

N° Ref :.....

Centre Universitaire de Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département de sciences de la nature et de la vie

Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master
en: Filière Biologie
Spécialité Biologie végétale

Option biotechnologie végétale et amélioration des plantes.

Thème

Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de trois variétés appartenant de l'espèce *Allium Cépa L.*

Préparé par : MAHMOUD .W

ZOUAK .KH

Soutenue devant le jury:

Président: M^{me} Ben makhlouf. Z

Grade: Maitre-assistant A

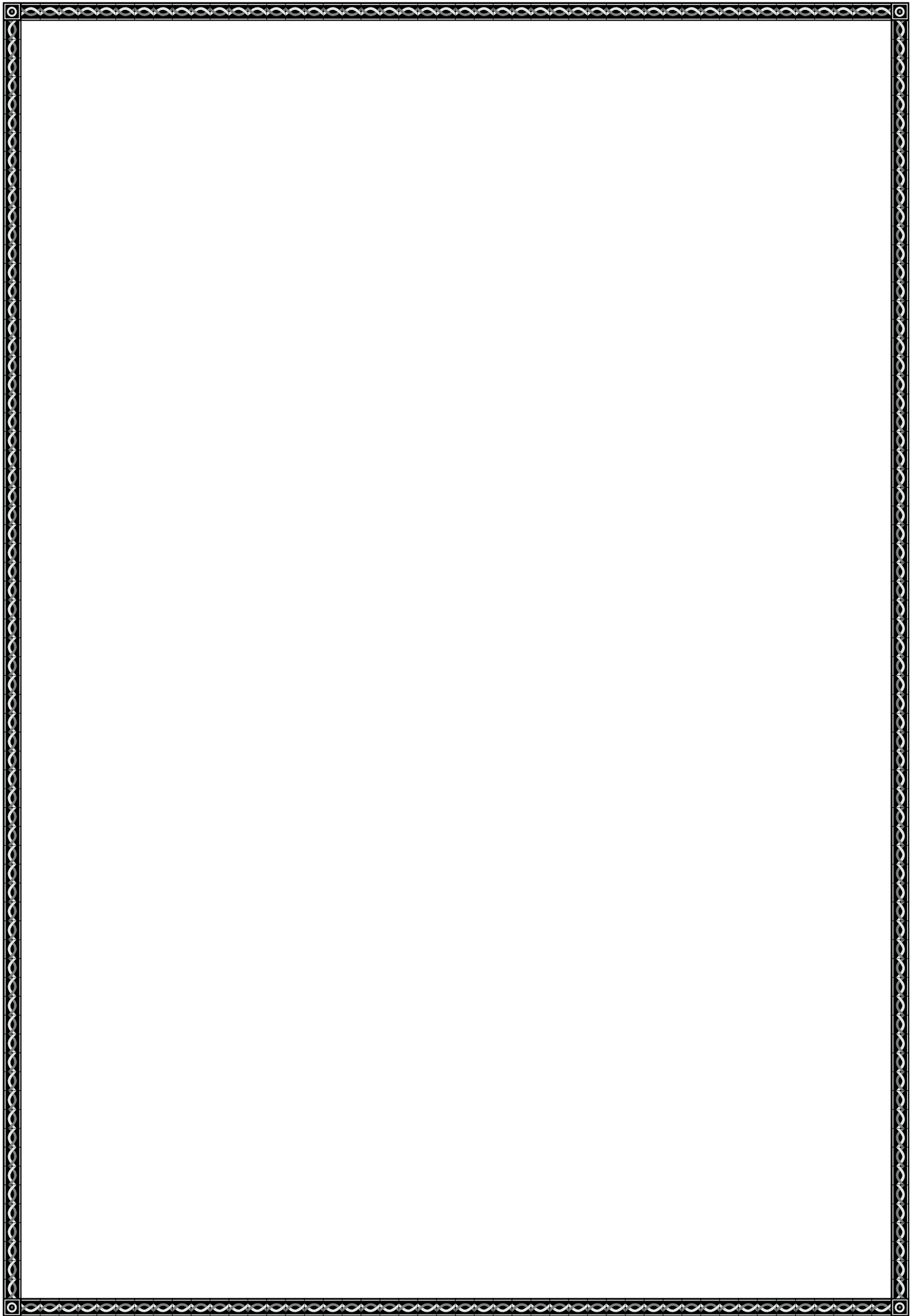
Examineur: M^{me} Himour. S

Grade: Maitre-assistant A

Promoteur: M^{me} Boukaria. S

Grade: Maitre-assistant A

Année universitaire : 2013/2014



Remerciement

*Nous tenons à remercier le bon dieu qui nous a donné la force, la patience,
le courage, la santé pour pouvoir terminer ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et notre remerciement pour
nos*

*Enseignants du département de science de la nature et de la vie pendant la
période
Universitaire.*

*Nous remercions notre encadreur le professeur Boukaria. S, pour ses conseils
précieux,*

*Ses critiques et ses directions qui nous ont donné le plaisir de travailler
assidument.*

*Nous remercions tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation
de
Ce mémoire.*

*Enfin nous exprimons notre profonde gratitude pour nos familles et surtout nos
Parents pour leur patience et leur soutien sans oublier tous nos amis. Ce
modeste*

Travail leur est dédié.



Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

*Mes très parents : **Lakhadr** et **Nouara** et pour leurs
amours.*

*Mes sœurs : **Messaouda**, **Sabah**, **Souad***

*Mes frères : **Kamal**, **Ammar**, **Hassan**, **Aissa**, **Karim***

*Mes chers amis : **Souad**, **Siham**, **Roukaya**, **Samiha**,
Khaoula, **Wafa**.*

Tous mes amis d'étude

*A toute la famille : **Mahmoud** et **Chrite**.*

Wissam

Dédicace

Je Dédie ce modeste travail à

*Mes chers parents **Fatima** et **laïd**, pour leur endurance et
leur Sacrifices sans limites*

*Mes frères : **Atef**, **Abdallah**, **Abdelhak**, **Oussama** et sœur
Mounira, en reconnaissance de leur affection*

Toujours constante Tous mes proches

*Mes amis : **Siham**, **Nassira**, **Roukaya**, **Ismahane**, **Hassan**,
Wafa.*

*Mon camarade de promotion : **Wissam***

Tous mes enseignants

*Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire :
Pr. **Mohamed Zouari**.*

Khaoula

Sommaire



Sommaire

Introduction

Page

CHAPITRE I: Les Plantes Médicinales

I.1. Généralité sur les plantes médicinales.....	01
I .2. Définition.....	01
I.3. Mode d’obtention et récolte.....	02
I.4. Nature de la dessiccation.....	02
I.5. Conservation des plantes médicinales.....	02
I.6. La familles de liliacées.....	03
I.7. L’espèce Allium cépa L (l’oignon).....	03
I.7.1. Classification.....	03
I.7.2. Description.....	04
I.7.3. Composition chimique.....	04
I.7.4. Quelques variétés d’oignon.....	06
I.7.4.1. Oignon pâle commun.....	06
I.7.4.2. Oignon rouge commun	06
I.7.4.3. Oignon blanc d’Espagne.....	06
I.7.4.4. Oignon long blanc.....	06
I.7.5. Propriétés pharmacologiques et emplois.....	06
I.7.6. Rendement.....	07
I.7.7. Récolte-conservation.....	07

I.7.8. Extraction.....	08
------------------------	----

CHAPITRE II: Les Huiles essentielles

II.1. Définition.....	09
II.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante.....	09
II.3. Propriété physiques.....	10
II.4. Rôle physiologique.....	10
II.5. Composition chimique.....	10
II.5.1. terpénoïdes	11
II.5.1.1. Les monoterpènes.....	11
II.5.1.2. Les sesquiterpènes.....	11
II.5.2. Composés aromatiques.....	12
II.6. Facteurs influençant la composition chimique.....	13
II.7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	13
II.7.1. La technique de la pression.....	14
II.7.2. Extraction par les solvants et par les graisses.....	14
II.7.3. Distillation.....	15
II.7.3.1. L'hydrodistillation.....	15
II.7.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau (ou vapo-hydrodistillation).....	16
II.7.3.3. Distillation à la vapeur directe: «générateur séparé» ou «vapodistillation».....	17
II.7.4. Autres procédés d'extraction.....	17
II.7.4.1. Hydrodiffusion.....	17
II.7.4.2. Extraction assistée par micro-ondes.....	17

II.7.4.3. Extraction à l'eau surchauffée.....	18
II.8. Qualité et rendement des huiles essentielles.....	18
II.9. Utilisation des huiles essentielles.....	19
II.9.1. En pharmacie.....	19
II.9.2. Dans l'industrie.....	19
II.9.2.1. Parfumerie et cosmétologie.....	19
II.9.2.2. Alimentation.....	19
II.10. Conservation des huiles essentielles.....	19
II.11. Toxicité des huiles essentielles.....	20
II.12. Fonction biologique des huiles essentielles.....	20
II.13. Action des huiles essentielles.....	21
II.14. Activité antibactérienne.....	21
II.14.1. Activité liée à la composition chimique.....	22
II.14.2. Mécanismes d'action antibactérienne.....	22
II.14.3. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne.....	23
II.14.4. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne.....	24

CHAPITRE III: Matériels et Méthodes

III.1. Matériel.....	25
III.1.1. Matériel végétal.....	25
III.1.2. Souche bactérienne.....	25
III.1.3. Milieux de culture.....	26
III.2. Méthodes.....	26
III.2.1. Préparation de l'échantillon.....	26

III.2.2. Procédé d'extraction	27
III.2.2.1. Calcul de rendement.....	28
III.2.3. Tests de l'activité antibactérienne.....	29
III.2.3.1. Préparation de l'inoculum.....	29
III.2.3.2. L'ensemencement.....	29
III.2.3.3. Préparation des disques d'aromatogramme.....	30
III.2.3.4. Lecture	30
III.2.3.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	31
III.2.3.5.1. Préparation de la gamme de dilutions.....	31

Résultats et Discussion

III.1. Extraction des huiles essentielles.....	33
III.1.1. Rendement en huile essentielle.....	33
III.2. Activité antibactérienne.....	35
III.2.1. Test de l'aromatogramme.....	35
III.2.2. Concentration minimales inhibitrices (CMIs).....	38

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Tableau 01: l'origine des souches testées.....	26
Tableau 02: Valeurs des dilutions utilisées pour détermination les CMIs.....	32
Tableau 03: Rendement des H.Es de trois variétés d'oignon.....	34
Tableau 04: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des H.Es de trois variétés d'oignon.....	37
Tableau 05: Les valeurs des CMIs des H.Es testées sur <i>S. aureus</i>	38

Liste des figures	Pages
Figure 01: Exemples de structures de monoterpènes.....	11
Figure 02: Exemples de structures de sesquiterpène.....	12
Figure 03: Exemples de structures de composés aromatiques.....	13
Figure 04: Schéma d'un montage d'hydrodistillation.....	16
Figure 05: Les trois variétés d'oignon a: Rouge locale b: Rouge d'amposta c: Jaune d'Espagne.....	25
Figure 06: Préparation de l'échantillon.....	27
Figure 07: montage d'hydrodistillation utilisé dans l'extraction des huiles essentielles d'oignon.....	28
Figure 08: Matériel utilisé pour l'ensemencement par écouvillonnage pince, écouvillon, disques stériles, milieu de culture en boîtes de pétri.....	31
Figure 09: Les H.Es de trois variétés d'oignon a: Rouge d'amposta b: Rouge locale c: Jaune d'Espagne.....	33
Figure 10: pourcentage en H.Es obtenus pour () Rouge d'amposta, () Jaune d'Espagne, () Rouge locale par la technique d'hydrodistillation.....	34
Figure 11: zones d'inhibition des huiles essentielles de la Rouge locale et Jaune d'Espagne et Rouge d'amposta, des souches a: <i>S. aureus</i> . b: <i>P. aeruginosa</i> . c: <i>K. pneumoniae</i> . d: <i>E. coli</i>	36
Figure 12: photos montrant la CMI = 25% et 50% de l'H.E de a: Rouge d'amposta b: Jaune d'Espagne vis-à-vis de <i>s. aureus</i>	39

HE: Huile essentielle.

HD: Hydrodistillation.

MH: Muller Hinton.

GN: Gélose Nutritive.

BN: Bouillon Nutritive.

CMI: concentration minimale inhibitrice.

ATCC: American Type Culture Collection.

Do: densités optiques.

DMSO: Diméthylsulfoxyde.

CHU: Centre l'hôpital Universitaire

Introduction



Les plantes médicinales sont utilisées depuis longtemps comme remède contre plusieurs maladies, elles constituent une source naturelle de molécules chimiques telles que les métabolites secondaires qui représentent une variété très large de composés organiques sans fonction directe dans la croissance et le développement des plantes (**Khenaka, 2011**).

Les infections microbiennes restent des affections graves et leur fréquence a augmenté de façon considérable au cours des dernières années en raison principalement du nombre accru de patients immunodéprimés et d'interventions médicochirurgicales invasives. D'un autre côté, l'usage extensif des agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine ainsi que dans les élevages animaux conduit à la sélection de souches microbiennes résistantes, d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments (**Mebarki, 2010**). Ainsi, les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de propriétés antimicrobiennes les rendant intéressants comme produits de remplacement des antibiotiques pour la manipulation de la fermentation dans le rumen. Ce sont des composés volatils naturels qui confèrent aux plantes et, notamment, aux herbes et aux épices, leurs essences (**Khenaka, 2011**).

Dans cette étude, nous avons divisé ce travail en trois chapitres:

Le premier chapitre est consacré aux généralités sur les plantes médicinales, inclus: la définition, conservation des plantes médicinales, classification, description et composition chimique d'*Allium cépa L* (oignon).

Le deuxième chapitre, englobe des généralités sur les huiles essentielles: définition, localisation, compositions chimique, méthodes d'extraction HE et leur activité antibactérienne.

Le troisième chapitre est consacré au travail personnel consistant en l'extraction, expose l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de cette plante, d'explications rationnelles aux résultats obtenus et le rôle des huiles essentielles connus pour leur pouvoir antibactérien.

Enfin une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Chapitre I





I.1. Généralité sur les plantes médicinales

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies et originaire des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, indienne et du Proche-Orient. Elle est devenue certainement un art. Au fil des siècles, la thérapeutique par les plantes s'est dissociée des pratiques magiques pour devenir empirique puis scientifique. Cela était évident au début de 19^{ème} siècle qui marque la découverte des alcaloïdes (la morphine, la strychnine, quinine...). Dans les pays industrialisés, les recherches dans le domaine des plantes médicinales durant les dernières décennies. Néanmoins, les substances actives isolées constituent environ 25% des préparations médicamenteuses (**Benkiki, 2006**).

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. Cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection de boissons, soit nature, soit en préparation galéniques, soit encore sous forme de principes actifs, comme matière pour l'obtention de médicaments (**Babulka, 2007**).

I.2. Définition

La matière médicale, « **Materia Medica** », est, à l'origine, l'étude de toutes les matières premières naturelles à usage médical. Actuellement encore appelée pharmacognosie, elle est le plus souvent limitée aux produits bruts d'origine végétal (**Paris et Hurabielle, 1981**).

En dehors des plantes strictement médicinales, elle étudie aussi:

- Les plantes toxiques.
- Certains végétaux alimentaires, comme les plantes à caféine et les épices à propriétés physiologiques marquées, les huiles végétales utilisées en diététique, les fruits riches en vitamines.
- Les plantes à usage surtout industriel, mais ayant quelques applications en pharmacie: plantes à fibres (cotonnier, chanvre, lin), plantes oléagineuses



(Arachide, Ricin, Soja), plantes à parfums (Lavande, Rose, etc....) (**Paris et Hurabielle, 1981**).

I.3. Mode d'obtention et récolte

Des études scientifiques ont permis de définir le moment optimal de la récolte. Ainsi, sont récoltées de préférence:

- Les racines au moment du repos végétatif (automne, hiver);
- Les parties aériennes, le plus souvent au moment de la floraison;
- Les feuilles justes avant la floraison;
- Les fleurs à leur plein épanouissement, voir en bouton (aubépine);
- Les graines, lorsqu'elles ont perdu la majeure partie de leur humidité naturelle (**Anton, 1999**).

I.4. Nature de la dessiccation

Pour assurer une bonne conservation, c'est-à-dire favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique après la récolte, éviter la dégradation de certains constituants ainsi que la prolifération bactérienne, le séchage apparaît comme un élément primordial.

Les techniques de dessiccation sont diverses:

- au soleil et à l'air libre pour les écorces et les racines;
- à l'abri d'une lumière trop vive pour les fleurs, afin d'éviter une modification de leur aspect, et parfois leur activité (huiles essentielles);
- avec une température de séchage bien choisie, car la composition chimique peut varier selon les conditions (**Anton, 1999**).

I.5. Conservation des plantes médicinales

Les plantes médicinales, rarement utilisées à l'état frais, doivent être conservées dans de bonnes conditions. Or, une fois récoltée, la plante se fane et meurt; apparaissent alors des processus de dégradations souvent préjudiciables à l'activité thérapeutique des plantes.

Les principes actifs peuvent subir des hydrolyses (ex: hétérosides, alcaloïdes-esters), des oxydations et (ou) des polymérisations (tanins, composés terpéniques des H.Es), des isomérisations (alcaloïdes de l'ergot de seigle), des racémisations



(hyoscyamine)...aboutissant à une perte d'activité de la plante. Ces dégradations, de nature enzymatique, nécessitent la présence d'eau. Elles peuvent être évitées par différents moyens parmi lesquels:

- La dessiccation, qui a pour but d'inhiber l'action des enzymes par élimination d'eau.
- La stabilisation, qui vise à les détruire (**Paris et Hurabielle, 1981**).

I.6. La familles de liliacées

Liliacées, Liliaceae: famille naturelle des plantes de la tribu des monocotyledones, de la troisième classe de Jussieu (monocotylédones périgynes), et de l'hexandrie monogynie de Linné.

Sous le nom de liliacées, donné par Tournefort à l'une de ses classes, il comprenait beaucoup des plantes qui forment aujourd'hui des familles particulières, telles que les narcissoides, les iridées, les colchicacées, etc. toutes ces plantes ont en effet, entre elles de très grands rapports, et leur ensemble forme le groupe le plus brillant de tout le règne végétal. Noblesse, élégance et pureté des formes, éclat et variété des couleurs, délices du parfum, la nature, d'une main prodigue, s'est plus à répandre tous ses dons sur cette belle famille (**Huileme, 1818**).

I.7. l'espèce *Allium cepa* L (l'oignon)

I.7.1. Classification: (Hans, 2007).

Royaume:	Plante
Sous royaume:	Trachéophyte = plantes vasculaires
Embranchement:	Spermatophytes ou Phanérogames = plantes à graines
Sous embranchement:	Angiospermes = plantes à fleurs
Classe:	Monocotyledonae
Sous classe:	Liliidae
Ordre:	Liliales
Famille:	Liliaceae ou Liliacées
Genre:	<i>Allium</i>
Espèce:	<i>Allium cepa</i> L.
Nom commun:	Oignon



Nom en anglais: Onion

I.7.2. Description

Plante herbacée, glabre, d'environ 80 cm de haut (peut atteindre 1.2 m). Vivace par un bulbe volumineux, charnu, ordinairement simple, parfois avec des caïeux, arrondi plus ou moins déprimé ou ové, gros ou très gros, à tuniques membraneuses non lacérées, blanches, jaunes, rousse ou purpurin (pourpre) violacé. À tige florifère dressée et creuse, fortement renflée fusiforme. À feuilles généralement cylindriques d'un vert bleuâtre, creuses également, aiguës au sommet. Les fleurs (inflorescence), blanches ou rose-violacées, sont groupées en une très grosse ombelle, atteignant 10 cm de diamètre, ronde sub-globuleuse munie de 2 à 4 bractées, elles sont recouvertes initialement par une spathe membraneuse. Péricarpe à 6 sépales pétaloïdes blanchâtres ou verdâtres en étoile soudées à la base et 6 étamines. Le fruit est une capsule, les graines noires $n = 8$ (**Benzeggouta, 2005**).

Originaire du Moyen Orient, spontané en Iran et dans quelques régions avoisinantes, l'oignon est parmi les plus anciens légumes que l'homme a connus, aujourd'hui cultivé partout dans le monde, comme légume et condiment grâce à son importance dans la cuisine et même en médecine naturelle. D'après ce qu'on connaît, le dernier repas que notre prophète avait mangé contenait de l'oignon (**Paul, 2001**).

Dans le cas de l'oignon commun, ses variétés sont regroupées en deux catégories selon que l'extérieure de leur bulbe est blanc ou coloré. La forme et la taille du bulbe varient selon la variété, de 2 à 20 cm, aplati, sphérique, piriforme, etc. En Algérie, de nombreuses variétés sont cultivées: doux, blanc ou jaune, rouge fort, hâtif, extra hâtif. L'oignon est caractérisé par son odeur et son goût fort, surtout lorsqu'il est écrasé ou coupé, en plus il stimule la lacrymation (**Benzeggouta, 2005**).

I.7.3. Composition chimique

Il a été isolé divers composés chimiques soufrés et non soufrés, du bulbe d'oignon, mais les composés soufrés sont les plus caractéristiques.

L'étude la plus ancienne sur l'oignon, concernait la distillation de son huile essentielle, c'est Semmler en 1892 qui a trouvé qu'elle est constituée surtout de sulfures organiques, et il a isolé le constituant majeur qui était un *disulfure*. En 1910 Kooper,



examinant le jus frais pressé de l'oignon commun, a identifié: *l'acide thiocianique* et *l'allyl thiocyanate*.

Après, viennent d'autres recherches sur l'oignon, mais les plus importantes sont celles de Wilkens en 1961 et de Virtanen la même année, Wilkens a postulé que le *facteur lacrymogène* est le *sulfoxyde de propènethial*.

Le finlandais Virtanen, a montré que le *sulfoxyde de propényl cystéine* qui est présent en quantité de 0.2 % par poids d'oignon est le précurseur du facteur lacrymogène. C'est *l'isoalliine*, l'isomère de *l'alliine*, sous l'action de l'alliinase donne le facteur lacrymogène.

Globalement, le bulbe d'oignon frais renferme des fructanes de faible degré de polymérisation (10 à 40 %), et des polysaccharides hétérogènes, des flavonoïdes, des saponosides, des stérols, vitamines (A, C, B1 et B2), pectine, anthocyanines et plusieurs composés soufrés "*labiles*", qui sont: trans-S-(1-propényl) cystéine sulfoxyde (précurseur du facteur lacrymogène), S-méthyl cystéine sulfoxyde, S-propyl cystéine sulfoxyde (ces trois composés sont des amino acides soufrés non protéiniques du métabolisme secondaire) et la cycloalliine. A l'exception de cette dernière, ces cystéines sulfoxydes sont convertis à d'autres composés plus simples, sous l'action de l'enzyme alliinase - présente dans le bulbe intact- lorsque l'oignon est coupé ou haché.

Alors il y a libération de l'acide pyruvique et des alkylthiosulfinates -composés simples- instables, parmi ces thiosulfinates: méthyl méthanethiosulfinate, alkyl (E)-1-propène thiosulfinate, propyl propanethiosulfinate, ces thiosulfinates avec le facteur lacrymogène contribuent au goût et arôme de l'oignon, qui subissent après un temps plus ou moins court, une décomposition (transformation) en sulfures: di-, tri-, tetrasulfures,... et autres constituants responsables de l'odeur de l'oignon spécialement méthyl propyl disulfure, méthyl propyl trisulfure et dipropyl trisulfure (**Benzeggouta, 2005**).

Il existe aussi des traces d'huile volatile: 5000 kg d'oignon ont été distillés pour donner 233 g d'huile: 0.005%. Elle est constituée essentiellement de composés soufrés, avec le *dipropyl disulfure* comme constituant majeur, mais ne contribuant pas à l'odeur (**Block, 1992**).



I.7.4. Quelques variétés d'oignon

I.7.4.1. Oignon pâle commun:

Cepa vulgaris tunicis pallidé purascentibus est un peu moins gros, plus aplati que la rouge, et d'un goût moins fort. Sa peau est d'un rouge pâle, il se conserve longtemps sa variété d'une jaune claire presque citron, *cepa vulgaris tunicis flavescentibus*, est de même forme et grosseur, plus doux. Et moins de garde.

I.7.4.2. Oignon rouge commun:

Cepa vulgaris floribus et tunicis perpurascentibus, Cet oignon le plus communément cultivé parce qu'il réunit l'avantage de la grosseur et celui de se conserver long-Temps. Est bien arrondi sur son diamètre et un peu aplati par les extrémités. Ses fleurs sont d'un rouge approchent du pourpre. La membrane de ses gaines est teintée de cette couleur.

I.7.4.3. Oignon blanc d'Espagne:

Cepa alba mascima turbinata, si cet oignon se conservait long temps, sa grosseur extraordinaire et sa douceur le feroient préférer à tous les autres il est de forme un peu turbinée ou allongée en pointe du côté des feuilles et du côté des racines.

I.7.4.4. Oignon long blanc:

Cepa alba cylindrica et sa variété rouge, forme un bulbe cylindrique longue de sept à huit pouces sur environ deux pouces de diamètre ils ne se trouvent que chez quelque curieux étant très difficiles sur le terrain (**liger et Bastien, 1798**).

I.7.5. Propriétés pharmacologiques et emplois

Etant un aliment majeur dans la cuisine, l'oignon ne peut perdre sa place dans la Phytothérapie, surtout que les anciens l'ont utilisé pour traiter plusieurs maladies (**Benzeggouta, 2005**).

La médecine populaire l'a longtemps utilisé en cas de furoncle, d'anthrax, de panaris, comme antispasmodique, carminatif, diurétique, expectorant, anthelminthique ... (**Paul, 2001**). Les écrits antiques médicaux montrent la propriété diurétique de l'oignon, qui est prouvée maintenant par la présence d'une forte proportion de fructosane (jusqu'à 40 %), mais, diurétique vrai ou stimulant l'élimination de l'eau.

Pour l'utilisation médicinale, il est préférable celui de couleur rouge et cru, pour sa richesse en composants volatils.

Cuit, il conserve merveilleusement ses vitamines et convient à tous, stimule l'appareil digestif, nettoie l'intestin, lutte contre embarras de matières mal digérées. Il prévient aussi bien la nervosité excessive, les insomnies, l'artériosclérose, l'hypertension et



certains cancers. Une cure d'oignon, pour les calculs des reins ou de la vessie, œdèmes, rétention d'urine, albuminurie, goutte ou rhumatisme. Il est très apte à provoquer l'élimination des toxines par sudation particulièrement en cas de maladies infectieuses.

Enfin, l'activité antimicrobienne de l'oignon et ses extraits, est connue depuis longtemps; le premier qui a noté cette activité des extraits d'oignon était Louis Pasteur en 1858 (**Benzeggouta, 2005**). Virtanen a étudié aussi en 1958 l'activité antibactérienne de l'oignon haché. Le jus est antimicrobien in vitro: bactériostatique et antifongique (**Bezanger-Beauquesne et al., 1990**), l'huile essentielle est antibactérienne et antifongique, ainsi que des extraits aqueux qui ont montré une faible activité antimicrobienne par rapport aux extraits aqueux de l'ail. L'effet antimicrobien du méthyl méthane thiosulfinate, propyl propanethiosulfinate et les thiosulfinate trouvés dans les extraits d'oignon, est plus faible que celui de l'allicine (**Benzeggouta, 2005**).

I.7.6. Rendement

Certes les rendements, les revenus escomptés peuvent paraître séduisants au vu de résultats de champs de démonstration réalisés bien ailleurs, par d'autres personnes; on parle de potentiel de rendement. Après avoir passé tous les obstacles, le chiffre de 20 à 25 tonnes / ha doit serrer la réalité agricole (on peut entendre parler, on peut lire une potentialité de rendement de 80 t/ ha) (**Richard, 2005**).

I.7.7. Récolte-conservation

On peut être amené à récolter :

- en vert avec arrachage en début de bulbification.
- en sec -feuillage aux $\frac{3}{4}$ sec, coupe des feuilles à 15 - 20 cm au-dessus des bulbes.
- avec soulèvement des bulbes en terre fraîche.
- avec reprise des andains et chargement en terre sèche.

Le séchage et la conservation des bulbes sont des opérations longues et minutieuses ; en fait, 50 % du revenu d'une récolte en dépendent je ne détaillerai pas ces opérations dans cette monographie (**Richard, 2005**).

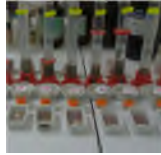


I.7.8. Extraction

L'oignon a ceci de semblable à l'ail que ce sont les cellules contusées qui mettent en présence l'enzyme aliinase et les précurseurs. Tout de suite il y a formation d'un composé volatil lacrymogène, le thiopropanal S-oxyde perçu par l'œil humain (que l'on évite en épluchant l'oignon avec une lame mouillée ou sous un film d'eau), puis de toute une famille de composés soufrés. Selon Richard, on extrait du bulbe 0.02% d'une huile essentielle jaune (**Richard, 2005**).

Chapitre II





II.1. Définition

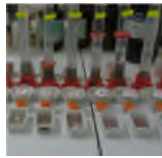
Les huiles essentielles sont définies comme étant des extraits volatils et odorants, que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qu'ils les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie: l'aromathérapie (**Bruneton, 1999**).

Belaïche (1979), signale qu'il faut différencier les huiles essentielles, des huiles fixes (huiles d'olives...etc.), ainsi que des graisses contenues dans les végétaux; seules sont volatiles les huiles essentielles, qui s'opposent par ce caractère, aux huiles fixes et aux graisses, dont elles diffèrent de plus par leur composition chimique et leurs caractéristiques physiques, elles sont fréquemment associées à d'autres substances, telles que des gommes et des résines, et tendent elles-mêmes à se résinifier par exposition à l'air.

II.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles peuvent être présentes dans les différentes parties des végétaux. Elles sont considérées comme des substances secondaires du métabolisme végétal. Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, souvent situées sur ou à proximité de la surface des tissus de plantes et recouvertes d'une cuticule. Ensuite elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (*lauraceae* ou *zingibéraceae*), dans des poils sécréteurs (*lamiaceae*), dans des poches sécrétrices (*myrtaceae* ou *rutaceae*) ou dans des canaux sécréteurs (*Apiaciaceae* ou *Asteraceae*).

Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux: les fleurs (ylang-ylang, bergamotier, rose,...), les sommités fleuries (tagète, lavande, ...), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier, ...), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma,...), les fruits (ainsi, badiane,...), le bois (bois de rose, santal,...) ou les graines (ambrette, muscade,...) (**Mebarki, 2010**).



II.3. Propriété physiques

Les huiles essentielles sont en générale liquides à température ambiante volatiles, d'odeurs très forte, incolores, jaunes pâles ou quelques fois bleues. Leur densités est < 1 sauf pour les huiles essentielles de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), cannelle (*cinnamomum zeylanicum*) et Sassafras (*sassafras albidum*). Elles sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants, les huiles et la vaseline; très altérables elles, s'oxydent au contact de l'air et de la lumières.

Le terme huile s'explique par la propriété de solubilité dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus au moins forte dégagée par la plante (Hellal, 2011).

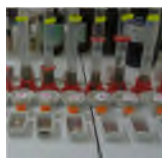
II.4. Rôle physiologique

Beaucoup des plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Les huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets « utiles » pour la plante: repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, comme source énergétiques, facilitant certaines réactions chimiques, permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques, réduction de la compétition des autres espèces des plantes par inhibition chimique de la germination des graines, par protection contre la flore microbienne infectieuse, action répulsive sur les prédateur par goût et effets défavorables (Hellal, 2011).

II.5. Composition chimique

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

Les constituants des huiles essentielles appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autres parts. Elles peuvent également renfermer divers



produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (Bekhechi et Abdelouahid, 2010).

Les principaux constituants des huiles essentielles sont les suivants:

II.5.1. terpénoïdes: Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono-et sesquiterpènes. On a vu précédemment comment la haute réactivité des espèces cationiques intermédiaires explique la variété structurale: plusieurs milliers de composés ont été décrits dans ces deux séries (Bruneton, 2009).

II.5.1.1. Les monoterpènes: Constituants les plus simples de la série, les monoterpènes sont issus du couplage de deux unités « isopréniques ». Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène). Ils constituent parfois plus de 90 % de l'huile essentielle (citrus...) (voir schéma: 01) (Bekhechi et Abdelouahid, 2010).

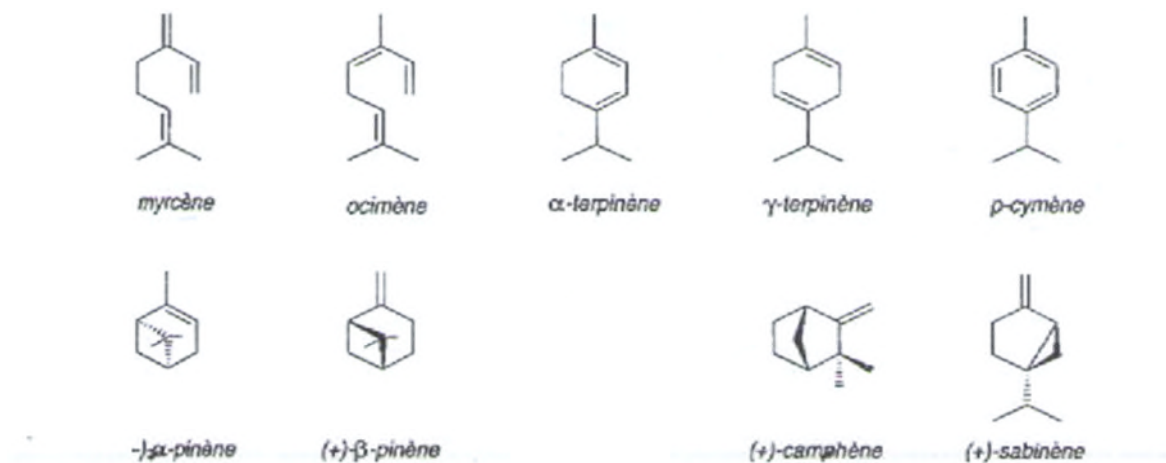


Figure 01: Exemples des structures des monoterpènes (Bekhechi et Abdelouahid, 2010).

II.5.1.2. Les sesquiterpènes: Un grand nombre de sesquiterpènes (voir schéma 02) sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs, ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles. Biologiquement, bon nombre de structures sesquiterpéniques sont des phytoalexines, d'autres semblent agir comme des régulateurs de croissance, d'autres enfin attirent les



insectes ou agissent à l'encour de ceux-ci comme des facteurs antinutritifs (Bruneton, 1999).

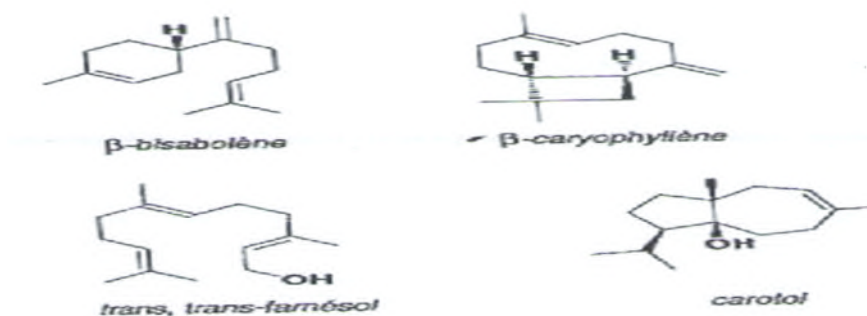


Figure 02: Exemples des structures des sesquiterpènes (Bekhechi et Abdelouahid, 2010).

II.5.2. Composés aromatiques: Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyl- et propénylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiaceae (anis, fenouil, persil, etc.: anéthole, anisaldéhyde, apiol, méthyl-chavicol « =estragole », etc.), mais aussi de celles de la girofle, de la muscade, de l'estragon, du basilic, de l'acore ou des cannelles (eugénol, safrole, asarones, cinnamaldéhyde, etc.). On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C_6-C_1 comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'anthranilate de méthyle. Les lactones dérivées des acides cinnamiques (c'est-à-dire les coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînables par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles (Bruneton, 2009).

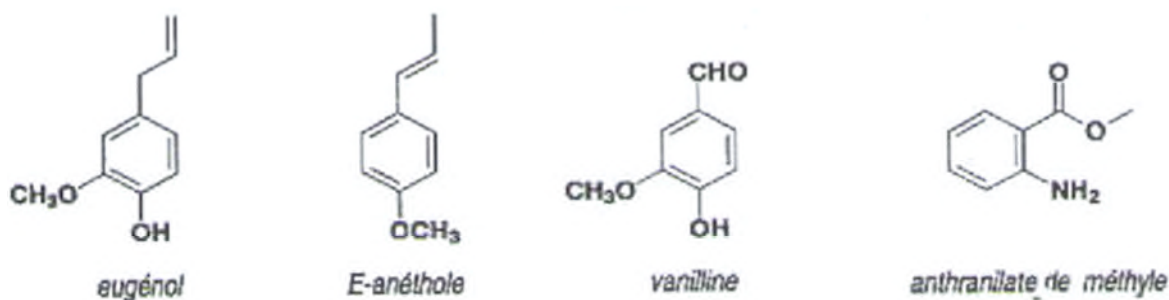
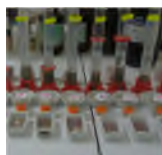


Figure 03: Exemple des structures des composés aromatiques (Bekhechi et Abdelouahid, 2010).

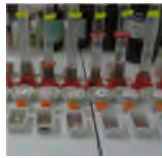
II.6. Facteurs influençant la composition chimique

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de huile essentielle: la température, le taux d'humidité la durée d'ensoleillement, la composition de sol, la partie de la plante utilisée, le cycle végétatif de la plante, la méthode utilisée pour l'extraction; sont d'autant de facteurs susceptibles d'exercer les modifications chimiques. Outre la composition, ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en huile essentielle, par exemple: les *citrus* ont une teneur importante en huile essentielle lorsque la température est élevée. Les fleurs de *chrysanthemum caronorum* sont riches en huile essentielle sous l'effet de fertilisants (Bruneton, 1999 ; Padrini et Lucheroni, 1996).

II.7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les essences ou huiles essentielles sont ce que les plantes produisent de plus précieux. Depuis les temps les plus reculés, les hommes se sont ingéniés à trouver des techniques d'extraction des essences des plantes afin de pouvoir les utiliser pour en faire des médicaments, des cosmétiques, des parfums (Padrini et Lucheroni, 1996).

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



Le choix du type d'extraction doit permettre de :

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

Ainsi, la méthode d'obtention des huiles essentielles intervient de façon déterminante dans le rendement en huile et dans sa composition (**Benjilali, 2004**).

Parmi les différents procédés d'extraction, nous citerons principalement:

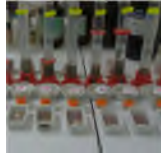
II.7.1. La technique de la pression

Peut être est-ce la plus ancienne: les Egyptiens utilisaient la pression à l'aide d'un sac pour extraire l'essence des pétales de fleurs. Cette méthode consistait à écraser les parties odorantes d'une plante fraîchement coupée puis à les enfermer dans un sac en lin que l'on tordait à l'aide de deux bâtons enfilés dans deux anneaux placés à l'extrémité du sac. L'essence filtrait à travers la toile et était recueillie dans un récipient placé en dessous (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

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

II.7.2. Extraction par les solvants et par les graisses

Certains procédés d'extraction ne permettent pas d'obtenir des huiles essentielles à proprement parler mais des concrètes. Il s'agit d'extraits de plantes obtenus au moyen de solvants non aqueux. Ces derniers peuvent être des solvants usuels utilisés en chimie organique (hexane, éther de pétrole) mais aussi des graisses, des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par des corps gras) ou même encore des gaz. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres. Dans le cas des extraits à l'aide de corps gras, un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. La solution alcoolique ainsi récoltée est refroidie jusqu'à -10°C pour en séparer



les cires végétales qui se solidifient. Après distillation de l'alcool, le produit obtenu est appelé « absolu » et sa composition se rapproche de celle d'une huile essentielle. L'extraction à l'aide négligeable lorsque l'extrait est destiné aux industries pharmaceutique et agro-alimentaire (**Bruneton, 1999 ; Marianne, 2008**).

II.7.3. Distillation

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile et elle se fonde sur la caractéristique que possèdent ces composantes qui peuvent être facilement transportée par des particules de vapeur d'eau en mouvement (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arôme du fait qu'elle produit des substances volatiles facilement analysables par chromatographie en phase gazeuse et exigeant une technologie relativement simple, donc un coût plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable (**Benjlali, 2004**).

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation, à l'exception des huiles essentielles d'hespéridés (citron, orange, etc.) et l'huile de cade (**Belaïche, 1979**).

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

II.7.3.1. L'hydrodistillation:

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

Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées. Parmi les huiles extraites par cette méthode, on cite l'huile de menthe, de myrte et de l'herbe à citron (**Bekhechi et Abdelouahid, 2010**).

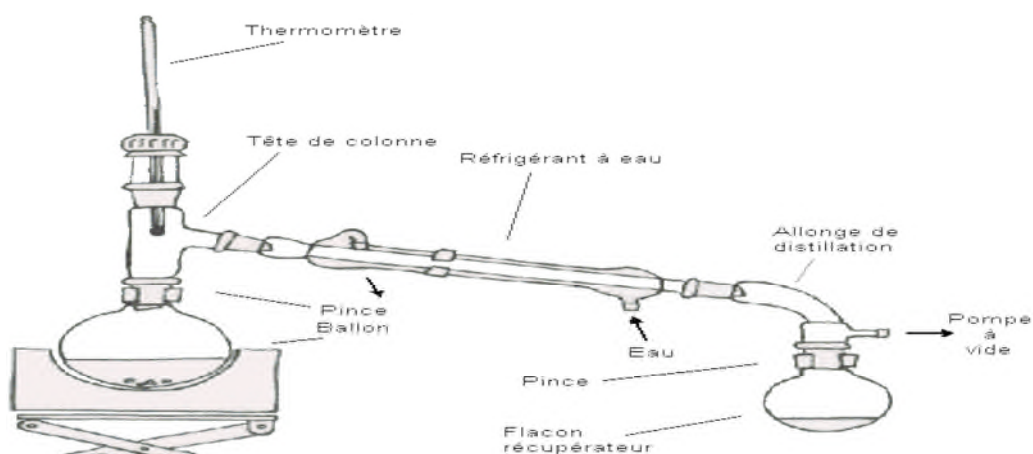
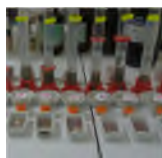
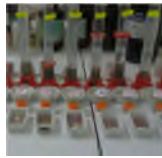


Figure 04: Schéma d'un montage d'hydrodistillation (Bekhechi et Abdelouahid, 2010).

II.7.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau (ou vapo-hydrodistillation):

Le matériel végétal, dans ce cas se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic. La partie inférieure de celui-ci est remplie d'eau. Le niveau de cette dernière doit permettre d'éviter tout contact entre l'eau et la plante (Benjilali, 2004). Les particules de vapeur d'eau, se dirigeant vers le haut, font éclater les cellules contenant l'essence et entraînent avec elle les molécules odorantes. La vapeur passe ensuite à travers un récipient réfrigérant où la température diminue, provoquant le détachement des molécules huileuses des particules de vapeur, qui se condense en eau. L'huile et l'eau se séparent du fait de leur poids spécifique différent: l'huile flottera sur l'eau car elle est plus légère. A travers un robinet on fait couler le distillat qui contiendra les composants hydrosolubles de l'essence (eau aromatique) et l'on obtient ainsi l'huile essentielle pure. Parfois, les huiles obtenues sont soumises à une distillation supplémentaire, appelée rectification, pour éliminer certaines substances particulièrement irritantes, comme c'est le cas pour le thym, ou bien elles sont redistillées à des températures différentes afin d'obtenir des constituants comme le camphre blanc (Padrini et Lucheroni, 1996). Il est à noter qu'il est possible de travailler en surpression modérée afin de raccourcir le temps de traitement, limiter l'altération des constituants de l'huile essentielle et d'économiser l'énergie (Bruneton, 1999).

La distillation exerce une action non négligeable sur les caractéristiques des huiles essentielles, et les réactions d'hydrolyse sont parmi les plus importantes. C'est ainsi que



qualitativement et quantitativement les huiles extraites par petites quantités au laboratoire sont différentes de celles obtenues industriellement (**Belaïche, 1979**).

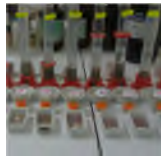
II.7.3.3. Distillation à la vapeur directe: « générateur séparé » ou « vapodistillation »: cette méthode à celle décrite précédemment, sauf que cette fois il n'y a pas d'eau au fond de l'alambic. La vapeur saturée ou surchauffée à pression généralement supérieure à la pression atmosphérique est introduite au fond de l'alambic par un système de conduite et traverse la masse végétale de bas en haut. La vapeur provient d'une chaudière indépendante (**Benjilali, 2004**).

Les huiles essentielles obtenues par distillation ne représentent jamais exactement l'arôme et le parfum existant naturellement dans la plante. L'extraction, deuxième technique d'obtention des extraits aromatiques, peut permettre de résoudre certains problèmes de la distillation (**Benjilali, 2004**).

II.7.4. Autres procédés d'extraction

II.7.4.1. Hydrodiffusion: Le principe de ce nouveau procédé consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas à travers le végétal disposé sur une grille à l'intérieure d'un parallélépipède métallique, ce qui permet une meilleure répartition de la charge. L'huile essentielle s'écoule vers un collecteur permettant un équilibrage de pression (**Legast et peyron, 1983**). La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie.

II.7.4.2. Extraction assistée par micro-ondes: Depuis quelques années, on assiste au développement de nouvelles technologies. C'est en particulier le cas de l'hydrodistillation par micro-ondes sous vide. Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle: l'huile essentielle est entraînée dans le mélange isotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (sans ajout d'eau pour les produits traités en frais). Très rapide et peu consommateur d'énergie le procédé livre un produit qui, le plus souvent, est de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (temps de travail divisé par 5 à 10 et température plus basse) (**Bruneton, 1999**).



De façon caractéristique, les micro-ondes génèrent un chauffage rapide et intense des substances polaires avec une réduction importante dans le temps de réaction, et dans la plupart des cas des rendements élevés (**Bekhechi et Abdelouahid, 2010**).

II.7.4.3. Extraction à l'eau surchauffée: Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée à une température entre 125 et 175°C sous pression. Il utilise de l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Cette cellule est maintenue à une pression d'environ 20 bars et à température constante dans une étuve. Ce procédé utilisé avec du romarin donne un rendement plus élevé en composés oxygénés que l'entraînement à la vapeur (**Bekhechi et Abdelouahid, 2010**).

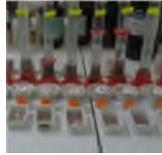
II.8. Qualité et rendement des huiles essentielles

La qualité des huiles essentielles dépend de plusieurs facteurs dont le procédé d'obtention, l'état de maturation, l'état de conservation et sa provenance. En effet, pour être pleinement efficaces, les plantes doivent provenir de lieux de culture favorables et avoir été cueillies, préparées et conservées avec soin. Tel n'est pourtant pas toujours le cas et l'on trouve donc souvent, dans le commerce, des huiles essentielles qui n'ont d'essentiel que le nom (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

Les teneurs en huiles essentielles sont généralement très faibles. Ainsi, le rendement peut varier de 1 à 10% c'est-à-dire que la quantité des huiles essentielles comme en toutes choses, doit obligatoirement se payer (**Valnet, 1984**). En effet, pour obtenir quelques grammes d'essence, il faut une grande quantité de végétaux. Par exemple, pour 100kg de plante, l'on obtient:

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

Pour des essences plus prisées, telles que celles de rose, de jasmin, ou de fleur d'oranger, le rendement est plus faible. Il faut au moins trente roses pour extraire une seule goutte



d'essence et mille kilogrammes de fleurs de jasmin pour en obtenir un litre (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

II.9. Utilisation des huiles essentielles

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tel que:

II.9.1. En pharmacie:

Les huiles essentielles peuvent être utilisées comme:

- L'aromatisation des médicaments destinées à la voie orale.
- Pour leurs actions physiologiques (Menthes, Verveine, Camomille).

II.9.2. Dans l'industrie:

II.9.2.1. Parfumerie et cosmétologie:

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles essentielles constituent des bases des parfums.

Exemples : Rose, Jasmine, Vétiver, Ylang-ylang, etc....

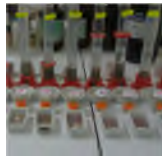
II.9.2.2. Alimentation:

Les huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie).

Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les progrès constants des différentes techniques de séparation et d'identification, demeure toujours une opération délicate nécessitant en œuvre simultanée ou successive de diverses techniques (**Hameurlaine, 2009**).

II.10. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont substances très délicates, et s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile. Les risques de dégradation sont multiples:



photoisomérisation, photocyclisation, coupure oxydative de propénylphénols, peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools (limonène) (**Bruneton, 1999**).

Ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté, à l'abri de la lumière et de la chaleur (**Bruneton, 1999; Valnet, 2000**).

II.11. Toxicité des huiles essentielles

Cet aspect de la connaissance des HE est d'autant plus important que le développement thérapeutique telles que l'aromathérapie (définie comme le traitement des maladies par les essences de plantes ainsi que connotations « produit naturel » attaché à ces produits conduisent à une utilisation souvent abusive.

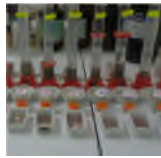
La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue; on manque aussi des données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes tératogènes ou cancérogènes.

On connaît par contre beaucoup mieux le risque de toxicité aiguë lié à une ingestion massive, en particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, tanaïs, sauge officinale) ou à pinocamphe (hysopé): ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation.

De telles intoxications ne sont pas exceptionnelles. D'autres monoterpènes sont également toxiques à doses fortes: camphre, menthol, (risque de spasme de glotte chez le jeune enfant), cinéole, E-anéthol. Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudente face aux pratiques telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des HE - Pures et à doses fortes- par voie orale et, a fortiori, en mélange (**Bruneton et Hameurlaine, 2009**).

II.12. Fonction biologique des huiles essentielles

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination, mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils



interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateurs (**Mebarki, 2010**).

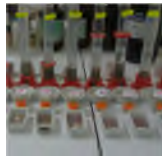
II.13. Action des huiles essentielles

Selon **Roulier** en **2005**, les arômes végétaux agissent sur notre organisme de plusieurs manières:

- Directement sur notre épiderme en favorisant, par activation de la microcirculation, la nutrition des tissus, la régénérescence cellulaire et l'élimination des déchets et toxines du métabolisme.
- Sur notre équilibre acido-basique.
- Sur notre équilibre nerveux, plusieurs familles de molécules aromatiques exercent un effet relaxant qui permet de diminuer les effets du stress.
- Sur notre énergie générale, action relaxante, action acidifiante.
- Au plus profond de notre inconscient, sur notre équilibre émotionnel, par l'odorat et par le cerveau limbique, la perception varie selon notre terrain biologique et culturel. Cet effet sur les parties les plus intimes de notre cerveau constitue la clé de l'étonnant pouvoir qu'exercent sur nous les molécules odoriférantes des huiles essentielles.

II.14. Activité antibactérienne

Les H.Es les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux *Labiatae*: origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques à H.Es riche en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparation. Le thymol et eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et, alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries: *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp*, *Helicobacter pylori* (**Hellal, 2011**).



II.14.1. Activité liée à la composition chimique

L'efficacité d'une H.E dépend de sa richesse en composés photochimiques, plus l'H.E est riche en substances actives, plus son activité est importante. L'activité biologique d'une H.E est liée à sa composition chimique, aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, les composés terpéniques cétoniques). Les composés minoritaires jouent aussi un rôle important dans l'activité des H.Es et semblent agir en synergie avec les composés principaux (**Zhiri, 2006**). Les composés chimiques qui ont d'efficacité et, à large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol, eugénol). Les alcools (α -terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et rarement les terpènes (**Hellal, 2011**).

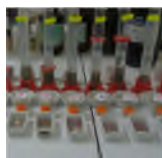
II.14.2. Mécanismes d'action antibactérienne

Les mécanismes par lesquels les H.Es exercent leur activité antibactérienne sont mal connus. Du fait de la complexité de leur composition chimique, il est difficile de donner une idée précise sur le mode d'action des H.Es. Il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Hellal, 2011**).

Burt (2004a), a avancé que la caractéristique importante des H.Es est attribuée à l'hydrophobicité de certains de ces composants qui leur permet de traverser facilement la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire en altérant sa perméabilité et entraînant des pertes anormales d'ions, voire même des macromolécules.

Oussalah et al. (2006), suggère que, l'action des H.Es sur la prolifération microbienne se fait à travers l'altération de la perméabilité membranaire des bactéries en perturbant les systèmes de transport ionique, le transport des électrons et la production d'énergie.

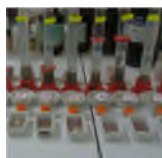
Le mode d'action des H.Es dépend du type de microorganismes. En général, les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram positives grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides (LPS) la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (**Hellal, 2011**).



II.14.3. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne

L'examen des données bibliographiques fait apparaître la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des H.Es. Le choix de la méthode est conditionné par l'insolubilité des H.Es dans les milieux aqueux, leur volatilité, et la nécessité de les tester à de faibles concentrations.

- **Aromatogramme:** L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme ou méthode de disques ou méthode par diffusion en milieu gélosé. La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la bactérie est résistante. Le diamètre de ces zones d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'H.E sur le germe testé. On peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant en croix le degré d'activité (**Guerin et Carret, 1999**).
- **Méthode de diffusion en puits:** Méthode proposée par COOPER et WOODMAN en 1946 et, reprise par SHROEDER et MESSING en 1949. Elle assure une diffusion radiale de l'H.E à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper un trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de l'H.E de concentration connue. L'H.E diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne (**Eymard, 2003**).
- **Méthode de dilution:** Les H.Es à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide (exige la dispersion homogène par un émulsifiant). Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes, après incubation, on note la présence ou l'absence de culture. La lecture peut-être visuelle ou à l'aide d'un



spectrophotomètre, le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu (Robert-Demuet, 1995).

- **Méthode de micro-atmosphère:** Cette technique consiste à cultiver les microorganismes à tester dans les boîtes de pétri sur milieu de culture approprié. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné d'H.E qui est déposé au centre du couvercle de la boîte de pétri, renversée après fixation de H.E sur le disque. Celui-ci n'est donc pas en contact avec le milieu gélosé. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boîte, elle peut exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes testés (Pibiri, 2005).

II.14.4. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne

Plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des H.Es ou leurs composants actifs tels que: la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, l'effet de la matrice biologique, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type des microorganismes ciblés. Plusieurs études ont noté l'effet des matrices alimentaires sur la résistance microbienne aux H.Es, mais aucune ne semble avoir expliqué le mécanisme, bien que les suggestions aient été proposées quant aux causes possibles. La disponibilité de substances nutritives dans les produits alimentaires permet aux bactéries de réparer les cellules endommagées plus rapidement. Les propriétés intrinsèques de l'aliment (lipide/protéine/eau, le pH, le sel, la présence d'antioxydants, de conservateurs, d'autres additifs) ainsi que, les propriétés extrinsèques (la température, l'emballage sous vide/gaz/air, les caractéristiques des microorganismes) peuvent influencer la sensibilité bactérienne. Généralement, la sensibilité des bactéries à l'action des H.Es semble augmenter avec la diminution du pH de l'aliment, de la température de stockage et de la concentration en oxygène dans le milieu. A pH bas l'hydrophobicité d'une H.E augment, lui permettant de se dissoudre plus facilement dans les lipides membranaires de bactéries cibles. Par ailleurs, la présence de graisse et/ou les protéines dans les aliments réduit la disponibilité des molécules actives. L'H.E se dissout dans la phase lipidique de l'aliment, il y aura relativement moins d'H.E disponible pour agir sur les bactéries. Par contre, les glucides dans les produits alimentaires ne sont semblent pas protéger les bactéries de l'action des H.Es autant que les lipides et les protéines (Hellal, 2011).

Chapitre III





III.1. Matériel

III.1.1. Matériel végétal

Dans cette étude, le matériel végétal utilisé est représenté par trois variétés d'oignons la première variété d'oignon Rouge locale a été obtenue de marché, locale de Mila, tandis que les deux autres variétés d'oignon Rouge d'amposta et Jaune d'Espagne ont été obtenus de l'ITCMI D'Oum El bouaki.



a



b



c

Figure 05: Les trois variétés d'oignon a: Rouge locale b: Rouge d'amposta c: Jaune d'Espagne.



III.1.2. Souche bactérienne

Les souches bactériennes utilisées dans ce travail sont :

Trois souches à Gram-négative (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsilla pneumoniae*, *E. coli* clinique) et une souche à Gram-positive (*Staphylococcus aureus*). Ces souches bactériennes appartiennent à la collection du Laboratoire de microbiologie de l'hôpital CHU de Constantine. Le nom et l'origine de chaque souche bactérienne est représenté par le Tableau 01.

Tableau 01: l'origine des souches testées.

Les souches bactériennes	Origine
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Souche référence (ATCC 27853)
<i>Klebsilla pneumoniae</i>	Souche référence (ATCC 700603)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Souche référence (ATCC 25923)
<i>E. coli</i>	Souche clinique

III.1.3. Milieux de culture

La culture des bactéries a nécessité l'utilisation du milieu de culture Mueller Hinton (MH), Gélose nutritif, Bouillon nutritif et L'eau physiologique. La composition chimique de ces milieux de culture se trouve en Annexe 01.

III.2. Méthodes

III.2.1. Préparation de l'échantillon

Le matériel végétal utilisé doit être d'abord pesé puis coupé en petits morceaux ou haché à l'aide d'une râpe ou d'un mortier.



Figure 06: Préparation de l'échantillon.

III.2.2. Procédé d'extraction

L'extraction d'huile essentielle de trois échantillons d'oignon est réalisée par hydrodistillation au niveau du laboratoire du BAKHA Ain Mlila, elle est réalisée par ébullition pendant 2 heures d'un mélange de 500 g de matériel végétal et 300 ml d'eau distillée. En se servant du dispositif d'extraction de type clevenger (Figure 06).

L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les HEs. L'opération consiste à immerger une quantité de la masse végétale dans un ballon en verre contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans remplir complètement le ballon pour éviter les débordements au cours de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube, puis à travers le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. En raison la différence de densité, l'huile surnage à la surface de l'eau distillée, dans une ampoule à décanter le mélange l'eau distillé et l'huile essentielle est versé en suite dans un décanteur qui nous a permis la séparation entre la phase organique et la phase aqueuse et laisser reposer 24 heures pour la séparation complète de la phase aqueuse.

Après chaque hydrodistillation, nettoyage de dispositif (montage) avec de l'éthanol suivant d'un rinçage à l'eau distillée afin d'éviter la contamination de huile essentielle par les traces d'huiles essentielles restantes de la plante précédente (**Gachkar et al., 2006**).



Les H.Es obtenues sont conservées à 4°C dans des tubes bien fermés, en verre ombré. Le rendement en H.Es est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche.



Figure 07: montage d'hydrodistillation utilisé dans l'extraction des huiles essentielles d'oignon.

III.2.2.1. Calcul de rendement (Mebarki, 2010)

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traité

$$R_{HE} (\%) = M_{HE} / M_S \cdot 100$$

R: Rendement en extraits fixes en g/100g de la matière sèche.

M_{HE} : quantité d'extrait récupérée exprimée en g.

M_S : quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.



III.2.3. Tests de l'activité antibactérienne

III.2.3.1. Préparation de l'inoculum

- **Préparation de pré-culture** : les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24 heures) en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches est effectuée par ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu liquide Bouillon nutritif (BN). Après incubation pendant 24 heures à 37°C, un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive (GN) puis, incubées à 37°C pendant 18 heures (**Hellal, 2011**).
- **Préparation de la suspension bactérienne** : A partir des cultures jeunes sur (GN). Racler à l'aide d'une anse de platine, quelques colonies (3 à 5 colonies) bien isolées et identique puis décharger l'anse de platine dans 9 ml d'eau physiologique stérile, on agite au Vortex pendant quelques secondes. L'opacité de la suspension doit être équivalente à 0.5 Mc Ferland, pour cela la concentration bactérienne des différentes solutions ou inoculums est évaluée par turbidité et est exprimée par la mesure des densités optiques (DO. de 0.08 à 0.10. à une longueur d'onde de 625 nm) sur un spectrophotomètre (Shimadzu UV mini 1240). Pour les *Staphylococcus aureus* nous avons effectué des ajustements pour la préparation des inoculums afin d'obtenir des colonies confluentes suffisamment denses (DO. de 0.15 à 0.25 à une longueur d'onde de 625 nm) (**Younsi et al., 2010**).

III.2.3.2. L'ensemencement

Pour faire l'ensemencement il faut suivre les étapes suivantes:

- le milieu de culture utilisé est Muller-Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.
- tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (pour éviter la contamination du manipulateur et de la paillasse).
- essorer bien l'écouvillon en le pressant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.



- frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes de pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**Benzeggouta, 2005**).

III.2.3.3. Préparation des disques d'aromatogramme

Les disques sont fabriqués à partir de papier Watman N°3 avec un diamètre de 6 mm, en suite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave. A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque et l'imbiber avec l'H.E à tester en mettant seulement en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement l'H.E jusqu'à l'imprégnation totale du disque (5µl), puis déposer sur la gélose. Les boîtes de pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 30 min, et mises à l'étuve à la température de 37°C pendant 24 heures.

L'expérience est répétée trois fois pour chaque H.E et pour chaque espèce bactérienne (**Benzeggouta, 2005**).

III.2.3.4. Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches avec des H.Es (**Ponce et al., 2003**).

- Non sensible (-): diamètre < 8 mm
- Sensible (+): diamètre compris entre 9 à 14 mm
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm



Figure 08: Matériel utilisé pour l'ensemencement par écouvillonnage pince, écouvillon, disques stériles, milieu de culture (MH) en boîtes de pétri.

III.2.3.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

III.2.3.5.1. Préparation de la gamme de dilutions

Skandamis et Nychas (2001), la CMI est définie comme étant la plus faible concentration en H.E capable d'induire une réduction de la croissance microbienne. La détermination de la CMI est réalisée par la méthode de dilution (Tableau 02).

Nous avons déterminé la CMI uniquement pour les H.Es de Rouge d'amposta et Jaune d'Espagne qui ont présenté une activité antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.

Nous avons éliminé celle de Rouge locale que ne révéla pas une activité antibactérienne; Ainsi, que les résultats des trois variétés avec les trois souches bactériennes (*E. coli*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*) qui n'ont pas été sensibles aux H.Es d'oignon.

**Tableau 02:** Valeurs des dilutions utilisées pour déterminer les CMI.

Rapport de dilution (H.E/DMSO)	1/2	1/4	1/8
%	50	25	12.5
µl H.E/µl. DMSO	500	250	125

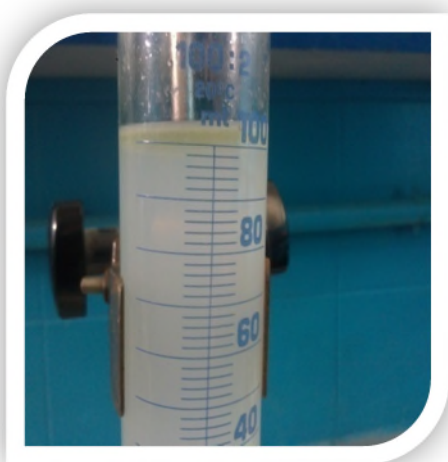
Résultats Et Discussion



III.1. Extraction des huiles essentielles

III.1.1. Rendement en huile essentielle

L'hydrodistillation est réalisée sur trois variétés d'oignon : Rouge d'amposta, Jaune d'Espagne et Rouge locale qui sont placées dans un hydrodistillateur avec le rapport de eau /matière végétale. Les H.Es de trois variétés d'oignon sont représentés dans la Figure 09.



a



b



c

Figure 09: Les H.Es de trois variétés d'oignon a: Rouge d'amposta b: Rouge locale c: Jaune d'Espagne.

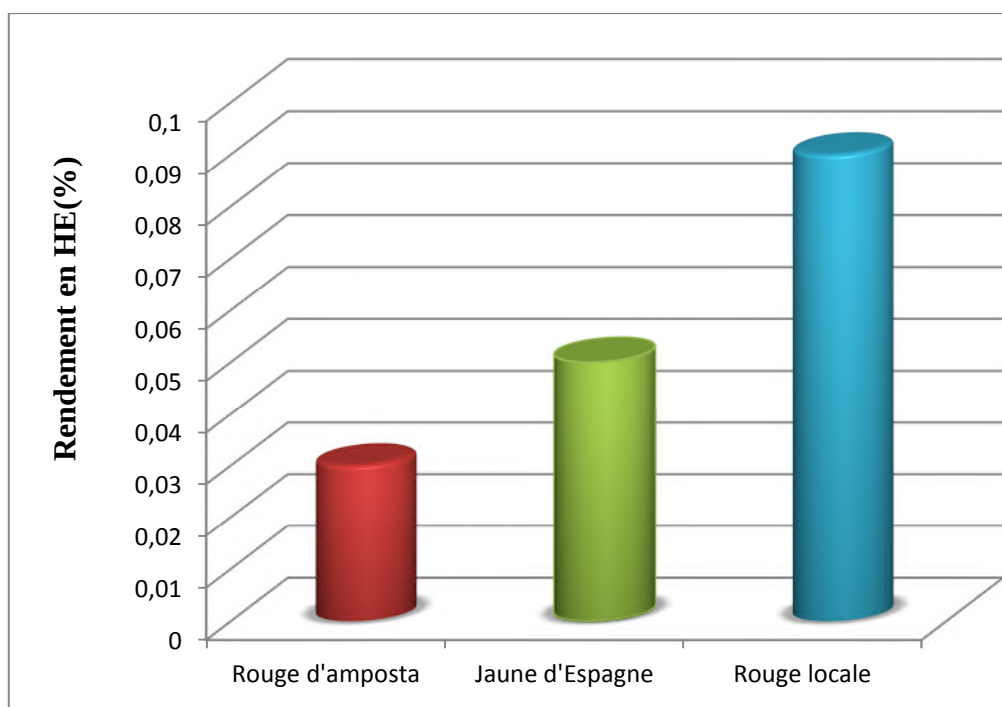


Figure 10: pourcentage en H.Es obtenus pour (●) Rouge d'amposta, (●) Jaune d'Espagne, (●) Rouge locale par la technique d'hydrodistillation.

Le (Tableau 03) résume les rendements H.E extraite.

Tableau 03: Rendement des H.Es de trois variétés d'oignon.

Huiles essentielles	Rouge locale	Jaune d'Espagne	Rouge d'amposta
Rendement (%)	0.09 %	0.05 %	0.03 %

Le rendement en huile essentielle de la variété d'oignon Rouge d'amposta est de 0.03 % c'est-à-dire qu'il faible par rapport aux l'huiles essentielles de la variété Jaune d'Espagne 0.05 %. Ces rendements sont considérés comme faibles mais proches de ceux de la plupart d'oignon étudiées auparavant. L'huile d'oignon Rouge d'amposta est d'une couleur jaune sombres, celle d'oignon jaune d'Espagne est de la même couleur mais plus claire, les deux huiles ont une odeur identique. La variété d'oignon Rouge locale a donné un rendement de 0.09 %. Cette valeur est supérieure à celles des deux variétés étudiées. L'huile de Rouge locale à une couleur jaune sombre et une odeur identique a la variété Jaune d'Espagne et Rouge d'amposta.

Ces résultats concordent avec les travaux de **Richard (2005)**, qui ont montré que l'oignon contient très peu d'huile essentielle, 0.02 %. Selon **Block en 1992**, Il existe aussi des traces d'huile volatile: 5000 kg d'oignon ont été distillés pour donner 233 g d'huile soit 0.005 %.

Par distillation du bulbe et des tiges fraîches, on obtient un faible rendement d'essence, soit de l'ordre de 0.04 à 0.05 % (**Fabrice, 2009**). L'huile essentielle ou "essence d'oignon" est obtenue par distillation sous vide des bulbes avec un rendement allant de 0.005 à 0.02 % (**Burdock, 1995; Block, 1992**). **Richard en 2005**, a extrait du bulbe pour 0.02% d'huile essentielle jaune.

III.2. Activité antibactérienne

III.2.1. Test de l'aromatogramme

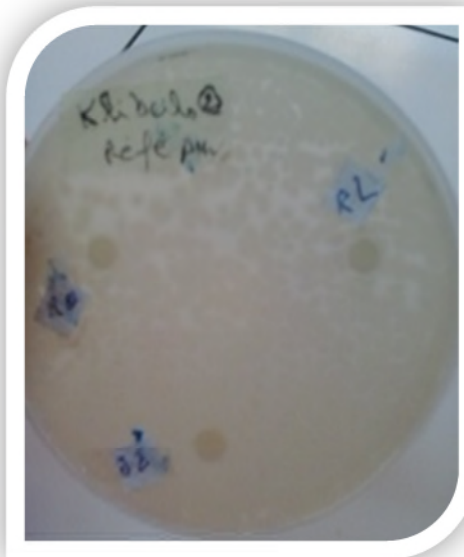
Les observations effectuées sur l'effet des H.Es d'oignon sur la croissance des souches bactériennes testées: *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, sont représentées dans le Tableau 04 et la Figure11.



a



b



c



d

Figure 11: zones d'inhibition des huiles essentielles de la variété Rouge locale, Jaune d'Espagne et Rouge d'amposta, avec les souches a: *S. aureus*. b: *P. aeruginosa*. c: *K. pneumoniae*. d: *E. coli*.

Tableau 04: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des H.Es de trois variétés d'oignon.

Les bactéries	H.E de Rouge locale	H.E de Jaune d'Espagne	H.E de Rouge d'amposta
<i>E. coli</i>	-	-	-
<i>K. Pneumoniae</i>	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	9	9.5
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-

Diamètre des disques est de 6mm.

(-) absence d'inhibition.

La sensibilité des bactéries aux H.Es est déterminée selon le diamètre d'inhibition par la méthode de diffusion sur gélose. Aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée vis-à-vis de *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*. Ces bactéries possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne des H.Es d'oignon. En revanche, la souche d'*S. aureus* a manifesté une certaine sensibilité variable à ces H.Es.

L'H.E de Jaune d'Espagne a montré une l'activité antibactérienne faible (9 mm) par rapport aux H.Es d'oignon Rouge d'amposta (9.5 mm). Cependant, aucune activité n'est montrée avec l'H.E de Rouge locale malgré qu'elle est donné le rendement meilleur. Ces résultats concordent avec les travaux de **Benzeggouta** en 2005, sur le jus d'oignon, envers une gamme de bactéries à Gram-négatif : *E. Coli*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*. Les huiles infusées n'ont aucun effet sur la souche d'*E. Coli*. Tandis que, *S. aureus* est apparue sensible (9 mm).

Les résultats de **Zohri et al. (1995)**, montrent que l'huile d'oignon est très active contre les bactéries à Gram-positives testées, mais aucune activité n'a été détectée contre les bactéries à Gram-négatif.

En comparant les données obtenues des différentes études, la plupart des publications font état d'une généralisation de l'activité antibactérienne d'une H.E contre les bactéries à Gram⁺ et à Gram⁻.

D'après **Kalembe et Kunicka (2003)**, la sensibilité d'un microorganisme aux HEs dépend des propriétés de l'H.E 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, 2004b; Bekhechi *et al.*, 2008).

Selon Poole, 2001; Burt, 2004a; Busatta *et al.*, 2008, la grande résistance des bactéries à Gram⁻ aux HEs est liée en partie à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui contient une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries à Gram⁺.

III.2.2. Concentration minimales inhibitrices (CMI):

Les résultats des CMIs des H.Es testées sont représentés dans le Tableau 05.

Tableau 05: Les valeurs des CMIs des H.Es testées sur *S. aureus*.

Huiles essentielles	CMIs (µl /µl)	Pourcentages (%)
Rouge d'amposta	250	25%
Jaune d'Espagne	500	50%

L'H.E de la variété d'oignon Rouge d'amposta et Jaune d'Espagne est caractérisée par une faible activité antibactérienne. Les CMIs ont été calculées uniquement pour les H.Es qui ont préalablement exhibé un effet antibactérien. Cependant, d'après les résultats d'aromatogrammes *S. aureus* est la seule bactérie parmi l'ensemble des bactéries testées qui a révélé une sensibilité envers les H.Es d'oignon.

L'H.E de la variété d'oignon Jaune d'Espagne a montré un effet inhibiteur à la dilution de 50% ce qui correspond à une concentration équivalente à 500 µl/µl, par contre pour l'H.E d'oignon Rouge d'amposta l'effet inhibiteur a été observé à la dilution de 25% correspondant à la concentration de 250 µl/µl.

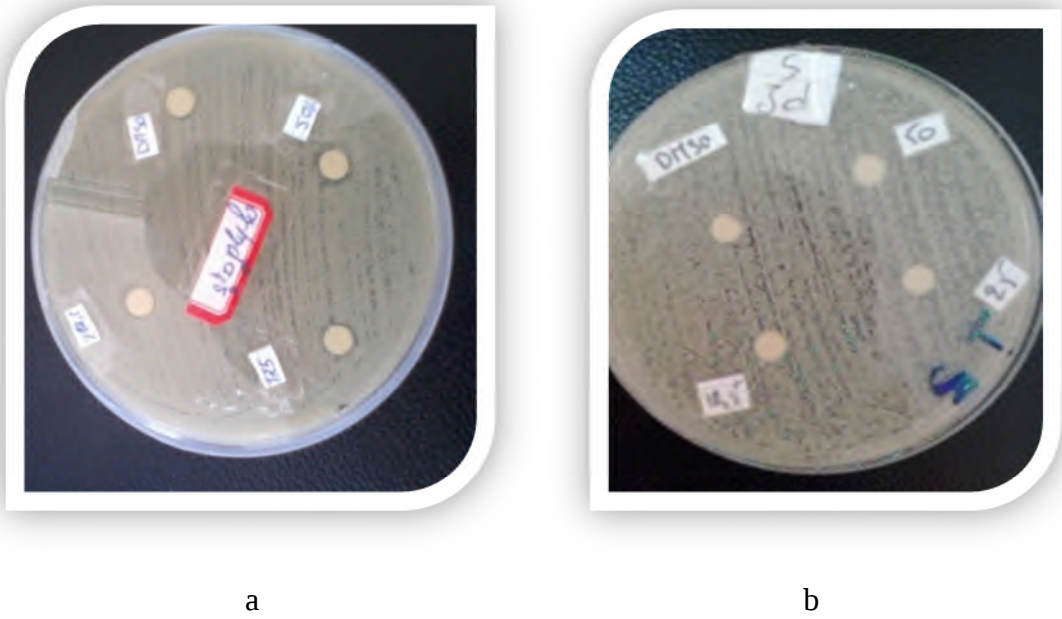


Figure 12: photos montrant la CMI = 25 % et 50 % de l'H.E de a: Rouge d'amposta b: Jaune d'Espagne vis-à-vis de *S. aureus*.

Nous avons testés l'effet de DMSO sur les bactéries, l'absence des zones inhibitions, après 24 h d'incubation à 37°C, indique que le DMSO ne présente aucune activités antibactérien sur les souches testes. De ce fait, il est choisi en tant que diluant pour les HEs.

Conclusion



L'objectif visé par ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne des huiles essentielles de trois variétés d'*Allium Cépa L* (oignon), nous avons réalisée en premier temps l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation type cleverger, puis nous avons testé l'activité antibactérienne des huiles à l'aide de la méthode du contact direct effectuée par la technique de diffusion par disques.

Les valeurs des rendements en huiles essentielles des bulbes d'oignon Jaune d'Espagne et Rouge d'amposta étaient faible mais proches de celle des résultats des recherches référentielles. Le rendement en huile essentielle de trois variétés d'oignon Rouge d'amposta, Jaune d'Espagne et Rouge locale est: 0.03 %, 0.05 % et 0.09 % respectivement.

Les travaux menés par notre étude ont permis de mettre en évidence les activités antibactériennes des H.Es d'oignon étudiées. Ainsi, les H.Es de Rouge d'amposta et Jaune d'Espagne ont exercé une faible activité antibactérienne à l'encontre de *S. aureus*, mais aucune activité antibactérienne à l'H.E de Rouge locale.

En revanche les bactéries a Gram négatives à savoir *E. coli*, *K pneumoniae*, *p. aeruginosa* ont manifesté une résistance à l'égard de ces HEs.

Références bibliographiques



- 1 - **Anton R.** 1999. Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinales, science et thérapeutique. 3^{ème} éd, Tec et Doc, Paris, 22- 23.
- 2 - **Babulka B.** 2007. Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. *Phytothérapie*, Volume 5, 137-140.
- 3 - **Bekhechi C., Atik-Bekkara F., Abdelouhid D.E.** 2008. Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles *d'origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie*, 6: 153-159.
- 4 - **Bekhechi C.H., Abdelouahid D.J.** 2010. Les huiles essentielles. Ed Office des publications universitaires, 18-23.
- 5 - **Belaiche P.** 1979. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Ed Maloine S.A., Tome 1.
- 6 - **Benjilali B.** 2004. Extraction des plantes aromatiques et médicinales : cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Institut agronomique et vétérinaire, Maroc.
- 7 - **Benkiki N.** 2006. Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*. Thèse de doctorat, Université EL-Hadj-Lakhdar, Batna.
- 8 - **Benzeggouta N.** 2005. Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Thèse Magister en pharmacochimie, Université Mentouri de Constantine Institut de chimie, 45-50.
- 9 - **Bezanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M., Troutin F.** 1990. Plantes médicinales des régions tempérées. Maloine édition.
- 10 - **Block E.** 1992. The organosulfur chemistry of the genus *Allium*. Implication for the organic chemistry of sulphur. *Angew. Chem. Int*, Ed Engl.
- 11 - **Bruneton J.** 1999. Huiles essentielles, in pharmacognosie-phytochimie plantes médicinales. 3^{ème} éd, Tec et Doc, Lavoisier.

- 12 - **Bruneton J.** 2009. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales, monoterpènes, et sesquiterpènes, 4^{ème} éd, Tec et Doc, paris, 580-591.
- 13 - **Burdock G.A.** 1995. Fenaroli S hand book of flavor Ingredients. 3^{ème} éd, CRC press.
- 14 - **Burt S. A.** 2004a. Essential oils: Their antibacterial properties and potentiel applications in food. International journal of food microbiology, 94: 3: 22-25.
- 15 - **Burt S. A.,** 2004b. Des huiles essentielles, leurs propriétés antibactériennes et applications dans les aliments-Un examen. Journal International de Microbiologie des Aliments, 94: 223.
- 16 - **Busatta C., Vidal R.S., Popilski A.S., Mossi A.J., Dariva C., Rodriguez M.R.A., Corazza M.L., Vladimir O.J., Canslan R.L.** 2008. Application of *origanum majorana L.* essential oil as an antimicrobial agent in sausage. Food *microbiology*, 25: 207-211.
- 17 - **Eymard I.** 2003. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conversation et de la transformation de chinchard (*trachurus trachurus*), choix des procédés. Thèse de Doctorat en génie des procédés, Nante, France.
- 18 - **Fabrice B.** 2009. Les huiles essentielles. paris lanore, 222.
- 19 - **Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rasooli I.** 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem*, 102: 898-904.
- 20 - **Garnero J.** 1976. Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention, du contrôle et de l'étude de la composition d'une huile essentielle. Riv. Ital.Ess.Prof., Pi. Off., AR., sap., Cosm. Aerosol.
- 21 - **Garnero J.** 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed Techn. Encyclo. Me. Nat., (paris-France), phytothérapie aromathérapie.
- 22 - **Guerin-Faubleee V., Carret G.** 1999. L'antibiogramme, principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées Nationales Gtv-Inra, 5-12.

- 23 - **Hameurlaine S.** 2009. Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *pituranthos scoparius* et *Rhantheruim adpressum* de la région de Ghardaïa. Thèse de magister, Université de Kasdi Merbah-Ouargla.
- 24 - **Hans W.K.** 2007. 100 plantes aromatiques et médicinales. Terres éditions, 36.
- 25 - **Hellal Z.** 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactérienne et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *citrus*. Application sur la sardine (*sardina pilchardus*). Thèse Magister en Biologie, Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou.
- 26 - **Huitleme T.V.** 1818. Dictionnaire des sciences médicales. Paris.
- 27 - **Kalemba D., Kunicka A.** 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10: 813-829.
- 28 - **Khelfane F., Yousfi A.** 1987. Extraction et analyse chromatographique de l'huile essentielle d'Eucalyptus globus. Thèse d'ingénieur, E.N.P., Alger.
- 29 - **Khenaka K.** 2011. Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse Magister en microbiologie appliquée, Université Mentouri Constantine.
- 30 - **Legast E., Peyron L.** 1983. IX congrès international des huiles essentielles. Singapour, 63.
- 31 - **Liger L., Bastien F.** 1798. La nouvelle maison rustique : ou économie rurale, pratique et générale, volume2, 432-433.
- 32 - **Marianne P.** 2008. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentine : composition chimique, activités pharmacologiques ET Hémi – synthèse.
- 33 - **Mebarki N.** 2010. Extraction de huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Thèse Magister en génie des procédés chimique et pharmaceutiques, Université M'hamed Bougara Boumerdes.
- 34 - **Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M.** 2006. Mechanism of spanish oregano, chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of

Escherichia coli O 157: H7 and *Listeria monocytogenes*. Journal of food protection, 69 (5), 1046-1055.

35 - **Padrini F., Lucheroni M.T.** 1996. Le grand livre des huiles essentielle. Ed De Vecchi.

36 - **Paris M., Hurabielle M.** 1981. Abrégé de Médicale (pharmacognosie). Tome 1 Masson, paris, 1-3: 5-10.

37 - **Paul I.** 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse, 164.

38 - **Pibiri M.C.** 2005. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctoral, Polytechnique fédérale de lausanne.

39 - **Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C., Roura S.I.** 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chard. Lebensmittel-Wissenschaft and Technologic, 36: 679-684.

40 - **Poole K.** 2001. Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Current opinion in microbiology*, 4: 500-508.

41 - **Richard H.** 2005. Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse. Ed L'harmattan, 53-64.

42 - **Robert-Demuet S.** 1995. Méthodes de dilutions. In antibiotiques et antibiogrammes. Montréal-Canada, 131-137

43 - **Roulier G.** 2005. Fabuleuse Amazonie, ses plantes et ses huiles essentielles. Ed Dangles, 96.

44 - **Skandamis P.N., Nychas G.J.E.** 2001. Effect of oregano essetial oil on microbiological and physic-chemical attribues of minced meat stored in air and modified atmospheres. Journal of Applied Microbiology, 91: 1011-1022.

45 - **Valnet J.** 1984. Aromathérapie – Traitement des maladies par les essences des plantes. Ed Maloine S. A. n°10.

46 - Valnet J. 2000. Aromathérapie. Ed Maloine S.A.

47- Younsi Y., Meledjem S., Naidja K. 2010. Extraction et évaluation expérimentale in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes médicinales. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme des Etudes supérieures en Biologie. Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université de Jijel, 29.

48 - Zhiri A. 2006. Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. Nutra Neus. Science, nutrition, prévention et santé. Edité par la fondation pour le libre choix, 12: 8.

49 - Zohri AN., Abdel-Gawad K., Saber S. 1995. Antibacterial, antidermatophytic and antitoxigenic activities of onion (*Allium cepa L*) oil. Microbiol Research, 167-172.

Annexes



Annexe 01: Composition des principaux

Milieux de culture utilisés

- **Milieux liquides**
- **Eau physiologique stérile**

Composition en g/l

Chlorure de sodium (NaCL).....2.9g

Eau distillée.....300ml

Ph =7

Stérilisation à 121°C/15min

- **Bouillon nutritive (BN)**

Composition en g/l:

Bouillon nutritive poudre.....6g

Eau distillée..... 300ml

Ph=7.2

Stérilisation à 121°C/15min

- **Milieux solides**

Gélose nutritive (GN)

Composition en g/l

Gélose nutritive poudre.....6g

Eau distillée.....300 ml

Ph=7.2

Stérilisation à 121°C/15min

- **Gélose Muller Hinton (MH)**

Composition en g/l

Gélose Mueller Hinton poudre.....19g

Eau

distillée.....500ml

Ph =7.3

Stérilisation à 121°C/15min

Annexe 02:

- **Appareils:**

Hydrodistillateur

Etuve

Micro-pépète

Spectrophotomètre ultraviolet-visible

PH mètre

Autoclave

Bac pensa

Vortex

- **Produits:**

Eau distillé

Dimethylsulfoxide (DMSO)

Bouillon nutritive poudre (BN)

Chlorure de sodium (NaCL)

Gélose nutritive poudre (GN)

Gélose Muller Hinton poudre (MH)

NaOH

HCl

- **Verreries:**

Ampoule à dé canter

Pipettes

Boîtes de pétries

Eprouvettes

Tubes à visse

Flacons (250 ml)

Papier Watman N°3

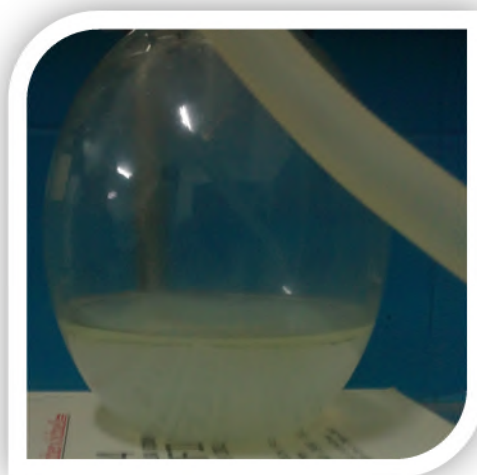
Écouvillon

Anse de platine

Annexe 03:



a



b

Figure 13: L'huile essentielle d'oignon a : Jaune d'Espagne (Jaune claire) b : Rouge locale (Jaune sombre).

Résumé:

A travers ce travail nous voulons connaître l'effet de trois variétés appartenant de l'espèce *Allium cépa L* (oignon) sur la production et l'accumulation des huiles essentielles ainsi que l'efficacité antibactérienne de ces dernières, les variétés utilisées sont : Rouge d'amposta, Rouge locale, Jaune d'Espagne, l'opération d'extraire les huiles essentielles par l'hydrodistillation des variétés citées précédemment qui a été effectuée a donné le rendement suivant respectivement: 0.03 %, 0.09 %, 0.05 %, cela montre qu'il y une différence du rendement d'une variété à l'autre. Tandis que pour l'efficacité antibactérienne des variétés des huiles essentielles extraites précédemment et étudiées sur les souches bactériennes : *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* montre que les huiles essentielles extraites des deux variétés : Rouge d'amposta, et Jaune d'Espagne, sont celle qui ont donné un résultat positif envers une seule espèce de bactérie et qui est : *S. aureus* avec un diamètre de 9.5 mm et 9 mm respectivement alors que les autres souches bactériennes n'ont pas présenté de sensibilité envers toutes les huiles essentielles des trois variétés. Et lors de l'étude de l'efficacité inhibitrice après dilution des deux huiles Rouge d'amposta et Jaune d'Espagne, il a été obtenu une concentration minimale inhibitrice de 25 % et 50 % respectivement. Ces résultats obtenus quels que soient positifs ou négatifs sont importants pour des études complémentaires plus approfondies et plus détaillées.

Mots clés : oignon, huiles essentielles, plantes médicinales, activité antibactérienne, hydrodistillation, concentration minimale inhibitrice.

Abstract:

Through this work we want to know the influence of variety in the species *Allium cépa L* (onion) about the production and accumulation of essential oils and their antibacterial effectiveness, the varieties used are: Rouge d'amposta, Rouge locale and Jaune d'Espagne, the operation of extracting essential oils by steam distillation of the varieties mentioned above gave the following yield respectively 0.03 %, 0.09 %, 0.05 %, this shows the difference in performance from one variety to another.

This whereas the antibacterial effectiveness of varieties of essential oils which are extracted previously and studied on bacterial strains: *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* give that the essential oils extracted from two varieties: Rouge d'amposta and Jaune d'Espagne are those which gives a positive result to one species of bacteria which is: *S. aureus* with a diameter of 9.5 mm and 9 mm respectively, while other bacterial strains showed no sensitivity to any essential oils of three varieties. And in the study of the inhibitory of efficiency after dilution of the two oils: Rouge d'amposta and Jaune d'Espagne, it was obtained a minimum inhibitory concentration of 25 % and 50 % respectively. This results regardless of positive or negative are important for further and more detailed study.

Key word: onion, essential oils, medicinal plant, antibacterial activity, steam distillation, minimal inhibitory

المخلص:

في هذا العمل أردنا معرفة تأثير اختلاف الصنف في النوع *Allium cépa L* (البصل) وذلك من حيث إنتاج وتراكم الزيوت الأساسية ومن حيث فعالية هذه الأخيرة ضد البكتيريا، والأصناف المستعملة من البصل هي: Rouge d'amposta, Rouge locale, Jaune d'Espagne حيث بعد إجراء عملية الاستخلاص للزيوت الأساسية عن طريق التقطير البخار للأصناف المذكورة سابقا أعطت المردود التالي: 0.03 %, 0.09 %, 0.05 %, والترتيب وهذا يبين اختلاف المردود من صنف لأخر.

أما بالنسبة للفعالية المضادة للبكتيريا لأنواع الزيوت الأساسية المستخلصة سابقا والمدروسة على السلالات البكتيرية: *S. aureus*, *E. coli* *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* قد أثبتت أن الزيوت الأساسية المستخلصة من النوعين Rouge d'amposta و Jaune d'Espagne هما اللذان أعطيا نتيجة ايجابية ضد نوع فقط من البكتيريا وهي: *S. aureus* بقطر 9.5 مم و 9 مم على الترتيب، في حين السلالات البكتيرية الأخرى لم تبدي أي نتيجة مع جميع الزيوت الأساسية للأصناف الثلاثة. و عند دراسة الفعالية التثبيطية بعد التخفيف للزيوت الأساسية للنوعين Rouge d'amposta و Jaune d'Espagne أعطت التركيز الأصغر المثبط بنسبة 50 % و 25 % على الترتيب. هذه النتائج المحصل عليها سواء كانت ايجابية أو سلبية مهمة من أجل دراسات تكميلية أكثر تعمقا أو أكثر تفصيلا.

الكلمات المفتاحية: البصل، الزيوت الأساسية، النباتات الطبية، النشاط المضاد للبكتيريا، التقطير البخار، التركيز الأصغر المثبط.