériennes du produit, grâce aux diamètres des zones d'inhibition apparaissant autour des disques mesurés en millimètres.

## a) Matériels et produits :

Tableau III.3 : Produits et matériels utilisée dans l'activité antibactérienne

Matériels	Produits
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Boites pétries ;</li> <li>- Ecouvillon ;</li> <li>- Autoclave ;</li> <li>- Disque de papier whatman ;</li> <li>- Pince ;</li> <li>- Bec bunsen ;</li> <li>- tubes à essai ;</li> <li>- hotte microbiologique ;</li> <li>- vortex .</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-huile essentielle ;</li> <li>-les souches bactériennes ;</li> <li>-Milieu Mueller Hinton ;</li> <li>-Eau physiologique .</li> </ul>

## III.5.2.1 Souches bactériennes utilisées :

Le matériel microbiologique est constitué de six souches bactériennes du Gram positifs et du Gram négatif. Elles proviennent du laboratoire de microbiologie de l'Université de Ghardaïa. Ces bactéries sont :

- *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 G (+)
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 G (+)
- *Bacillus spizizenii* ATTC 6633 G (+)
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633 G (+)
- *Escherichia coli* ATCC 8739 G (-)
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 7029 G (-)

## III.5.2.2 Méthode de diffusion sur gélose

## 1- Préparation de l'inoculum :

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage à la surface de la gélose Mueller Hinton pré coulée en boîte Petri ensuite incubée à 37°C pendant 24h.

## 2- Préparation des disques :

Des disques de papier Wattman de 6mm de diamètre sont stérilisés par une Lampes de stérilisation à l'UV pendant 10min.

## 3- Préparation des boîtes de gélose et le dépôt des disques :

Après incubation à 37°C pendant une nuit, quelques colonies bien isolées sont transférées dans une solution saline dans un tube à essai. La suspension bactérienne est ajustée.

Après l'ajustement, un écouvillonnage est réalisé et la surface bactérienne est laissée sécher pendant au moins 30 min. Les disques imprégnés dans l'huile essentielle sont placés sur le tapis bactérien à l'aide d'une pince stérile en appliquant une légère pression sur l'agar.

Le contrôle positif utilisé est des agents antibactériens standards tel que l'ampicilline (10 µg / disque) et du solvant (DMSO) comme témoin négatif pour toutes les souches. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

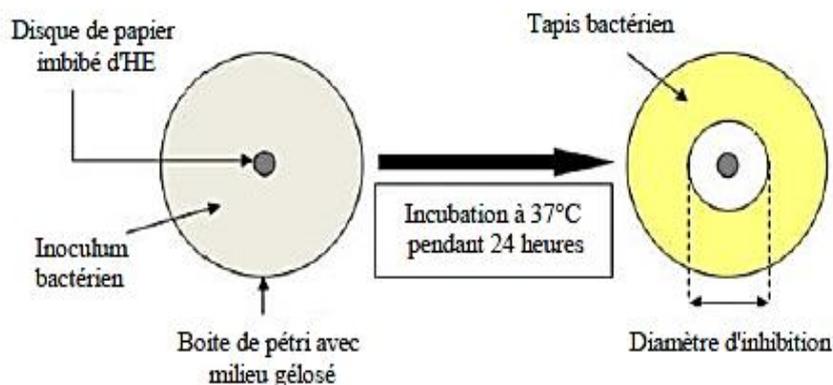


Figure III.3 : Principe de la méthode de diffusion sur disques[40].

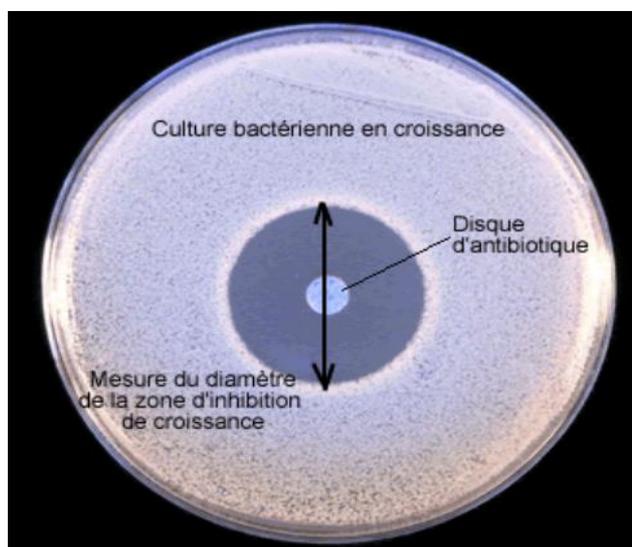
### III.5.2.3 Principe de l'antibiogramme :

Le principe du test de l'antibiogramme consiste à tester la sensibilité des souches bactériennes par utiliser des disques en papier buvard imprégnés d'une concentration fixe d'antibiotique. Ces disques sont déposés à la surface d'une gélose inoculée par une suspension bactérienne contenant une quantité fixe de bactéries (inoculum bactérien). Après une incubation à 37° pendant 24 heures, il s'établit un gradient de concentration entre la

culture bactérienne et la diffusion du disque et qui s'exprime par un diamètre d'inhibition de la culture. La concentration d'antibiotique en bordure de la zone d'inhibition correspond à la CMI de l'antibiotique pour la souche étudiée. Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré en mm [65].

**Tableau III.4 :** Valeurs critiques des zones d'inhibition des antibiotiques [ 66 ].

Antibiotique testés	Sigle de disque	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)	
			Sensibles	Résistants
Ciprofloxacine	CIP	5µg	>21	< 15
Amikacine	AK	30µg	≥ 17	< 14
Lévofloxacine	LE	5µg	>21	< 15
Ampicilline	AMP	10µg	≥ 17	< 13
Amoxicilline	AMC	10µg	≥ 18	< 13
Clindamycine	CD	2µg	>21	< 14



**Figure III.4 :** Tests de antibiogramme [ 67 ].

#### III.5.2.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en extrait pour laquelle, aucune croissance visible à l'œil nu n'est observée [68]. Principe du test consiste à effectuer les étapes de la détermination du pouvoir antibactérien de nos huiles (la méthode de diffusion

sur gélose Mueller–Hinton) où les huiles essentielles sont diluées dans le DMSO (Dimethyl sulfoxyde) afin d’obtenir une gamme de concentration de 1– 0,6 µl d’HE/ml de DMSO.

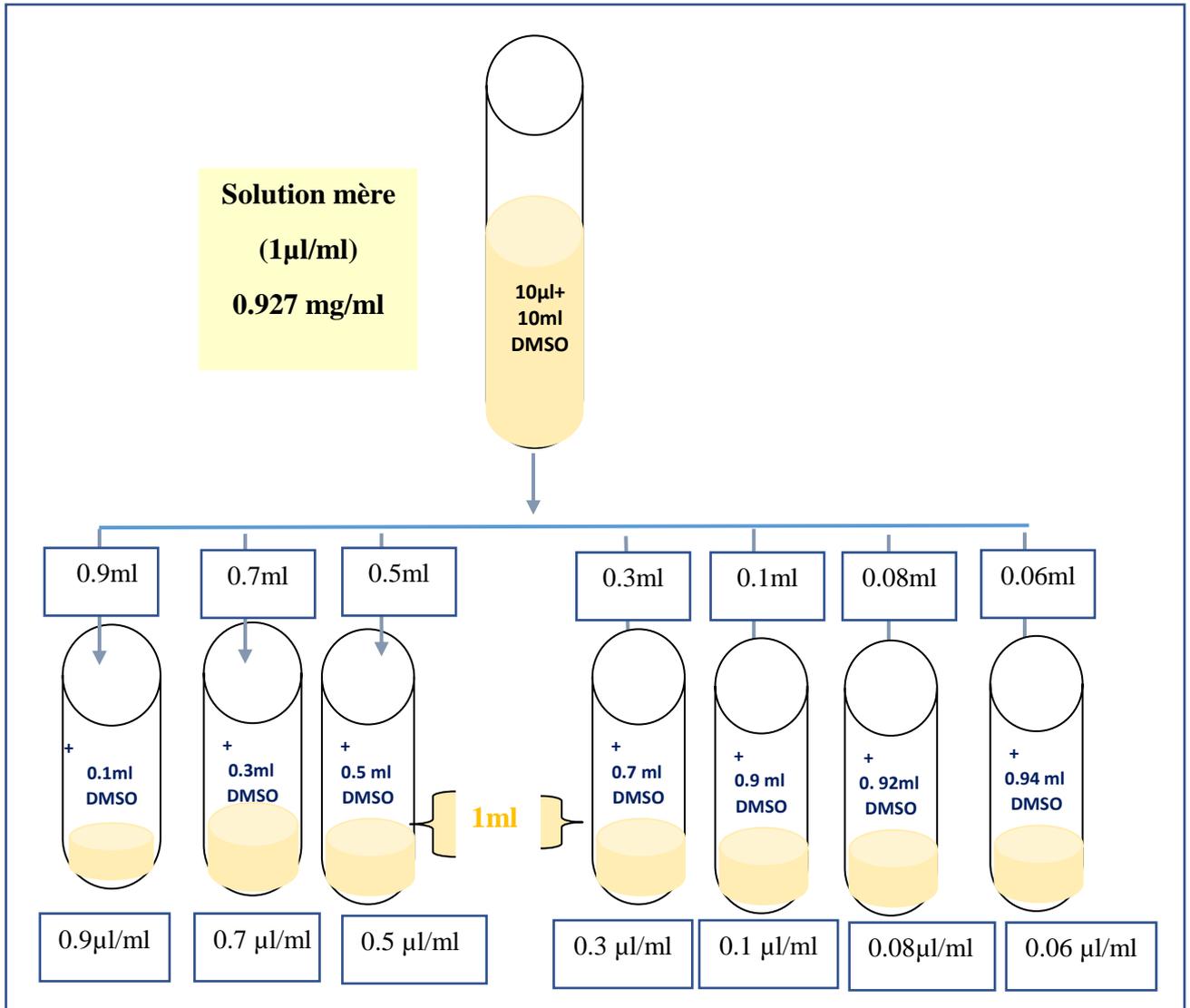


Figure III.5 : Réalisation de la gamme de dilution des huiles essentielles

### III.6 Essai de l’encapsulation des HEs par gélification d’alginate de sodium

Cette partie d’étude ou exactement l’essai de l’encapsulation a été réalisée, selon les travaux de **Lorine Le Priol 2019** [38] avec quelques modifications.

### III.6.1 Matériels

#### 1- Matières actives

L'huile essentielle de Romarin a été sélectionnée comme matière active principale à la fois pour les travaux de d'encapsulation par gélification d'alginate.

#### 2- Matières enrobantes

Le polysaccharide l'alginate de sodium a été utilisé en tant de matières enrobantes pour cette étude. Leurs caractéristiques sont présentées dans le **Tableau III-5**.

**Tableau III-5** : Caractéristiques de polysaccharide utilisé comme matières enrobantes

Polysaccharide	Caractéristique	Origine	Apparence	Solubilité	Toxicité
Sel d'alginate de sodium	Faible viscosité	Algues brunes	Poudre de couleur beige inodore	Soluble dans les phases polaires	Non toxique

#### 3- Solvants et réactifs

De l'eau distillée a été utilisée pour réaliser toutes les formulations. Concernant la sphérification par gélification d'alginate de sodium, toutes les réticulations calciques ont été réalisées en présence de la solution de chlorure de calcium  $\text{CaCl}_2$  en éthanol.

#### 4- Appareillages et verreries

Agitateur ; Béchers ; barreau magnétique ; vortex ; seringue

### III.6.2 Production de billes par gélification inverse

La production des billes selon cette technique nécessite une préparation en deux étapes principales[38].

➤ La première étape consiste à préparer les différentes solutions nécessaires au processus de gélification. Pour cela, une solution d'alginate de sodium à 2,5% w/v est préparée par dissolution des sels d'acide alginique dans l'eau distillée à 500 rpm à température ambiante durant une nuit. Cette solution servira de bain réticulant. La préparation de la solution comprenant l'huile et les ions  $\text{Ca}^{2+}$  nécessite tout d'abord de dissoudre le chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) dans de l'éthanol absolu à une concentration de 18% w/v, afin de se rapprocher de la

solubilité maximale (25,8% w/v à 20 °C). Cette solution est agitée à 600 rpm durant 6 h. Une fois la solubilisation terminée, 400 µl sont prélevés et ajoutés à 4,6 ml d'HE de romarin. Ce mélange est ensuite homogénéisé au vortex durant 5 min.

➤ La deuxième étape concerne la production des billes. Pour cela, l'huile enrichie en CaCl<sub>2</sub> est amenée dans une seringue.

L'aiguille de cette est plongée dans la solution d'alginate de sodium et son extrémité est placée à proximité du barreau magnétique afin de faciliter le détachement des gouttes lors de l'extrusion et de limiter le colmatage des billes nouvellement formées. Ces billes sont ensuite agitées dans le bain réticulant durant 5 min à 250 rpm puis rincées à l'eau distillée

**Chapitre IV :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION :**

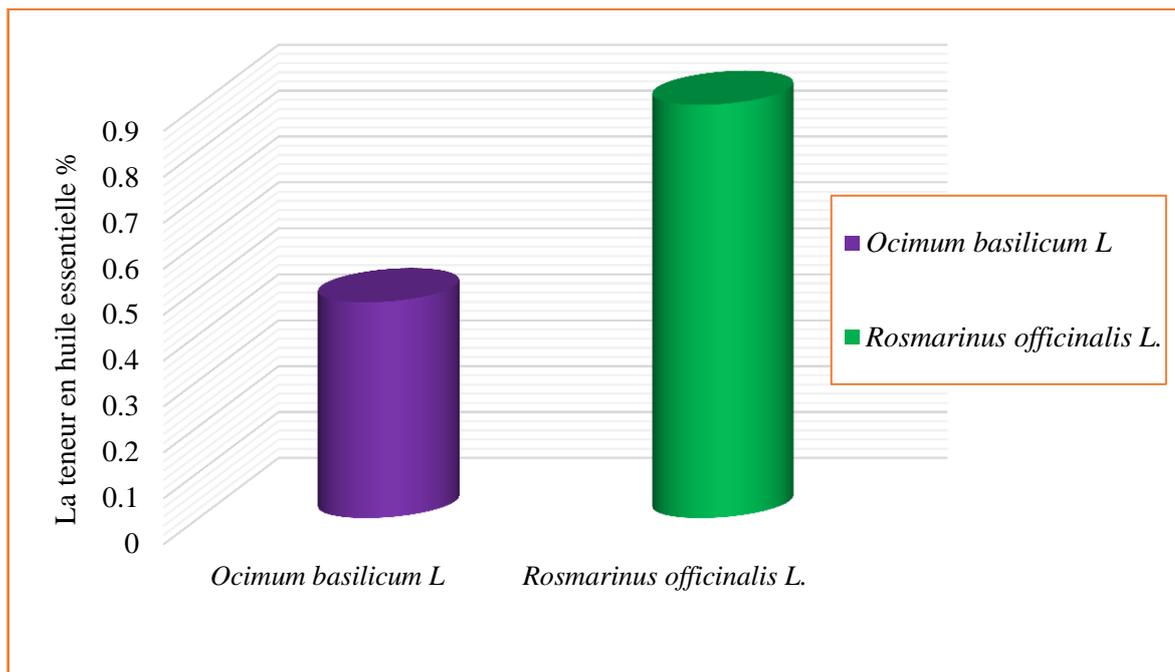
***Résultats et Discussion***  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

## IV. Résultats et discussion

### IV.1 Les analyses physico-chimiques :

#### IV.1.1 La détermination de rendement d'extraction :

La teneur en huile essentielle, obtenue à partir des parties aériennes (feuilles + fleurs) d'*Ocimum basilicum L.* est de 0.47% et celle de *Rosmarinus officinalis L.* égale à 0.83%. comme cela est montré dans la figure donnée ci-dessous:



**Figure IV.1:** Rendements en huiles essentielles de basilic et de romarin

*Rosmarinus officinalis L.* qui est cultivé à l'université de Ghardaia ; présente le rendement le plus élevé (0,83 %) en comparaison avec *Ocimum basilicum L.* Aussi si on compare cette valeur avec la même espèce d'une autre région ; tel que celle de **Atik Bekkara et al** [69] ; et **OUIBRAHIM Amira** [17], ont obtenu une teneur en huile essentielle respectivement de 0,6% pour le Romarin cultivé à Tlemcen, et 0.36% pour le Romarin de région EL TAREF ; ce qui confirme que la région d'origine influence fortement sur la production de l'huile d'une plante aromatique. **HENNICHE Houda** [7] a été réalisée une extraction par hydrodistillation assistée par micro-ondes. Où la teneur en huile essentielle de romarin qui a été obtenue égale à 0.80 %

En outre, *Ocimum basilicum L* a présenté un rendement très proche de celui obtenu par Mohammed CHENNI [40] de 0,48% .

Abdoul Dorosso SAMATE [70] a obtenu une teneur en huile essentielle des feuilles et de feuilles + fleurs d'*Ocimum basilicum L*. du Burkina Faso de 1,3 % et 0.3% respectivement.

Donc on peut noter que la variabilité de la teneur en huile essentielle est en fonction de la plante utilisée, la méthode d'extraction, et l'origine de la plante ; aussi bien le matériel employé pour l'extraction [71] .

#### IV.1.2 La détermination des constant physico-chimiques :

Les constantes physico-chimiques des HEs, extraites par HD, ont été déterminées selon les normes AFNOR sur les huiles essentielles. Les résultats de la mesure des propriétés physico-chimiques sont regroupés dans le tableau IV.1

**Tableau IV.1:** Caractéristique physico-chimique des huiles essentielles.

Caractère Physico-chimique	<i>Ocimum basilicum L</i>	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	Norme AFNOR [71] [60] .
La densité relative à 20°C	0.927	0.926	Norme NF T 75 - 111
Le pH	5	5.35	5 - 6.5
Indice de réfraction	1.474	1.464	Norme NF T 75– 112
Indice d'acidité	2.244	1.123	Norme NFT-60 -2000

Selon le tableau IV.1 la densité relative à 20 °C est entre 0.927 et 0.926 de nos huiles essentielles d'*Ocimum basilicum L* et *Rosmarinus officinalis L* respectivement, donc la densité des 2 HEs est presque identique. Les résultats obtenus montrent que sont comparables à ceux révélés dans la littérature et conformes à la norme AFNOR [60][40] .

L'indice d'acide et le pH sont des caractères indiquent la qualité d'huile essentielle ; la valeur de l'indice d'acidité de HEs de basilic est égale à 2.244 et de 1.123 pour *Rosmarinus officinalis L*. Ces résultats se retrouvent dans les fourchettes des références établies par les normes.

Pour rendre l'identification des HEs un peu suffisante, il faut déterminer l'indice de réfraction, qui dépend de la composition chimique, où il augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acides, de leurs degrés d'insaturation et de la température, il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé [71]. L'indice de réfraction de l'HE de basilic est de 1.474 ; et de 1.464 pour l'HE de romarin ; ces résultats sont similaires à celles qui sont publiées par **Mohammed CHENNI** [40].

## IV.2 Caractères Organoleptiques :

Les huiles essentielles des plantes étudiées sont très aromatiques. Les caractères organoleptiques de ces deux espèces végétales sont reportés dans le tableau suivant :

**Tableau IV.2** : Caractéristiques organoleptiques des HEs d' *Ocimum basilicum L* et de *Rosmarinus officinalis L*.

Plantes	Couleur	Odeur	Aspect
<i>Ocimum basilicum L</i>	Jaune claire	Forte agréable	Liquide mobile
<i>Rosmarinus officinalis L</i>	Jaune Foncé	Forte	Liquide mobile

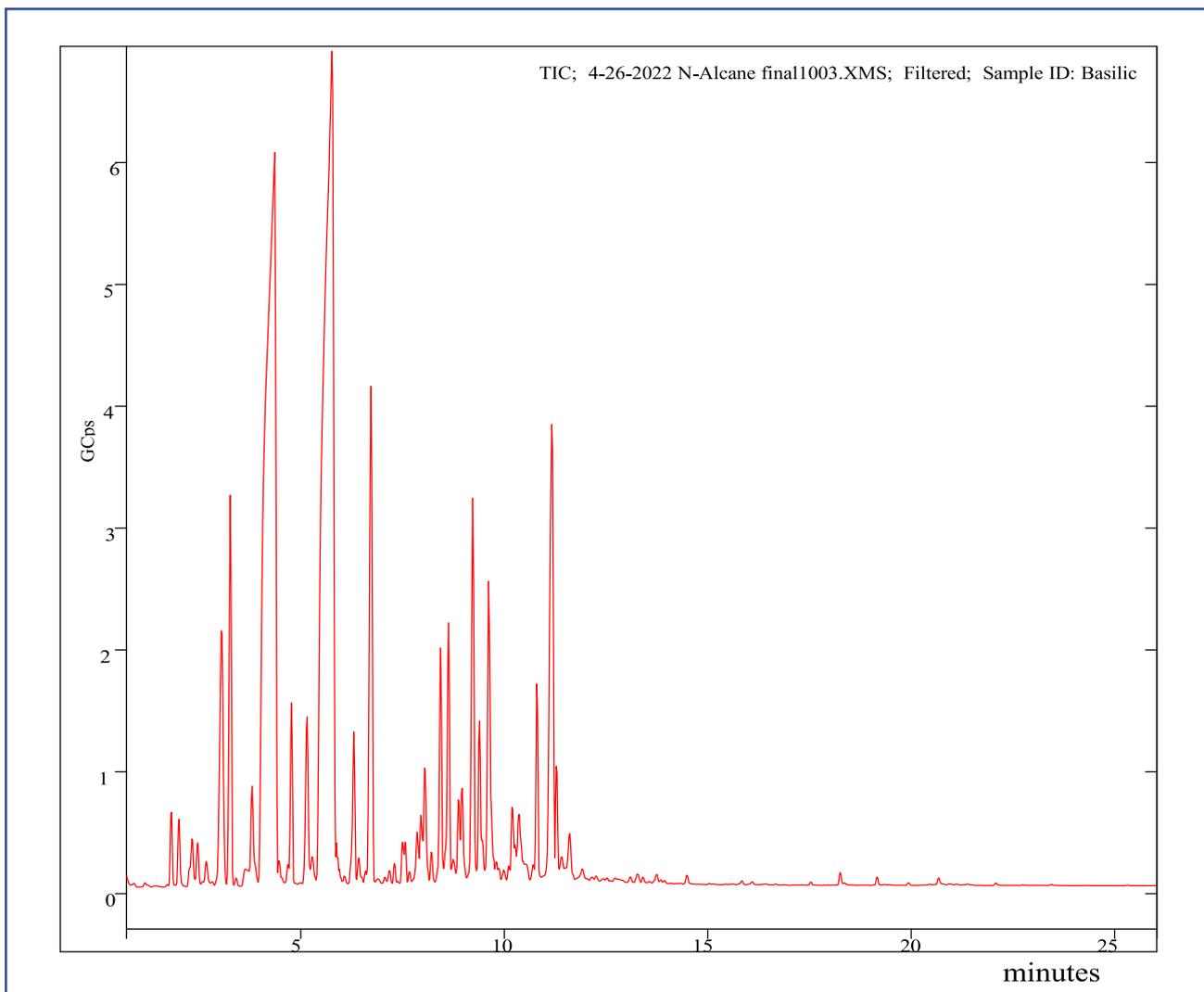
D'après l'association française de normalisation (AFNOR, 2000) [60]. Les huiles essentielles sont souvent des liquides plus ou moins colorées ; volatiles à température ambiante. Les huiles essentielles de romarin et de basilic ont une odeur forte et elles sont liquides et d'une couleur jaune claire à jaune foncé.

## IV.3 L'analyse de composition chimique des huiles essentielles

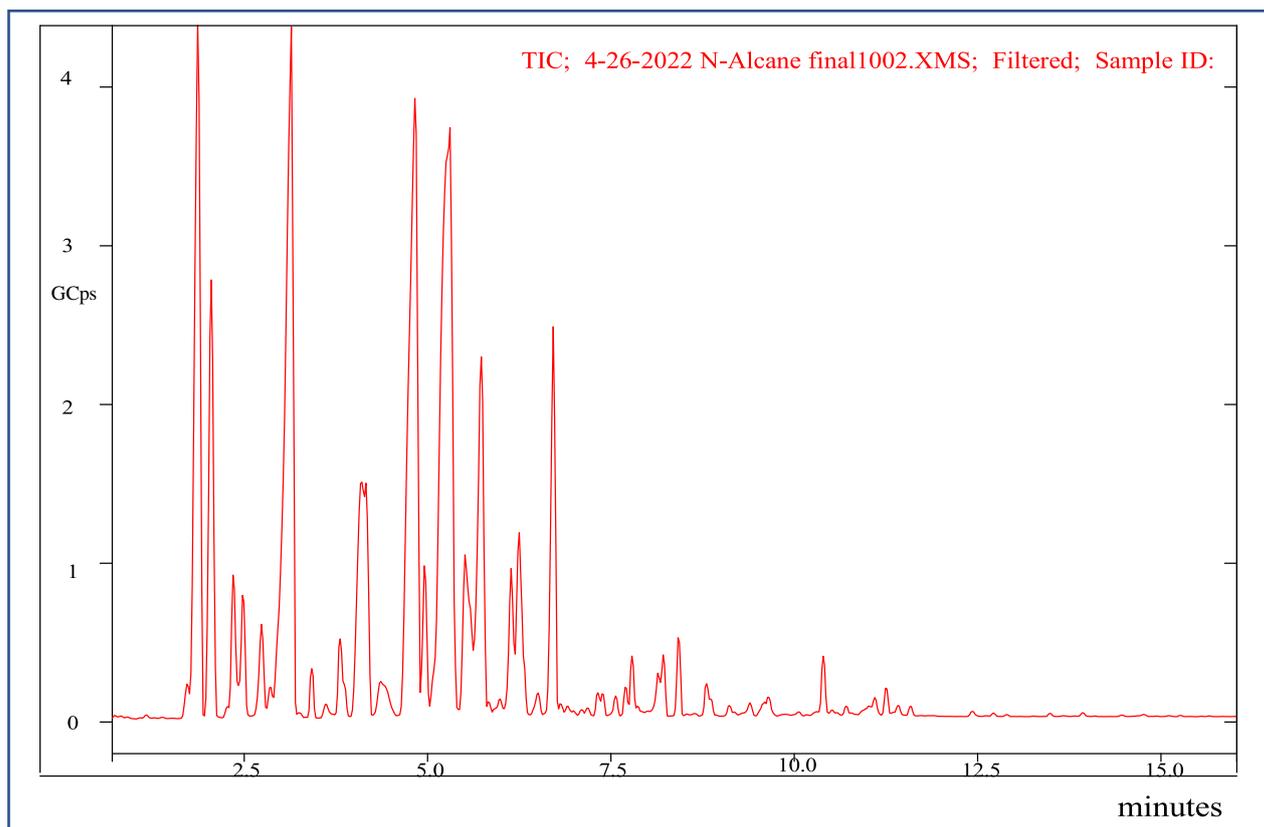
La détermination des propriétés physico-chimiques (densité, indice d'acide, indice de réfraction...) est une étape primordiale mais non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Il est donc nécessaire de la compléter par des analyses chromatographiques : GC/SM, ces dernières, sont souvent utilisées comme moyen analytique complémentaire pour l'analyse structurale des substances volatiles, elles ont été employées pour identifier qualitativement les huiles essentielles des plantes [40].

La caractérisation des huiles essentielles a été réalisée par GC/MS. nous a donné du chromatogramme à plusieurs pic ; chaque pic est caractérisé par un temps de rétention et une surfaces qui permettes de déterminer l'identité du constituant ainsi que sa proportion dans le mélange [40,71].

Les chromatogrammes de l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum L* et de *Rosmarinus officinalis L* sont illustrés dans les figures IV.2 et IV.3



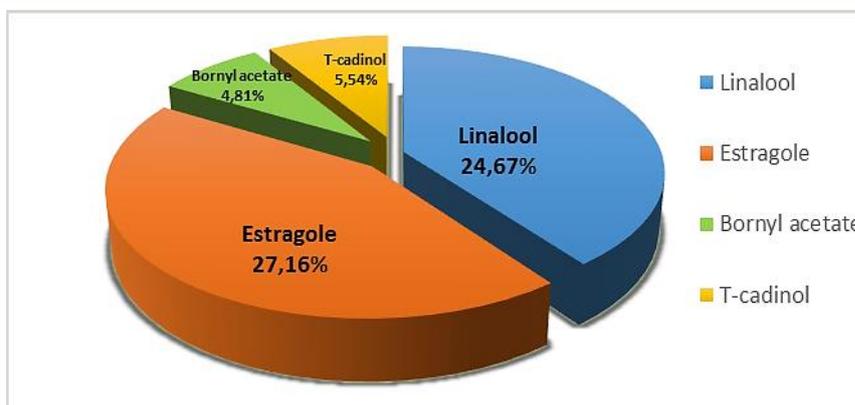
**Figure IV.2** : Chromatogramme en GC/SM d'HE de *Ocimum basilicum L*



**Figure IV.3 :** Chromatogramme en GC/SM d'HE de *Rosmarinus officinalis L.*

L'analyse chimique a fait dévoiler 68 constituants qui représentent environ 99,95 % pour l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum L.*

La GC/MS a permis de recenser soixante-huit composés à partir de l'essence de *Ocimum basilicum L.* de la région de Ghardaia sont identifiés, ce qui correspond à un pourcentage de 99,95 % de l'ensemble des constituants isolés. L'Estragole apparaît comme le constituant principal de l'huile essentielle (27,16%), suivi du Linalool (24,67%), du T-cadinol (5,54%), et de Bornyl acetate (4,81%). Ces composés présentent 62,18 % de la composition totale d'huile de basilic (Figure IV.5).

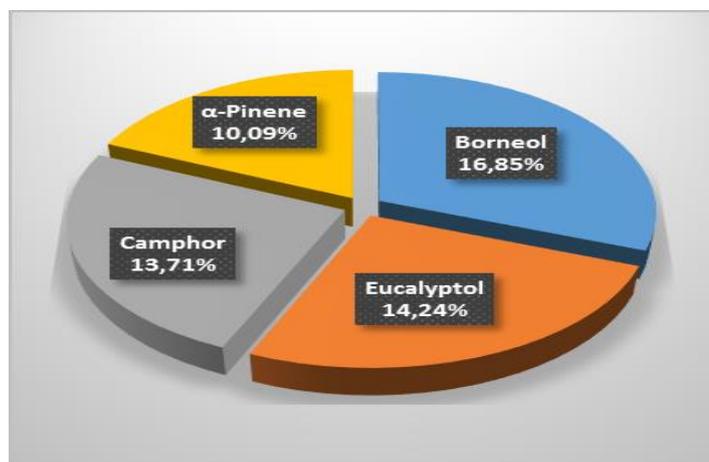


**FigureIV.4** : Distribution en fonction du pourcentage des différents composants existant dans l'huile essentielle de *Ocimum basilicum L.*

D'après **Hadj Khalifa et al** [72] en Algérie ; les principaux composés de l'HE extraite des feuilles du basilic qui ont été signalé, sont le linalol et l'acetate de linalyle.

Dans le cas des huiles de basilic de Maroc, **Belkamel et al.**[73] ont présenté trois principaux constituants dans l'HE de basilic à savoir le linalol, le cinnamate de méthyle et le 1.8-cinéole.

D'une autre part, l'analyse chimique a fait dévoiler quarante-sept constituants qui représentent environ 98,15 % pour l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* cultivé à l'université de Ghardaia. Cette huile composée principalement par Borneol (16.85%), suivi de l'Eucalyptol (14.24%), du Camphor (13.71%) et du  $\alpha$ -Pinene (10.09%). qui présent 54.89 % de la composition total de notre huile (Figure IV.4).



**FigureIV.5** : Distribution en fonction du pourcentage des différents composants existant dans l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.*

La composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* de la région de Ghardaia montre quelques différences par rapport à certains travaux.

Dans la région de Bibans (Alger), le composé majoritaire est le 1,8-cinéole (52.4%), suivi du camphre (12.6%) [74] .

Un échantillon provenant de Bordj-Bou-Argeridj ne contient que 7,5% de cinéole à côté du camphre (12,1%), du bornéol (10,1%), de l' $\alpha$ - terpinéol (9,5%) et surtout du (E)- $\beta$ -caryophyllène (13,9%) [75] .

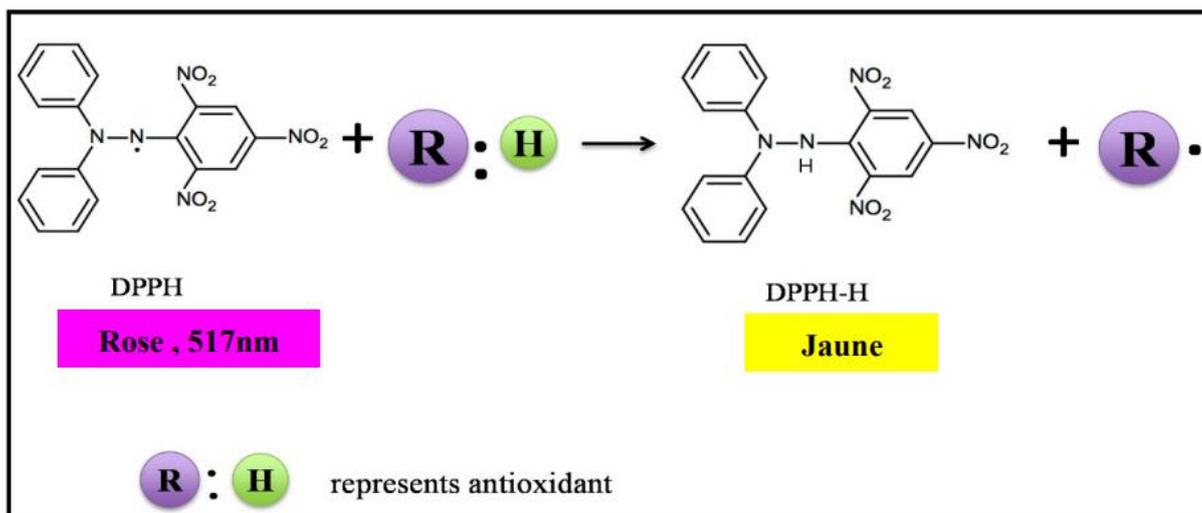
Comparativement, les résultats obtenus par refèlent que le romarin cultivé a Telmcen montre que le composé principal est le camphre (13.8%), suivi de l' $\alpha$ -pinène (12.6%), du cinéole (11.8%) et du bornéol (10.8%)[69].

Par ailleurs, les variations, rencontrées dans la composition chimique de nos échantillons comparés à certains travaux antérieurs, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, à la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et la période du cycle végétatif, le matériel végétal frais ou sec [7 , 40].

#### **IV.4 Activités biologique :**

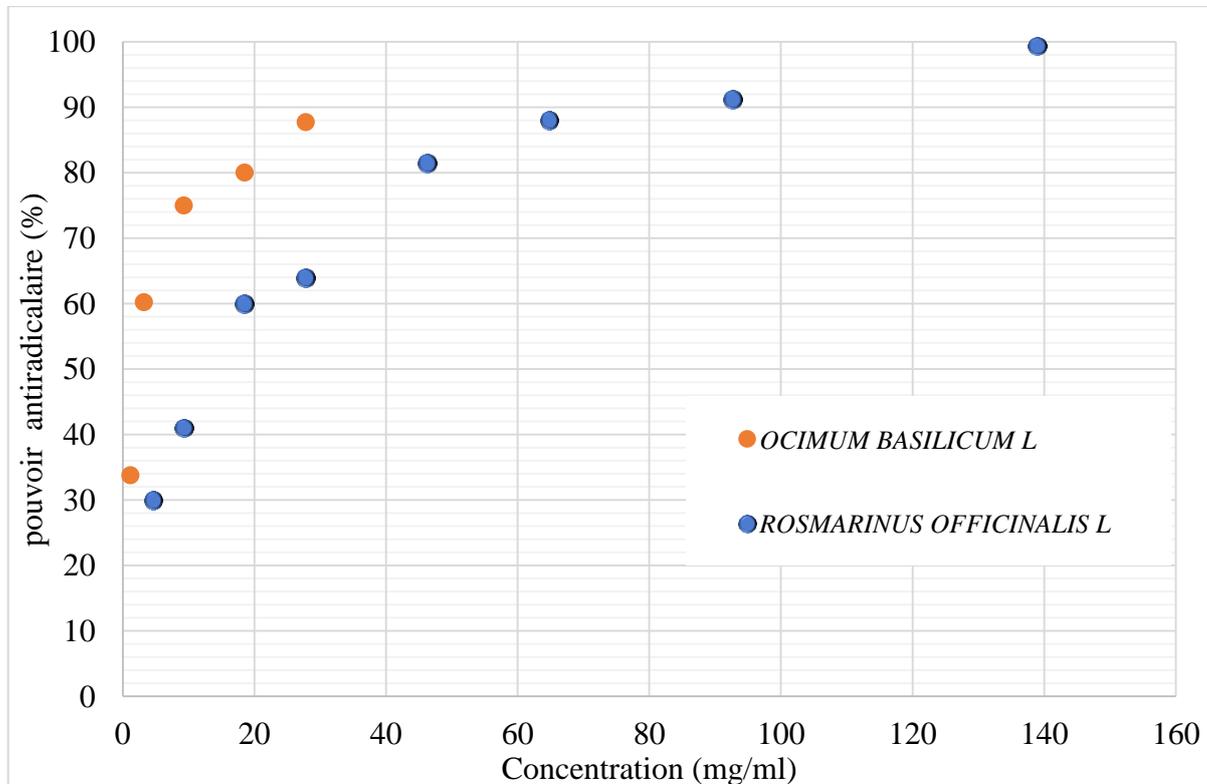
##### **IV.4.1 Activité antioxydante :**

Le DPPH est un radical libre nous permettant de déterminer le potentiel de piégeage de nos huiles essentielles grâce à sa sensibilité à détecter les composants actifs à des basses concentrations, L'activité antiradicalaire a été estimée spectrophotométrie en suivant la réduction du DPPH à 517nm[ 69 ].

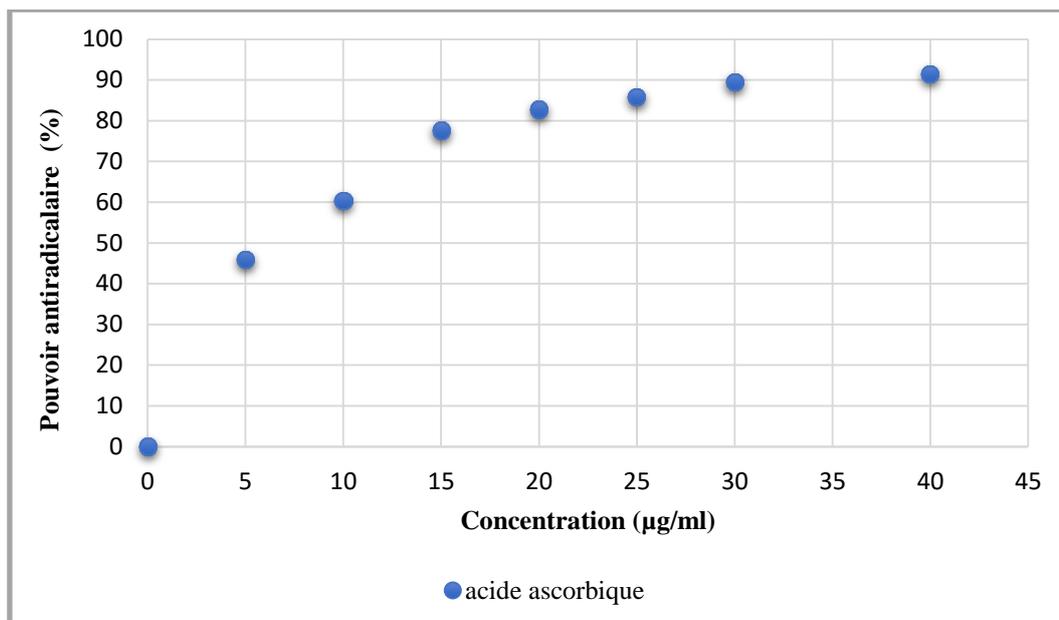


**Figure IV.6 :** Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (RH) [ 40 ].

Les figures IV.7 et IV.8 montrent l'efficacité des huiles essentielles et d'acide ascorbique à piéger le radical DPPH, traduite par le taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations.



**Figure IV.7 :** Activité antiradicalaire des huiles essentielles *d'ocimum basilicum L* et *Rosmarinus officinalis L*.



**Figure IV.8 :** Activité antiradicalaire d' l'Acide Ascorbique.

La valeur  $IC_{50}$  (autrement appelée concentration inhibitrice à 50%) été déterminée graphiquement par régressions linéaire du graphe tracé des courbes des taux d'inhibition, et regroupée dans le tableau IV.3 pour nos huiles.

La valeur de l' $IC_{50}$  est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car il reflète la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %.

**Tableau IV.3:** Concentration inhibitrice à 50% des huiles essentielles et de l'Acide Ascorbique.

HEs	<i>Ocimum basilicum L</i>	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	Acide Ascorbique
$IC_{50}$	1.4154mg/ml	9.4750mg/ml	9.7339 µg/ml.

D'après les résultats, on remarque que l'activité de piégeage du radical DPPH des différentes huiles essentielles augmente proportionnellement avec l'augmentation des concentrations. Le potentiel antiradicalaire d'huile essentielle de basilic a été supérieure à huile essentielle du romarin, les valeurs de  $IC_{50}$  sont égales à 1.4154mg/ ml et 9.4750 mg/ml respectivement.

Il semble que l'acide ascorbique (la vitamine C) est l'antioxydant le plus efficace que les huiles essentielles étudiée avec une valeur de  $IC_{50} = 9.7339 \mu\text{g/ml}$ .

Plusieurs travaux antérieurs ont montré que l'HE d'*Ocimum basilicum L* possède des propriétés antioxydantes remarquables. Nos résultats sont en bon accord avec ceux trouvés par **CHENNI Mohammed** [40], qui a rapporté que l'HE d'*O. Basilicum L* contenant le linalol comme composé majoritaire présentait des effets antioxydant avec une  $IC_{50} = 8.1 \text{ mg/ml}$ .

Pour le *Rosmarinus officinalis L*, **Hussain et al.** [76] montrent que l' $IC_{50}$  d'HE du romarin est de  $20.9 \mu\text{g/ml}$  ( $0.02 \text{ mg/ml}$ ) c'est une très forte capacité antiradicalaire par rapport à notre résultat, on note que cette HE est extraite des feuilles de romarin cultivé au Pakistan et récolté pendant l'hiver; et contrairement pour les résultats obtenus par **Mohammed Tahar Haouam** [77] . qui a rapporté que l'HE de *Rosmarinus officinalis L* de la wilaya d'Annaba présentait des effets antioxydant avec une  $IC_{50} = 27.12 \text{ mg/ml}$ , ces effets sont plus faible que nos résultats.

De nombreuses épreuves ont été rapportées dans la littérature pour expliquer la relation structure-activité de certains composés naturels. Il a été proposé que l'activité antioxydante est en relation avec le nombre et la position des groupements hydroxyles sur le noyau des flavonoïdes [77] Par conséquent les composés majoritaires ne déterminent pas toujours l'activité antioxydante de l'HE étudié. Il est possible que les composés majoritaires présents à des concentrations plus faibles puissent être implique par un effet de synergie avec d'autres composés actifs[40].

#### IV.4.2 Activité antibactérienne :

Nous avons étudié le pouvoir antibactérien des extraits qui ont été obtenus à partir de l'*Ocimum basilicum L* et *Rosmarinus officinalis L* de la région de Ghardaïa. Ce pouvoir a été évalué contre 6 souches bactériennes, dont deux de Gram négatif et quatre de Gram positif, en utilisant la méthode de diffusion de disque sur milieu de Mueller-Hinton gélosé.

Les résultats de l'activité antibactérienne de notre de l'huile essentielle, est regroupés dans le tableau suivant :

Tableau IV.4 : Diamètre des zones d'inhibition en mm pour les micro-organismes testés.

		<i>Ocimum basilicum L</i>		<i>Rosmarinus officinalis L</i>	
Micro-organismes testé		Zone d'inhibition (mm)	CMI (µg/ml)	Zone d'inhibition (mm)	CMI (µl/ml)
Gram Négative	<i>Escherchia coli</i> ATCC 8739	15	1	28	>1
	<i>Psuedomonas aeruginosa</i> ATCC 7029	30	>1	27	>1
Gram Positive	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	32	>1	20	>1
	<i>Bacillus Spizizenii</i> ATTC 6633	21	1	25	0.08
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	52	1	22	0.06
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	29	>1	10	> 1

La sensibilité des bactéries vis-à-vis l'huile essentielle est organisée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit [78].

- Non sensible 6 mm
- Sensible 9 – 14 mm
- Très sensible 15 – 19 mm
- Extrêmement sensible Plus de 20 mm

A l'issue des résultats obtenus dans le tableau IV.4 il ressort que les bactéries examinées sont sensibles à Extrêmement sensible pour les HEs pures. On remarque que les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives.

L'HE de *Rosmarinus officinalis* a révélé une activité antibactérienne importante sur l'ensemble des bactéries testées. *Escherchia coli*, *Psuedomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus Spizizenii*, *Bacillus subtilis* avec des zones d'inhibition de (28 ;27 ;20 ;25 ;22) mm respectivement.

Contrairement aux souches de *Staphylococcus aureus* qui ont montré de faible zone d'inhibition avec diamètre de 10 mm.

Plusieurs auteurs ont rapporté que certains composés présents dans les extraits du romarin possèdent des propriétés antibactériennes **Mohammed Tahar Haouam** [77] .a testé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du romarin, rassemblé de la région de Annaba. Leurs résultats ont indiqué que les bactéries testées étaient sensibles aux huiles essentielles.

L'HE de l'*Ocimum basilicum L* présente une forte activité antimicrobienne contre les micro-organismes testés. Ces résultats montrent que les bactéries à Gram- positif ; *Listeria monocytogenes*, *Bacillus Spizizenii*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* ont été les micro-organismes les plus sensible avec des zones d'inhibitions (32, 21, 52, 29) mm respectivement ; et les valeurs de la CMI sont  $\geq 1\mu\text{l/ml}$ .

La plus faible activité a été observée pour *Escherchia coli* avec la plus faible zone d'inhibition 15mm. Par ailleurs, la zone d'inhibition de la souche du gram négatif *Psuedomonas aeruginosa* est de 30 mm.

Globalement, Les huiles essentielles de deux plantes ont présenté un large spectre d'action sur les bactéries testées. Notons que le pouvoir antibactérien de l'HE d'*Ocimum basilicum L* s'est révélé plus important que celui de *Rosmarinus officinalis L*.

L'He de basilic est connue pour avoir une bonne activité antimicrobienne contre un large spectre de micro-organismes [40,70].

Les huiles essentielles extraites présentaient une activité modérée par rapport aux antibiotiques testés (voir l'annexe 5)

Afin de visualiser l'action des huiles essentielles de basilic et de romarin sur les souches microbiennes testées ; il nous a semblé plus approprié de représenter les résultats de nos expériences sous forme d'histogramme (figure IV.5)

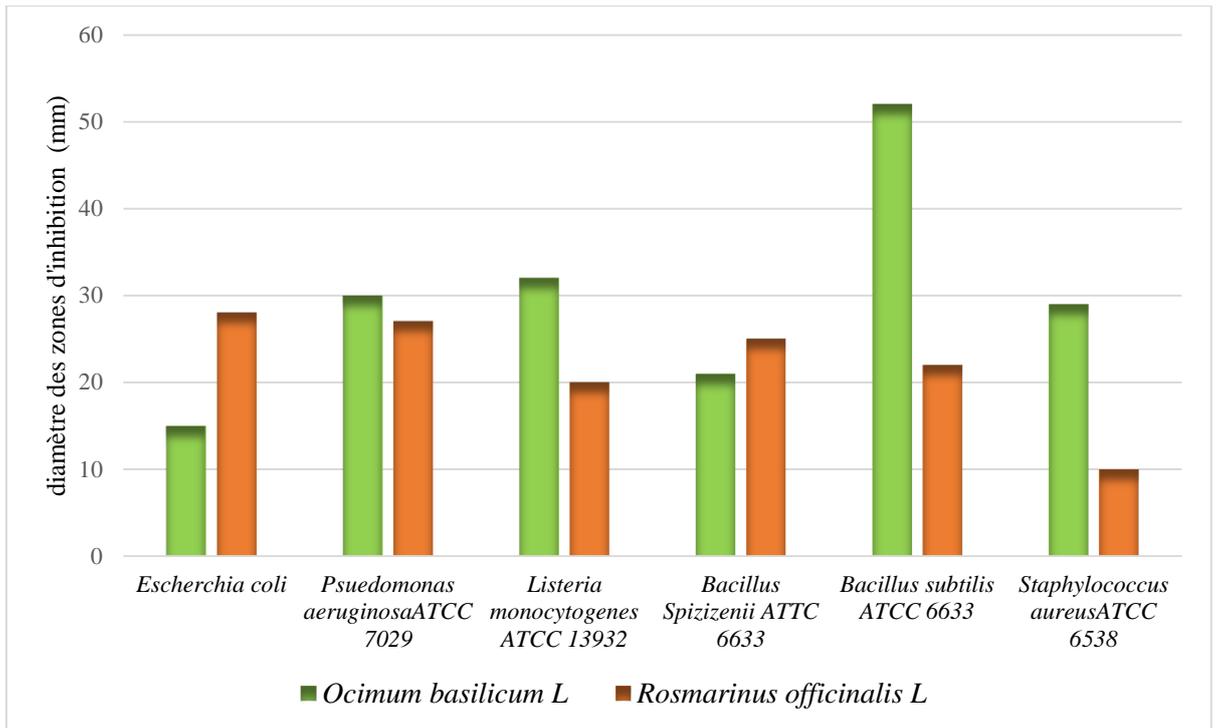


Figure IV.5: Diamètre des zone d'inhibition des souches microbiennes testées vis-à-vis de l'HEs

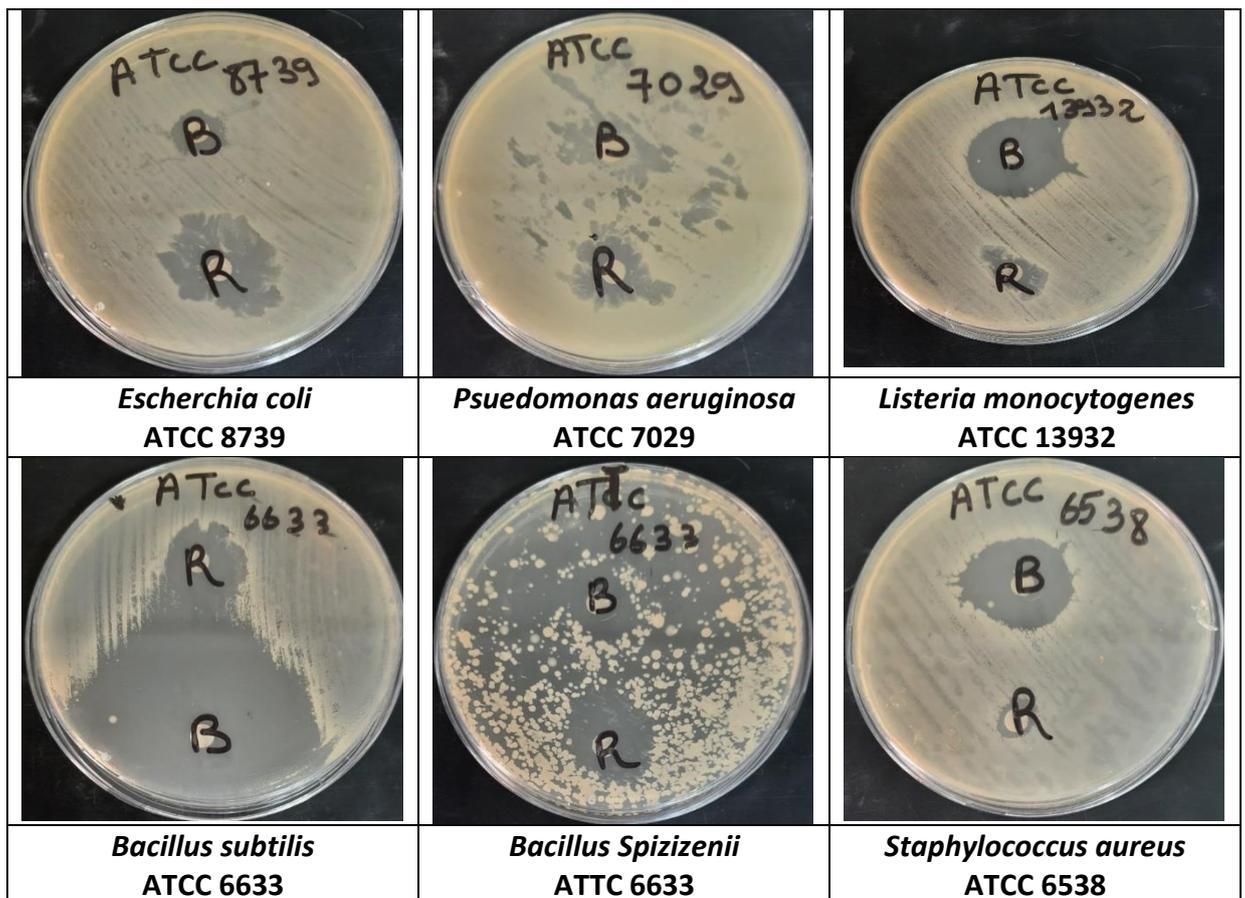


Figure IV.6 : Effet de l'HEs de Basilic et de Romarin sir la croissance des différentes souches bactériennes

Enfin, plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs tels que : la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, le choix des plantes, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type des microorganismes ciblés [79].

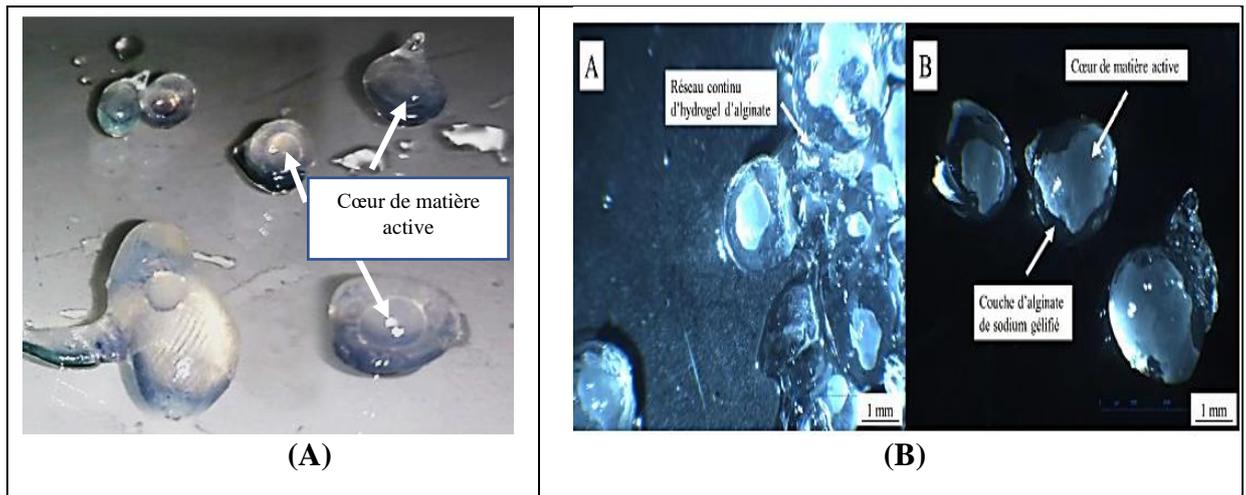
Et Selon **Oussalah, Caillet** [80] l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, aldéhydes) et les effets synergiques entre les composants.

#### **IV.5 Résultat de l'essai de production de capsules des HEs par gélification inverse :**

La figure montre l'obtention des billes d'une structure particulière comportant un cœur actif constitué d'huile de romarin et entouré par une couche hétérogène d'alginate réticulé ayant été formée par migration des ions  $\text{Ca}^{2+}$  à la périphérie de la goutte. Cependant, il n'a pas été possible de limiter la migration de ces ions au-delà d'une certaine distance, conduisant ainsi à la gélification des chaînes d'alginate situées entre les gouttes et donc à la formation d'un réseau unique.

En revanche, les billes produites présentent des morphologies sphériques de tailles relativement homogènes avec des diamètres compris entre 4 et 5 mm .

En dehors des différences morphologiques observées, la principale limitation de ce procédé réside dans la difficulté d'obtenir un ou plusieurs cœur(s) liquide(s) parfaitement centré(s) au sein de la bille (*visible à la **Figure IV.7***).



**Figure IV.7** : Les morphologies des obtenues par gélification inverse  
(A) les billes de notre essai ; (B) Images acquises par microscopie optique des billes de [38].

***Conclusion Générale***  
**CONCLUSION GENERALE**

## *Conclusion Générale*

Le basilic et le romarin sont des plantes médicinales aromatiques très recherchée par les industries pharmaceutiques, l'aromathérapie, et plusieurs domaines.

L'objet de notre travail a porté sur l'étude chimique et biologique des huiles essentielles de basilic « *Ocimum basilicum L* » et Le romarin « *Rosmarinus officinalis L* », provenant de la région de Ghardaia. Extraite par hydrodistillation. Le but visé à effectuer une comparaison en termes de rendement, de propriétés physico-chimiques, de composition chimique, évaluation de leurs effet antioxydant par la méthode de (DPPH), la détermination de leur pouvoir antibactérienne sur six souches du gram positive et négative.. Et en fin tester un procédé de l'encapsulation sur nos huiles essentielles.

Le rendement de l'HE de *Rosmarinus officinalis L* s'est le plus élevé à 0,83% et la GC/SM a permis d'identifier 47 composés dont Borneol (16.85%), l'Eucalyptol (14.24%), Camphor (13.71%) et  $\alpha$ -Pinene (10.09%).

Pour l'*Ocimum basilicum L* avec un rendement de 0.47% son HE est constitué de 68 composants, le constituant principal de l'huile essentielle (27,16%), suivi du Linalool (24,67%), du T-cadinol (5,54%), et de Bornyl acetate (4.81%).

En outre, l'étude de l'activité antiradicalaire montre que la plus grande activité est obtenue avec l'huile de l'*Ocimum basilicum L* avec un IC50 de 1.4154mg/ml.

L'estimation de l'activité antimicrobienne des huiles de romarin et de basilic montre une sensibilité bactérienne vis-à-vis à un ensemble de bactéries (4gram positif et2 gram négatif) testées, *Escherchia coli* (ATCC 8739) est le plus sensible à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* avec une zone d'inhibition de 28mm .

Pour l'huile essentielle d'*ocimum basilicum L*. *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) est la souche la plus sensible à cette huile avec une zone d'inhibition de 52 mm.

En Générale , Les huiles essentielles de deux plantes ont présenté un large spectre d'action sur les bactéries testées. Notons que le pouvoir antibactérien de l'HEs d'*Ocimum basilicum L* s'est révélé plus important que celui d'*Rosmarinus officinalis L* .

## ***Conclusion Générale***

En comparant la susceptibilité des micro-organismes étudiés, La souche d'*Escherchia coli* a montré une résistance vis-à-vis d'huile essentielle d'*Ocimum basilicum L*, et *Staphylococcus aureus* pour l'huile essentielle d'*Rosmarinus officinalis L*.

Concernant le procédé d'encapsulation, On a obtenu des billes d'une structure particulière comportant un cœur actif constitué d'huile de romarin et entouré par une couche hétérogène d'alginate.

Finalement, et à partir de notre étude on peut conclure que les huiles essentielles d'*Ocimum basilicum Let* de *Rosmarinus officinalis L*, ont des propriétés physico-chimiques très important, est fortes activités antioxydantes et antibactériens. Qui peuvent exploitées dans les domaines cosmétiques, alimentaires et pharmaceutiques. Cependant, il est nécessaire, d'effectuer des autres recherches et testes comme :

- Etude des autres activités biologiques de ces plantes, tel que l'activité antifongiques, anti-inflammatoires, Anticoagulant .
- Autres méthodes des procédés d'encapsulation.

*Références bibliographiques*

## Références Bibliographiques

---

- [1] MOUAS et al. ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DE L'EXTRAIT MÉTHANOLIQUE DU ROMARIN *ROSMARINUS OFFICINALIS* L. Université de Blida. *Revue Agrobiologia* (2017) 7(1): 363-370. P 364 .
- [2] Quezel P. et Medail F. (1995). La région circumméditerranéenne, Centre mondial majeur de biodiversité végétale. Institut Méditerranéen d'Ecologie et de la Paléoécologie, France, 152-55.
- [3] Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M. M. (2008). Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10, 119-125.
- [4] J.P. Lafon, C.Tharaud-Prayer, et G.Lévy-Biologie des plantes cultivées. Tome 1 : organisation .
- [5] D. El Abed, et N. Kambouche-Les Huiles essentielles, Editions Dar El Gharb, 2003.
- [6] Boutabia, Lamia, et al. " composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébess-Algérie). " *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège* 85 (2016): 174-189.
- [7] HENNICHE Houda. Extraction et valorisation des huiles essentielles du romarin (Algérie) obtenues par différents procédés. 2018 P 19.
- [8] H.Arnold-ARomat herapy Therapy Basics.pp23.second edition, british.2003.
- [9] W. Dhifi, S. Bellili, S. Jazi, N.Bahloul, W. Mnif-Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review-article.Vol.3(4),USA. Sep 22.2016.
- [10] Valnet, Les huiles essentielles, une santé toute naturelle. Phytothérapie de la recherche à la pratique. 2003, 1(1), 12.
- [11] DANIELE FESTY. MA BIBLE DES HUILES ESSENTIELLES. 20 0 8 LEDUC.S Éditions Dix-neuvième impression (septembre 2012) 17, rue du Regard 750 0 6 Paris. P 15 .
- [12] Alessandra Moro Buronzo et Jean-Charles Schnebelen. Huiles essentielles. Éditions First-Gründ . 60, rue Mazarine. 75006 Paris. P7-8.

## Références Bibliographiques

---

- [13] .L.Leila- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE D'HUILES ESSENTIELLES MAROCAINES SUR AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS : ETUDE IN VITRO-thèse Doctorat, Université Mohammed V, Maroc.24 Février 2015.
- [14] Françoise COUIC-MARINIER,Annelise LOBSTEIN. Les huiles essentielles à l'officine.Françoise.2013 Elsevier Masson SAS.P22.
- [15] Teisseire, P.J., Chimie des substances odorantes. 1991: Technique et documentationLavoisier.
- [16] Jacques Kaloustian.Francis Hadji-Minaglou. La connaissance des huiles essentielles. ISBN 978-2-8178-0308-1 Springer Paris Berlin Heidelberg New York Springer-Verlag France, Paris, 2012.p25 .
- [17] OUIBRAHIM Amira. 2015. Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA. P 15.
- [18] OUTALEB Tydia. Huiles essentielles et extraits de romarin : composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie - El Harrach-Alger.P 12.
- [19] BEN YUCEF Hayat. DJEDIAT Mouna. Etude biologique des huiles essentielles du mentha spicata et formulation d'un lave-mains. Université A. M. OULHADJ – Bouira. P 5-6 .
- [20] BOUGUERRA Asma. AGGOUNE Rania. (2021) SAADI Nourelhouda. Etude Comparative des méthodes d'extraction des huiles Essentielle dans les plantes. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA.
- [21] Aib Hadjer. Abdelhafid Racha.(2020). Evaluation des activités biologiques et l'effet cytotoxique des huiles essentielles de *Crocus sativus* L. UNIVERSITE LARBI BEN MHIDI OUM EL BOUAGHI. P 13.
- [22] HADDOUCHI Farah,BENMANSOUR Abdelhafid,Laboratoire des produits Naturels, Département de biologie, Faculté des Science, Université De Tlemcen, Algérie .
- [23] Ksouri A, Dob T, Belkebir A, Dahmane D, Nouasri A. (2017) Volatile Compounds and Biological Activities of Aerial Parts of *Pituranthos scoparius* (COSS. & DURIEU) SCHINZ

## Références Bibliographiques

---

(Apiaceae) from Hoggar, Southern Algeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 16, 51-58.

[24] Boyd, B., C. Ford, C. Koepke Michael, K. Gary, E. Horn, S. McAnelley, and C. McAnelley, Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *GlycoScience et Nutrition*, 2003. 4(6): p 7.

[25] Kohen, R. and A. Nyska, Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods of their quantification. *Toxicol Pathol*, 2002. 30 (6): 620-50.

[26] Caillet, S. and M. Lacroix, Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. 2007, RESALA Université de Laval, Québec, Canada.

[27] Hala GM, Christ H, Carla K. (2000) Traditional uses of *Salvia libanotica* (East Mediterranean sage) and the effects of essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, 71(3), 513-520.

[28] Degryse, A ., Delpha, C.-I ., voinier, M.-A. (2008). bénéfices possibles des huiles atelier santé environnement-IGS.EHESP.P 2.

[29] Baali, K., Rouha, H. (2017).Activité antioxydant des huiles essentielles extraites de quelque plantes de la famille des Lamiaceae. Mémoire de master .univ. Bejaia.18p.

[30] Kurita, N., Koike, S. (1982). Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils componements.*Agric.Biol. Chem.*p 46-159-165.

[31] Bechiri Souhila. Tahar Mezedek Salima. (2018). Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia herba alba de la région d'El Kantara (wilaya de Biskra) et de Mentha pulegium de la foret de Mesra (wilaya de Mostaganem). P 20 .

[32] Bekhechi, C., Boti, J. B., Bekkara, F. A., Abdelouahid, D. E., Casanova, J., & Tomi, F. (2010). Isothymol in Ajowan essential oil. *Natural Product Communications*, 5(7),

[33] Turek C. & Stintzing F.C., 2013a. Stability of essential oils: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 12(1), 40-53.

[34] Li Y., Fabiano-Tixier A.-S. & Chemat F., 2014. Essential Oils: From Conventional to Green Extraction. *In: Essential Oils as Reagents in Green Chemistry*. 9-21.

## Références Bibliographiques

---

- [35] Akdim, Loubna. Comparaison de méthodes d'absorption et d'encapsulation de l'huile essentielle de *Copaifera Officinalis* L. en vue d'une application en cosmétique. Master en bioingénieur : sciences agronomiques, à finalité spécialisée. 2016-2017.P 11.
- [36] CHAIB SAMIRA. Encapsulation d'une huile essentielle extraite de *Thymus vulgaris* : Effet sur ses propriétés physicochimiques et biologiques. UNIVERSITE LARBI BEN M'HIDI OUM EL BOUAGHI. 2020/2021.P 15.
- [37] Louiza HIMED. MERNIZ. Évaluation des activités biologiques des huiles essentielles du citron (*Citrus limon*): encapsulation et application comme agent conservateur à la margarine allégée. UNIVERSITE FRERES MENTOURI CONSTANTINE 1. P15 .
- [38] LE PRIOL, Lorine. *Étude de la co-encapsulation d'huiles alimentaires oxydables et d'antioxydants phénoliques*. 2019. Thèse de doctorat. Université de Technologie de Compiègne.
- [39] Botineau M., 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC, Lavoisier, Paris. P 1021-1043
- [40] ChENNI, M, 2016 ; Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "*Ocimum basilicum* L." extraite par hydrodistillation et par micro-ondes, Thèse de Doctorat ; 185
- [41] Métali, Mouna et Kerras, Kheira. 2016 Etude des activités antibactériennes et antioxydantes des extraits d'*Ocimum basilicum* (basilic) dans la région de Ain Defla. Mémoire de Master. Khemis Miliana : Université Khemis Miliana, , 113pages
- [42] Mueen, Ahmed. et al. Biological properties of the sweet basil (*Ocimum basilicum*). *British Journal of Pharmaceutical Research*, 2015; 7(5); p.336-339.
- [43] Rajamanickam, Karthika. et al. Phytochemical Analysis , Antioxydant and Antibacteriel Activities of two traditionally used Indian medicinal plants. *Asian Journal of Biology*, 2017; 4(5); p.1-11.
- [44] Khoualdi I , Boughrara N (2017\_2018), L'effet de l'extrait d'*ocimum bacilum* sur quelques paramètres biochimiques et reproductifs chez les rats intoxiqués par le mercure,

## Références Bibliographiques

---

Mémoire, Biologie et physiologie de la Reproduction, faculté des Science exactes et science de la nature et de la vie, université larbi Ben Mhidi oum El Bouaghi ,58p.

[45] Sajjadi,S.E.DARU2006,14(3), 128-130.

[46] Sullivan,C. «Herbs Basil(*Ocimum basilicum*) » ,Hamilton College Seminar –Food For Thought :The Science, Culture & Politics of food in springer 2009.

[47] Li Qing X. et Chiou L. Chang (2016) Basil (*Ocimum basilicum* L.) Oils in « Essential oils in food preservation, flavor and safety» » edited by Preedy, Victor R. Elsevier: 231-238.

[48] Guinochet T., 1973. Phytosociologie, Ed. Masson, France, 227p.

[49] Taha EL Kamli. Et al, Comparaison Quantitative Et Qualitative Des Huiles Essentielles De *Rosmarinus Officinalis* Obtenues Par Différentes Méthodes. doi: 10.19044/esj.2017.v13n21p172.

[50] Berkane A., 2015- Détermination des propriétés thermodynamiques d’huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* L. Mémoire Master. Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana, 38p.

[51] Bärtels A., 1997. Guide des Plantes du Bassin méditerranéen. Editions Ulmer.

[52] Quezel P. et Santa, S., 1963. La nouvelle flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed CNRS. Paris. P 360-361.

[53] Schauenberg O. and Paris F., 1977. Guide to Medicinal Plants. Keats, New Canaan, CT.

[54] Garnier G., Bezanger-Beauquesne L., Debraux G., 1961. Ressources Médicinales de la Flore Française, Tome II. Ed Vigot Freres, Paris.

[55] BOULEZAZEN, Abd Elmoumen 2017. Evaluation de l’activité antioxydante et antimicrobienne d’une plante aromatique (*Rosmarinus Officinalis* L.) de la forêt Béni Melloul –Khenchela. (<https://agronomie.info/fr/rosmarinus-officinalis-1/>). Consulter a 15/02/2022

[56] Gaussen H., Leroy., et Ozenda P., 1982. Précis de botanique, végétaux supérieurs.vol.2. Paris: 2ème édition Masson.

[57] Makhloufi A., 2009- Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l’état spontané dans la région de bechar(*Matricaria pubescens*

## Références Bibliographiques

---

(Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru.

[58] ARAR Dhikra, SEBIAA Dhikra. Dangers d'utilisation des huiles essentielles : le romarin comme exemple. Université de Larbi Tébessi –Tébessa. 2021. P 48 .

[59] Bekkara, F. A., Bousmaha, L., Bendiab, S. T., Boti, J. B., & Casanova, J. (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*, 7(1)μ

[60] AFNOR, Recueil de normes : les huiles essentielles, Monographies relatives aux huiles essentielles ». Vol. Tome 2, paris. 2000.

[61] Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel- Wissenschaft und –Technologie*. P: 25–30.

[62] Sanchez-Moreno C., 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. P: 121-137.

[ 63] Gulcin I, Mshvildadze V., Gepdiremen A. and Elias R., 2003. Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F. *Planta Med*. P: 561-563.

[64] Wayne, P., *National committee for clinical laboratory standards*. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility testing, 2002. **12**.

[65] Dr. N. BENAMROUCHE, Dr. F. HENNICHE. Tests de sensibilité des bactéries aux antibiotiques : principe et applications en antibiothérapie. Faculté de médecine d'Alger Cours de Microbiologie pour les étudiants de 3eme année. P 7 .

[66] Dr. F.JEHL. Recommendations 2013 du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie ( <http://www.sante.dz/aarn/index.htm> ). Consulter a 26/03/2022.

[67] faculté de pharmacie et de médecine de Franche-comté [accés.inrp.fr/.../index\\_html](http://www.inrp.fr/.../index_html)

## Références Bibliographiques

---

- [68] Skandamis PN. and Nychas GJE., 2001. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres. *J. Applied Microbiol.* 91: 1011-1022.
- [69] Atik Bekkara F., Bousmaha L., Taleb Bendiab SA., Boti JB. et Casanova J., 2007. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé.* 7: 6-11.
- [70] Djibo, A. K., Samaté, A. D., & Nacro, M. (2004). Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. *O. Canum Sims* du Burkina Faso. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10-11), 1033-1037.
- [71] GOUDJIL Mohamed Bilal. 2016. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA.
- [72] Hadj Khelifa, L., Brada, M., Brahmi, F., Achour, D., Fauconnier, M. L., & Lognay, G. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of *Ocimum basilicum* leaves from the northern region of Algeria. *Journal of Herbal Medicine*, 1(2), 53-58.
- [73] Belkamel, A., Bammi, J., Janneot, V., Belkamel, A., Dehbi, Y., & Douira, A. (2008). Évaluation de la biomasse et analyse des huiles essentielles de trois variétés de basilic (*Ocimum basilicum* L.) cultivées au Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 155(4), 467-476.
- [74] Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R., Bessière J.M. The essential oils from *Rosmarinus officinalis* L. in Algeria, *J. Essent. Oil Res.* 1998, 10, 680-682.
- [75] Benhabiles N.E.H., Aït-Amar H. Comparative study of Algeria's *Rosmarinus eriocalys* and *R officinalis*. *Perfumer & Flavorist.* 2001, 26(5), 40-48.
- [76] Hussain AI., Anwar F., Ali Shahid S., Mahboob S., Nigam PS. *Rosmarinus Officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *brazilian journal of microbiology* 2010 ; 41 :1070-1078.

## Références Bibliographiques

---

- [77] Haouam, M. T. (2019). *Évaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle extraite à partir du Romarin* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
- [78] Ponce A., Fritz R., Del Valle C., Roura S. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology* 2003 ; 36 : 679- 684.
- [79] Nadia ZAYYAD , Abdellah FARAH et Jamila BAHHOU. Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de Thymus : Thymus zygis, T. algeriensis et T. Bleicherianus. *Bulletin de la Société*.
- [80] Oussalah, M., S. Caillet, L. Saucier, and M. Lacroix, *Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 2007. **18**(5): p. 414-420.

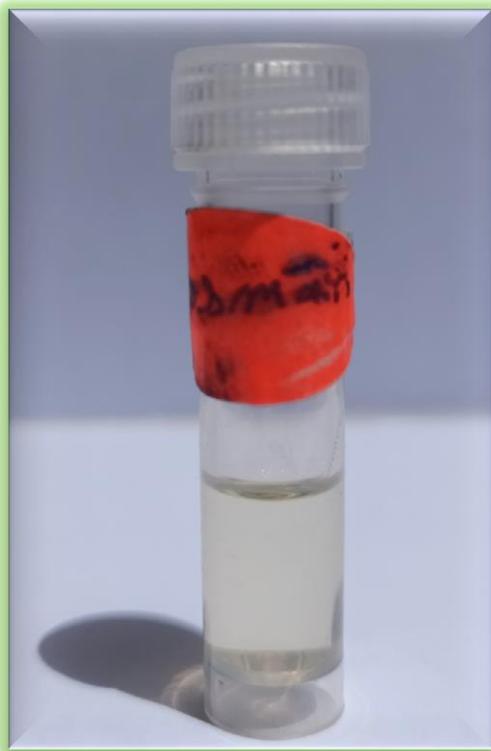
# *Annexes*

ANNEXES

**Annexes 01 :** Système adopté à l'extraction par hydro-distillation .



**Annexes 02 :** les huiles essentielles obtenus .



HE de *Rosmarinus officinalis* L.

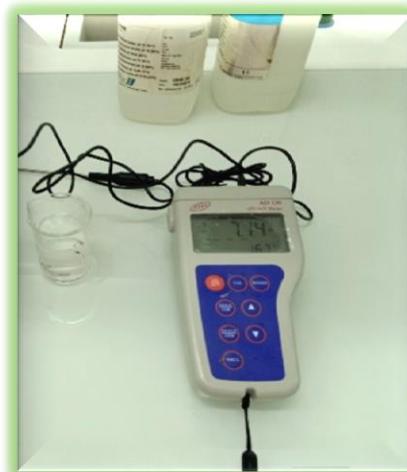


HE d'*Ocimum basilicum* L.

### Annexes 03 : les appareils et montage d'analyse physico-chimique



Réfractomètre



pH mètre



Vortex

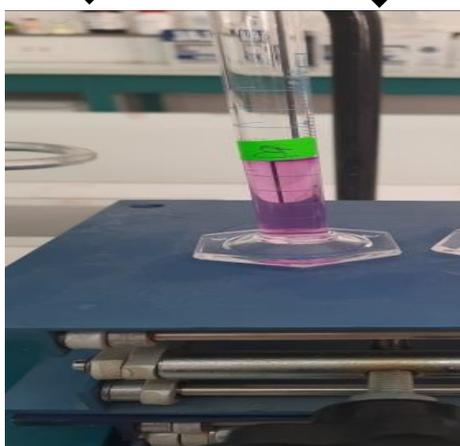
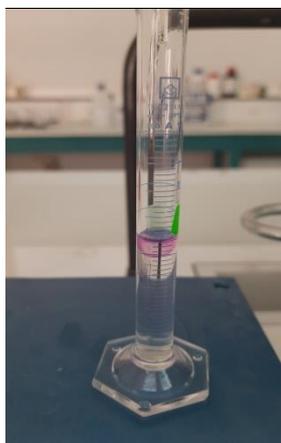


UV. Visible

Annexe 3 : la GC-MS utilisé pour la détermination de composition chimique .



#### Annexe 04 : Dispositif de mesure d'indice d'acide



## Annexe 5 : Activité Antibactérienne.



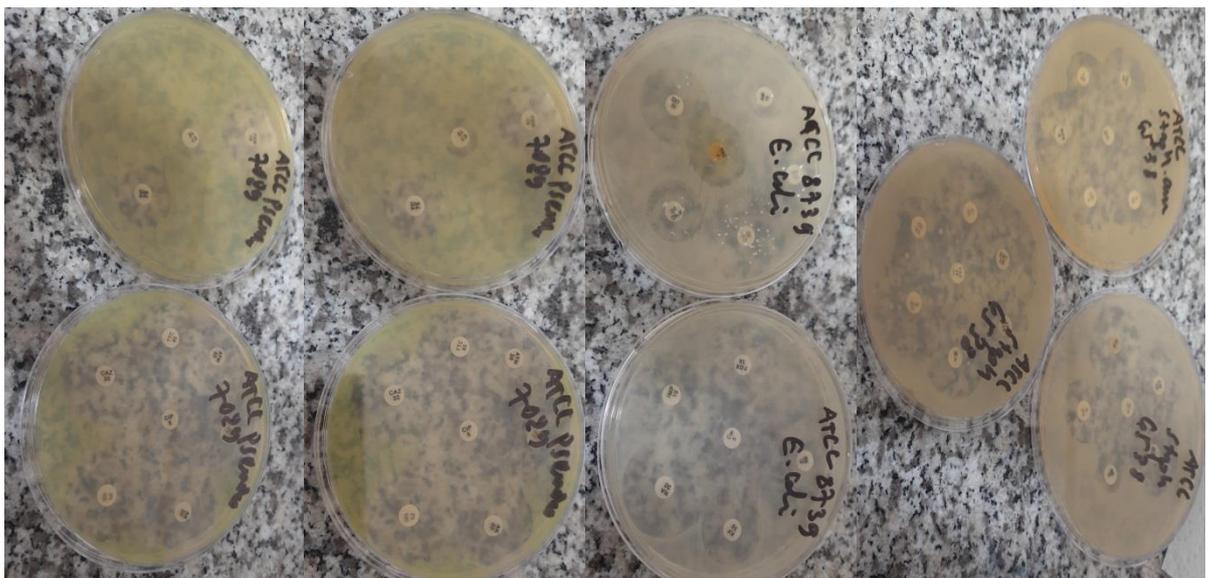
Préparation de l'inoculum



Dépôt des disques



Incubation 24H à 37°C



L'antibiogramme des souches testées.

Résultat d'antibiogramme des souches testées.

Les espèces bactériennes						
	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 7029)		<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC6538)	
ATB	D (mm)	Sig	D (mm)	Sig	D (mm)	Sig
CIP	36	S	34	S	32	S
AK	-	-	28	S	28	S
LE	-	-	30	S	-	-
AMP	15	R	-	-	-	-
AMC	18	S	-	-	-	-
CD	-	-	-	-	23	S

**Annexes 06 :** Activité antioxydants.





*People's Democratic Republic of Algeria  
Ministry of Higher Education and Scientific Research*

**University of Ghardaia**

Faculty of science and technology



**Laboratory of Materials, Energy Systems Technology and**

**Environment, (MESTEL)**

## **CERTIFICATE OF PARTICIPATION**

This is to certify that

Mrs **RAOUNAK RACHED** (University of Ghardaia)

*For his participation to study day "Environment and water treatment" Held at 11 Mai 2022, at University of Ghardaia  
Presenting a poster entitled: « Antibacterial and antioxidant activities of essential oil of the aerial part of "Ocimum  
Basilicum L" in the région of Ghardaïa; Algeria»*

Co-authors : HIBAT-ALLAH RAMDANI and IMANE RAACHE

President of the scientific day



People's Democratic Republic of Algeria  
Ministry of Higher Education and Scientific Research



**University of Ghardaia**

Faculty of science and technology

*Laboratory of Materials, Energy Systems Technology and  
Environment, (MESTEL)*

## **CERTIFICATE OF PARTICIPATION**

This is to certify that

Mrs HIBAT-ALLAH RAMDANI (University of Ghardaia)

*For her participation to study day "Environment and water treatment" Held at 11 Mai 2022, at University of Ghardaia*

*Presenting a poster entitled: « Etude des propriétés physico-chimiques et les activités antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle extraite des feuilles de Rosmarinus officinalis L. Provenant de la région de Ghardaia »*

Co-authors : RAOUNAK RACHED and IMANE RAACHE

President of the scientific day

رئيسة لجنة البحث  
تتبعين العمارة التطبيقية والتجارب  
الفيزيائية والكيميائية  
زهرة بابا عمر

جامعة غرداية  
كلية العلوم والتكنولوجيا  
مطابقا والبيئة  
بمبادرة عبد الرحمن  
المختبر  
شهر مراد  
جامعة غرداية