

### III.1. Rendement des huiles essentielles:

L'hydrodistillation est réalisée sur les feuilles et les grains de *Peganum Harmala L.* Aurantium placées dans un hydrodistillateur avec le rapport eau/matière végétale.

Le rendement en H.E est le rapport entre de poids de H.E extraite et le poids de la biomasse végétale à traiter. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R = (P_h / P_v) \times 100$$

R = rendement en huile essentielle en %.

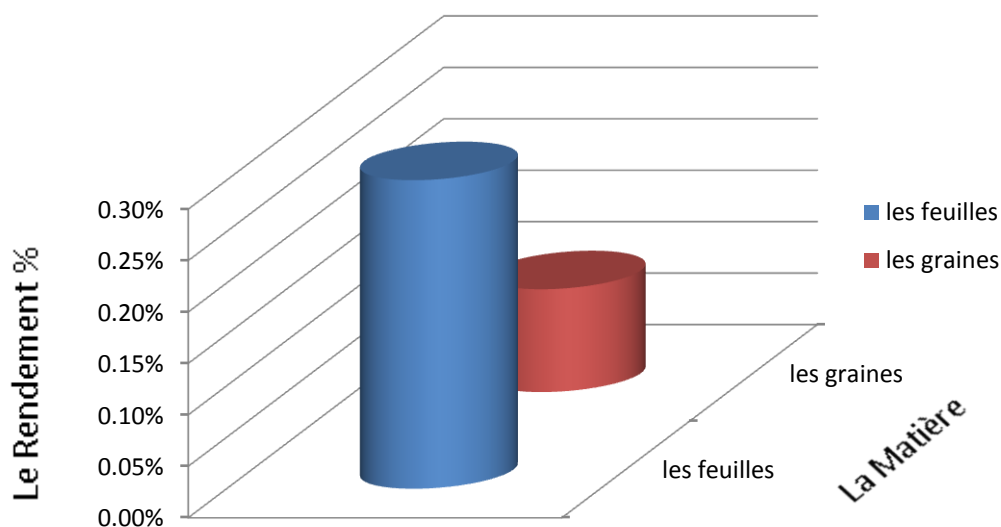
P<sub>h</sub> = poids de l'huile essentielle en gramme.

P<sub>v</sub> = poids de la biomasse végétale en gramme.

Le Tableau 07 résume les rendements moyens en HEs extraite :

	Les feuilles	Les grains
La formule	$(1.2 / 400) \times 100$	$(0.3 / 300) \times 100$
Le rendement %	0.3	0.1

**Le Tableau 07** : Les rendements des HEs de *Peganum Harmala L.*



**Figure 32** : Le rendement de feuilles et des graines de *peganume harmala l*

Le rendement obtenu à l'aide d'une extraction par hydrodistillation à l'échelle du laboratoire est faible, ce qui est probablement lié à l'évaporation des HEs lors d'un séchage prolongé (BENDIMIRAD *et al.* 2005).

Les résultats représentés sur la (Figure: 32), montrent que les rendements moyens en HEs des feuilles et des graines de *Peganum Harmala L* sont de l'ordre de 0,3 et 0,1 %, respectivement. Le rendement des feuilles est plus élevé que celui rapporté par les graines.

Le rendement de HEs est différent d'une famille botanique à une autre, d'une espèce à une autre et même entre les plantes de la même espèce. De plus, cette différence de teneur en HES peut être liée à plusieurs facteurs tels que la zone géographique de collecte, le climat, le stade de développement et la saison (KHANAGA, 2011).

Chez les plantes médicinales et aromatiques, à l'exception de leurs racines, tout l'appareil arien (tige, pétiole, feuilles et fleurs) présentent des formations glandulaires très développées, mais il ressort que la plus grande densité du système glandulaire est relevée sur le limbe foliaire (EL ABED et KAMBOUCHE, 2003). Ce qui explique la différence de taux des HEs entre les feuilles et les grains de *peganum harmala l*.

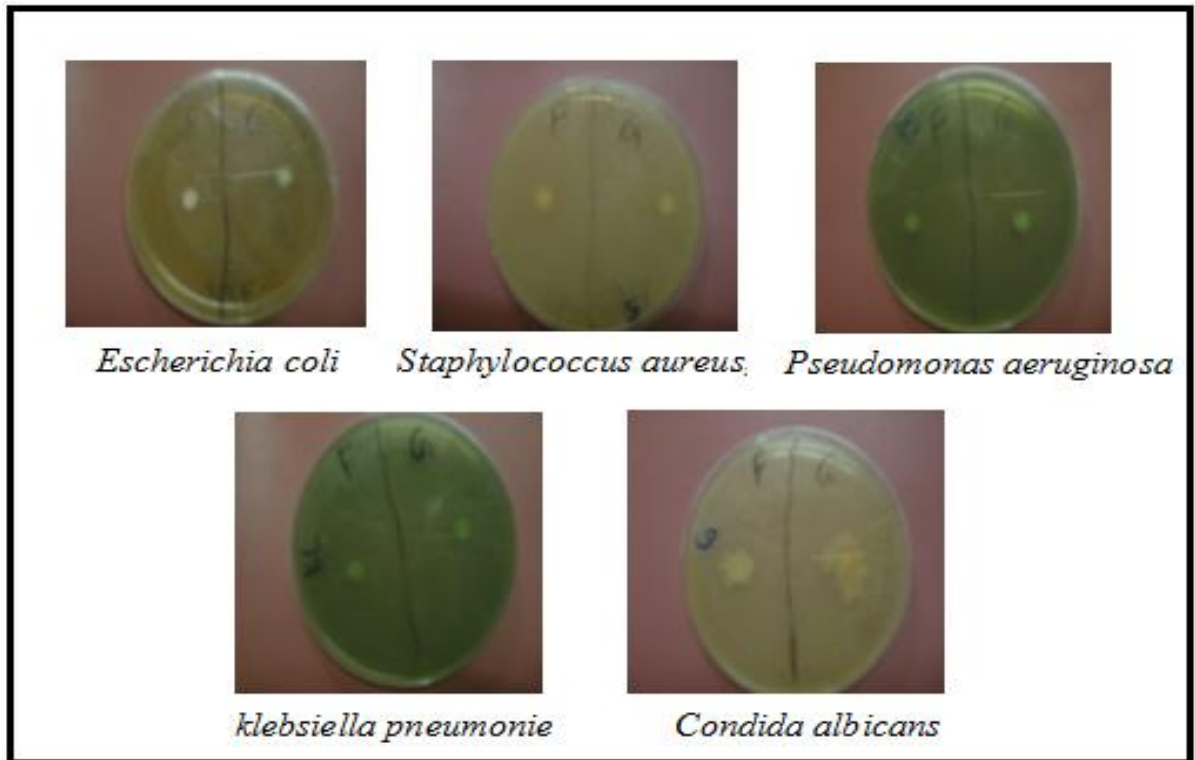
De nos jours l'hydrodistillation reste la méthode d'extraction des HEs la plus convoitée par l'industrie. Cependant, l'extraction par le gaz carbonique (CO<sub>2</sub>) supercritique sous haute pression engendre des rendements supérieurs et des HEs caractérisées par un profil organoleptique naturel, néanmoins l'utilisation de cette méthode reste limitée dans la pratique industrielle pour des raisons de rentabilité économique (HALLAL, 2011).

D'après SAWUR, 2009 qui fait l'identification des huiles essentielles de *peganum harmala l* par. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) détermine que les principaux constituants des huiles essentielles sont : tétrachloroéthylène (29.87%), dodécane (16.44%), undécane (12.34%), 1,2-benzène dicarboxylique acid, bis (2-Me propyl), ester (9.09%), 1,3-di-Me benzène (7.57%), éthylbenzène (5.84%), et 1,2-di-Me benzène (2.81%).

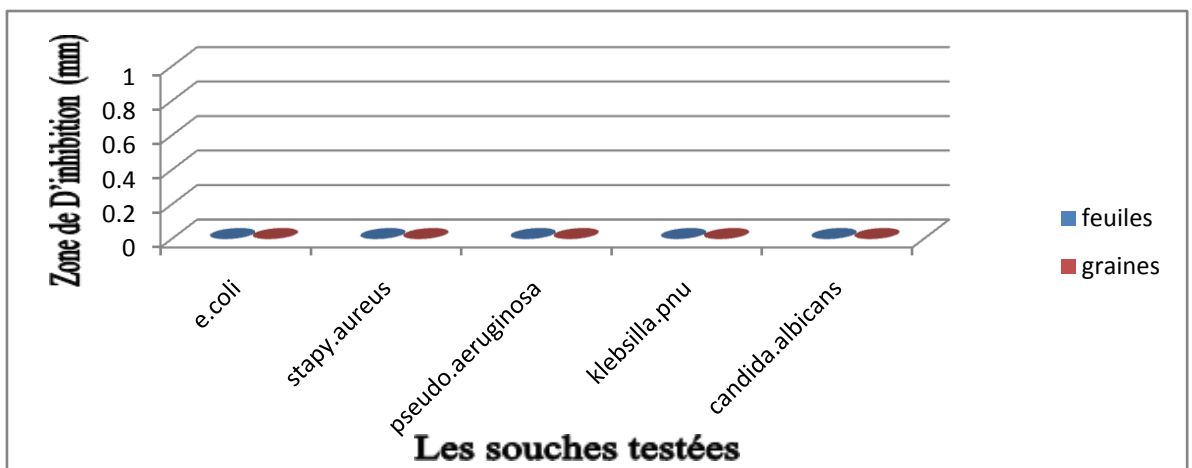
### **III.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles des feuilles et des grains de *Peganum Harmala l* :**

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de ces HEs soit des feuilles soit des grains a été effectuée via l'estimation de la surface de zone d'inhibition, cette dernière est réalisée par la méthode de diffusion sur la gélose (MH) sur des microorganismes pathogènes. Les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique des HEs des feuilles et des grains de *Peganum*

Harmala sur 4 souches bactériennes dont : *Escherichia coli*, *klebsiella pneumonie*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et un espèce de champignons *Condida albicans*, sont consignées dans le photo 11.



**Photo 11** : Aromatogramme des souches testées avec les HEs de *Peganum Harmala L.*



**Figure 33** : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition (mm).

Au vu la photo 11 et la figure 33, elles ressortent que les résultats d'activité antimicrobienne des HEs des feuilles et des graines de *Peganum Harmala l* sur les 5 souches testées est :

***Escherichia coli* :**

Aucune activité antibactérienne n'est constatée pour les HEs des feuilles et des graines sur cette souche bactérienne.

***Klebsiella pneumonie* :**

Chez cette souche bactérienne, aucune activité n'est observée, la croissance bactérienne est dans le normal, des colonies de cette souche sont observée après incubation pendant 24 heures à la présence des disques imprégnés dans les HEs de *Peganum Harmala L.*

***Staphylococcus aureus* :**

Quelque soit le HEs, aucune zone d'inhibition est marquée, de ce fait ces HEs testés ne présentent aucune activité sur cette souche.

***Pseudomonas aeruginosa* :**

concernant cette souche bactérienne, aucune trace d'inhibition n'est observée autour des disques imbibés de deux HEs , cela laisse ressortir que cette spèce bactérienne n'est guère sensible à ces deux HEs des feuilles et des graines de *Peganum Harmala L.*

***Condida albicans* :**

Les deux HEs testées n'exercent aucun effet sur cette souche. Aucune trace d'inhibition n'est observée.

Les résultats ci-dessus concernant l'activité antimicrobienne « in vitro » obtenue à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose (aromatogramme) montrent que l'activité antibactérienne des HEs testées est en fonction de la bactérie cible. Il s'est avéré qu'aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée vis-à-vis de *Escherichia coli*, *klebsiella pneumonie*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Ces bactéries possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne des HEs de *Peganum Harmala l*. la levure *Candida* possède aussi une résistance contre les HEs testées.

L'absence de zone d'inhibition est due préalablement à la résistance des ces souches ou à la dégradation des huiles essentielles a l'effet de température ou a notre conditions expérimentales tels que la faible concentration utilisé, le faible rendement résulte de notre extraction et le nombre limité des souches testées...

Contrairement à nos résultats, plusieurs auteurs ont démontré que les bactéries à Gram (-) peuvent êtres sensibles à l'action des HEs. MOREIRA et al. (2005), ont montré que l'H.E de *C. limonum* était efficace contre 3 souches d'*E. coli* avec des diamètres des halos d'inhibition variant de 9 à 12 mm. Et d'après KALEMBA et KUNICKA (2003), la sensibilité d'un microorganisme aux HEs dépend des propriétés de l'HE et le microorganisme lui-même. Il est bien connu que les bactéries à Gram (+) sont plus sensibles aux HEs que les bactéries à Gram (-). Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HEs confirment ce phénomène (POOLE, 2001; BURT, 2004; BEKHECHI et al., 2008).

A l'inverse, CELIKEL et KAVAS (2008) ont souligné, que l'action des HEs volatiles a peu d'influence sur l'inhibition de la croissance des bactéries à Gram (-) et Gram (+). Cependant, quelques HEs semblent être plus spécifiques, et exercent une importante activité inhibitrice contre les bactéries à Gram (+) que sur Gram (-). Les mécanismes d'action des HEs et leur sélectivité envers certaines bactéries restent jusqu'à présent mal élucidés.

# Conclusion Générale :

Au cours de ce travail, il est étudié l'activité biologique de *Peganum Harmala L.* Cette plante est largement utilisée en médecine traditionnelle. Nous avons tenté de contribuer à une étude de son activité antimicrobienne.

La plante *Peganum Harmala L* récoltée d'Oued de Metlili (région de Ghardaïa) a été soumise à une extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.

Les huiles essentielles des feuilles et des graines de *Peganum Harmala L* ont un rendement faible et très différent entre les deux organes au les feuilles donne un meilleur rendement comparativement à celle des graines.

Les testes biologiques effectués dans ce travail ont montré que l'effet antimicrobien de la plante *Peganum Harmala L* sur les différentes souches testés, est significatif pour toutes les souches, qui possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antimicrobienne de notre extrait même des diffères sources (les feuilles et les graines).

Donc l'absence de zone d'inhibition est due préalablement à la résistance des ces souches ou à la dégradation des huiles essentielles a l'effet de température ou a notre conditions expérimentales tels que la faible concentration utilisé, le faible rendement résulte de notre extraction et le nombre limité des souches testées...

Afin mieux étudier l'activité biologique des huiles essentielles de cette plante:

- Il serait intéressant de réaliser d'autres techniques d'extraction comme l'entraînement à la vapeur d'eau ou Extraction assistée par micro-ondes ou par Soxhlet...
- Il serait intéressant de d'augmenter le nombre des souches testées et la concentration des HEs impliquées sur les disques d'inhibitions.
- Il serait intéressant de purifier et de déterminer le principe actif de *Peganum Harmala l* et faire d'autres conditions de l'étude de l'effet antimicrobien et plutôt d'autres testes biologiques non relative à l'effet antimicrobien tel que l'activité antioxydante...etc

# Annexe

## Glossaire des termes utilisés :

**Acaricide:** Qui détruit les acariens.

**Analgésique:** Qui calme ou atténue les douleurs.

**Antibactérien:** Qui s'oppose au développement des bactéries.

**Antibiotique:** Qui s'oppose au développement.

**Antibiogramme:** Résultat de l'étude de la sensibilité d'un microbe au divers antibiotique.

**Anticatarrhale:** Qui atténue les sécrétions des muqueuses.

**Antifongique:** Qui empêche l'évolution des champignons ou les détruit.

**Antimicrobien:** Inhibe et détruit les microbes.

**Antioxydant:** Permet aux aliments de résister à l'oxydation et à une détérioration graduelle.

**Anti-infectieux:** Qui agit contre les maladies infectieuses et les infections d'une manière général.

**Antinévralgique:** Qui calme des douleurs névralgiques.

**Antiparasitaire:** Qui détruit les parasites.

**Antirhumatismale:** Qui calme les douleurs rhumatismales.

**Aromate:** Tout parfum d'origine végétale utilise en médecine, en parfumerie ou en cuisine.

**Arôme:** Odeur qui s'exhale de certaines substances végétales.

**Antiseptique:** Qui détruit des microbes et empêche leur développement.

**Antispasmodique:** Qui agit contre les spasmes, les convulsions, les crampes ect.

**Bronchites:** Inflammation des bronches.

**Calmant:** Qui apaise, atténue les douleurs et l'excitation nerveuse ou les fait disparaître.

**Cicatrisant:** Qui favorise la cicatrisation des plaies.

**Infection:** Est considérée comme telle lorsqu'elle était absente au moment de l'admission du patient.

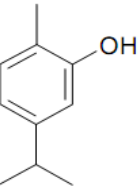
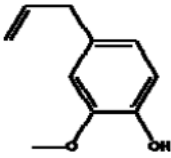
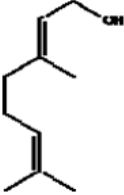
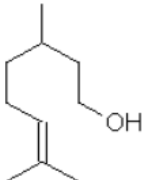
**Infections nosocomiales:** Sont les infections qui sont contractées dans un établissement de soins.

**Infusion:** Liquide dans lequel on a mis une plante aromatique à macérer à chaud.

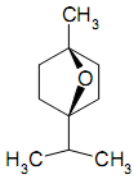
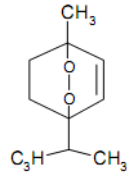
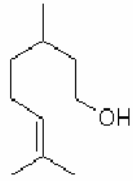
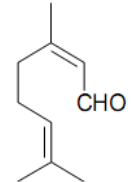
**Stimulant:** Excitant des fonctions organiques et, ou psychique, généralement d'effet passager.

**Totume:** Ensemble des constituants d'une plante qui aboutit sur une valeur associative appelée synergie.

**Volatil:** Qui tend à s'évaporer facilement.

Composés aromatiques	Formules développées	Caractères physico chimiques	Teneur dans quelques plantes	Propriétés
<b>Phénols</b>	Exemples  <b>Carvacrol</b> (No. CAS 499-75-2)	Densité : 0.98g/ml  PM : 150.2	<b>Thym</b> ( <i>T. vulgaris</i> ) 33% [19] <b>Origan</b> ( <i>origanum vulgare</i> ) 76% [20]	Stimulantes, Toniques Antiseptiques Bactéricides Fongicides Anti-virale Antiparasitaires Irritantes
	 <b>Eugénol</b> (No. CAS 97-53-0)	Densité : 1.07g/ml  PM: 164.2	<b>Girofle</b> ( <i>S. aromaticum</i> ) 82% [19] <b>Bay St Thomas</b> ( <i>P. racemosa</i> ) 60% [19] <b>Poivre</b> ( <i>P. dioica</i> ) 54% [21]	Stimulantes, Toniques Antiseptiques Bactéricides Fongicides Anti-virale Antiparasitaires Irritantes
<b>Alcools Terpéniques</b>	Exemples  <b>Géranol</b> (No. CAS 106-24-1)	Densité : 0.88g/ml  PM : 154.3	<b>Palmarosa</b> ( <i>C. martinii</i> ) 75-95% [22] ( <i>C. helichrysum spp.</i> ) 80-90% [23]	Anti-inflammatoire Antiseptiques, Bactéricides, Fongicides, Anti-virale, Neurotoniques
	 <b>Citronellol</b> (No. CAS 106-22-9)	Densité : 0.86 g/ml  PM : 156,3	<b>Citronelle</b> ( <i>C. winterianus</i> ) 11-15% [24] ( <i>C. nardus</i> ) 10-20% [26]	



<p><i>Ether-oxides, peroxydes,</i></p>	<p>Exemple :</p>  <p><b>Cinéole</b> (No. CAS 470-82-6)</p>  <p><b>Ascaridole</b> (No. CAS 512-85-6)</p>	<p>Densité : 0,92 g/ml</p> <p>PM : 154,2</p> <p>Densité : 1,01 g/ml</p> <p>PM : 168,2</p>	<p><b>Eucalyptus</b> (<i>Eucalyptus globulus</i>) 56% [29]</p> <p><b>Epazote</b> (<i>Ch. Ambrosiodes</i>) 61% [30]</p>	<p>Antibactériens Antifongiques Insecticides L'ascaridole est fortement réactif et toxique (par la liaison -O-O-)</p>
<p><i>Aldéhydes Terpéniques</i></p>	<p>Exemples :</p>  <p><b>Citronellal</b> (No. CAS 106-23-0)</p>  <p><b>Citral</b> (No. CAS 5392-40-5)</p>	<p>Densité : 0,89 g/ml</p> <p>PM : 154,30</p> <p>Densité : 0,89 g/ml</p> <p>PM : 154,3 :</p>	<p><b>Citronelle</b> (<i>C. winterianus</i>) 35-45% [24]</p> <p><b>Eucalyptus citronne</b> (<i>E. Citriodora</i>) 90% [27]</p> <p><b>Lemongrass</b> (<i>C. citratus</i>) 70-80% [22]</p> <p><b>Mélisse citronnée</b> (<i>M. officinale</i>) 50% [28]</p>	<p>Antifongiques, Sporicidas, Toxicité liée à la présence du groupe aldéhyde Insecticide</p> <p>Antifongiques Sporicidas, Toxicité liée à la présence du groupe aldéhyde Insecticide</p>

**Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur fonction chimique (HERNANDEZ ; 2005)**

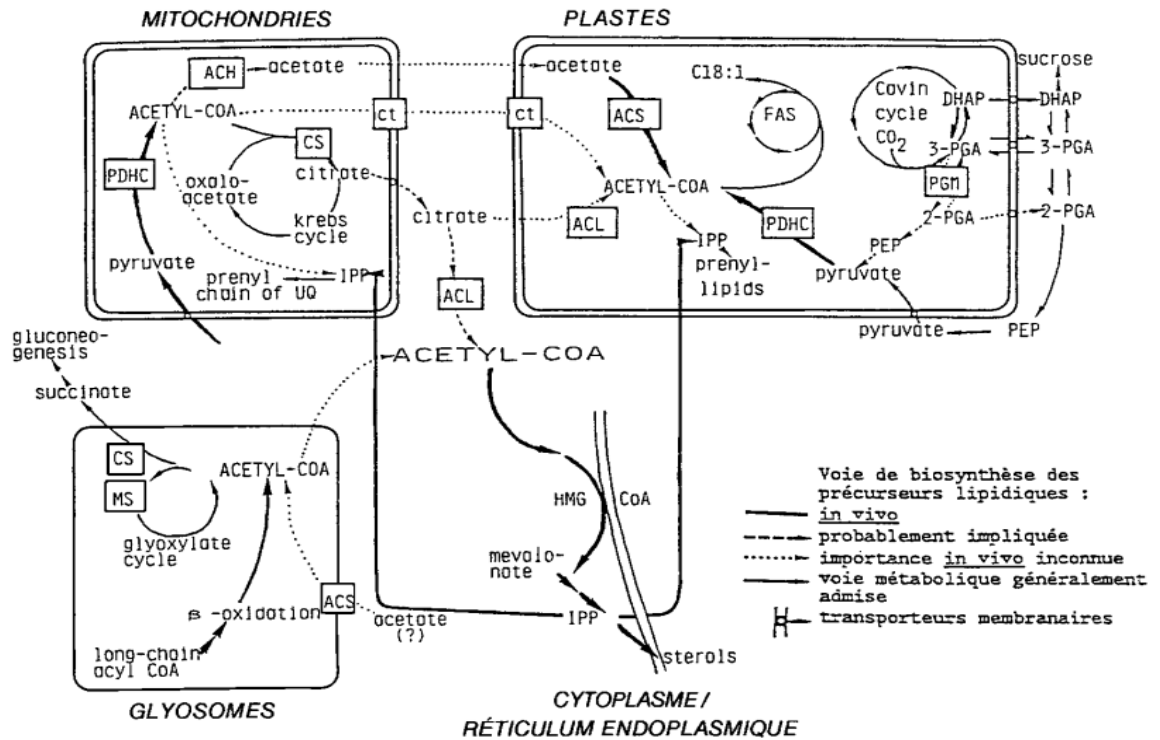


Fig. 1 : Origine et utilisation de l'acétyl CoA dans une cellule végétale (Liedvogel ;1986)

- ACH : acétyl CoA hydroxylase
- IPP : diphosphate d'isopentényle
- ACL : ATP citrate lyase
- MS : malate synthétase
- ACS : acétyl CoA synthétase
- PDH : pyruvate déshydrogénase
- CS : citrate synthétase
- PEP : phosphoénolpyruvate
- ct : carnitine acétyltransférerase
- 2-PGA : 2-phosphoglycérate
- DHAP : dihydroxyacétonephosphate
- 3-PGA : 3-phosphoglycérate
- FAS : 'fatty acid synthesizing system'
- PGM : phosphoglycérmutase
- HMG CoA :  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -méthylglutaryl CoA

## Composition des milieux de culture

### utilisés:

#### **Milieu Muller Hinton gélosé : pour un litre**

Infusion de viande bovine	02.0g
Hydrolysate acide de caséine	17.5g
Amidon soluble	01.5g
Agar agar	15.0g

Autoclaver 20 minutes à 115°C

#### **Gélose nutritive : pour un litre**

Tryptone	10g
Extrait de viande	05g
NaCl	05g
Agar agar	15g

Autoclaver 20 minutes à 121°C