



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
جامعة خميس مليانة  
*Université de Khemis-miliana*  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض  
*Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des Sciences de la terre*



# Mémoire de fin d'Etude

*En Vue de l'obtention du diplôme Master en  
Sciences Agronomiques  
Spécialité : Production animale*

## Thème

**Caractérisation des huiles essentielles de quelques  
espèces de la famille de lamiacées (*Rosmarinus  
Officinalis L* et *Mélissa Officinalis L*)**

**Soutenu le  
Par:**

**23/5/2022**  
M<sup>lle</sup> Berrabha Ferial  
M<sup>lle</sup> Mehdi Amel

## Devant le Jury

Président	M <sup>lle</sup> DELHOUM Hadia	MAA	UDBKM
Promoteur	M <sup>r</sup> KOUACHE Benmoussa	MCB	UDBKM
Examineurs	M <sup>lle</sup> AIZA Asma	MAA	UDBKM
	M <sup>lle</sup> MEKHALDI Kheira	MAA	UDBKM

Promotion: 2021-2022

## REMERCIEMENTS

*Tout d'abord je remercie ALLAH LE TOUT PUISSANT " Alhamdoulilah" pour la volonté, la santé et la patience qu'il nous a donné durant toutes ces laborieuses épreuves.*

Cette mémoire rentre dans le cadre d'un projet de fin l'étude sur l'Application prophylactique des huiles essentielles en apiculture sous la direction de **M<sup>F</sup>KOUACHE Benmoussa** Maitre de conférences à l'Université de Djilali Bounaama Khemis Miliana.

### **A Madame DELHOUM Hadia**

*Maitre assistante* à l'Université de Djilali Bounaama Khemis Miliana.

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire.

Hommage respectueux.

### **A Madame AIZA Asma**

*Maitre assistante* à l'Université de Djilali Bounaama Khemis Miliana.

Qui nous a aidé et guidé tout au long de notre travail.

Qu'elle trouve ici l'expression de toute notre profonde reconnaissance.

### **A Madame MEKHALDI KHEIRA**

Maitre de conférences à l'Université de Djilali Bounaama Khemis Miliana

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Très sincères remerciements.



# *Dédicaces*

## *Je dédie ce travail*

*A* ma chère mère, A mon cher père, Pour leur soutien, leur patience, leur encouragement durant mon parcours scolaire et ils sont la source de vie, d'amour et d'affection.

## *A mes frères : Belkacime et Yousef*

*A mes sœurs : Siham, Amel et Amina, pour l'amour qu'il m'a toujours accordé*

*A mon cher grand-père Qui je souhaiter une bonne santé.*

## *A mes petits enfants de la maison : Daniel et sidra*

*A mes cousin: Ahmed, Nabil et Mohamed, A toute ma famille, source d'espoir et de motivation*

*A tous mes amis, tout particulièrement Bakhta, Safaa et Marawa*

## *A vous cher lecteur*



*Berrabha feriel*

# *Dédicaces*

*Je* dédié ;

*En* premier lieu ce modeste travail à ma mère pour son soutien tout le long de ma vie depuis ma naissance jusqu'à ce jour, puisse Allah lui accorder une bonne santé.

*Je* tiens à rendre Hommage à mon père et à celui qui a su et pu faire de moi la femme que je suis, les mots ne peuvent *Exprimer* mon entière gratitude et un grande merci pour mes sœurs **Aicha, Ghania et Hanane** et mes frères **Oussama et Mohamed** et toute ma famille.

*A* tous mes amis sans exception, ils sont nombreux, je ne peux tous les citer mais je ne peux pas les oublier, surtout **Fatima, Amel, Khawla et Nora.**

*A* tous et toutes, merci



*Mehdi Amel*

Remerciements  
Dedicaces

## Tables des matières

Liste des abréviations  
Résumé  
Liste des figures  
Liste des tableaux

**Introduction.** 01

### Partie bibliographique

#### Chapitre I :

##### La famille des *Lamiaceae*

I-1	Définition de la famille des <i>Lamiaceae</i>	03
I-2	Les plantes aromatiques	03
I-2-1	Définition	03
I-3	Identité des deux espèces de la famille des <i>Lamiaceae</i>	04
I-3-1	Romarin ( <i>Rosmarinus Officinalis L</i> )	04
I-3-1-1	Définition	04
I-3-1-2	Répartition géographique	04
I-3-1-3	Classification botanique	05
I-3-1-4	Description botanique	05
A	Feuille	05
B	Fleur	06
C	Tige	06
I-3-2	Mélisse ( <i>Mélissa Officinalis L</i> )	06
I-3-2-1	Définition	06
I-3-2-2	Répartition géographique	07
I-3-2-3	Classification botanique	07
I-3-2-4	Description botanique	08
A	Feuille	08
B	Tige	08
C	Fleur	09

#### Chapitre II :

##### Les huiles essentielles

II-1	Définition	10
II-2	Caractéristique des huiles essentielles	10
II-2-1	Localisation d'huiles essentielles	10
II-2-2	Caractères physico-chimiques des huiles essentielles	12
II-3	Technique d'extraction des huiles essentielles	12
II-3-1	Extraction par hydrodistillation	13
II-3-2	Entraînement à la vapeur d'eau	13
II-3-3	Extraction par micro-onde	14
II-3-4	Hydrodiffusion	15
II-4	Activités biologiques des huiles essentielles	15
II-4-1	Activités antioxydante	15
II-4-2	Activités antibactérienne	16
II-4-3	Activité antifongique	16
II-4-4	Activité antimicrobienne	16
II-4-5	Activités insecticide	16
II-5	Les modes d'application des huiles essentielles	17

II -5-1	Fumigation	17
II -5-2	Ingestion par sirop	18
II -5-3	Ingestion par candi	19

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre III :**

#### **Matériel et méthodes.**

III-1	Objectifs	20
III-2	Présentation de zone d'étude.	20
III -2-1	Situation géographique	20
III-3	Matériel végétale	21
III -3-1	Séchage et conservation	21
III-3-2	Détermination de la matière sèche	21
III-4	Méthode des extractions d'huiles essentielles	22
III-4-1	Extraction d'huiles essentielles par hydrodistillation	22
III-4-2	Principe de l'extraction des huiles essentielles	22
III-4-3	Matériel utilisées au laboratoire	22
III-4-4	Mode opératoire	22
III-4-5	Calcul du rendement	23
III-4-6	Cinétique d'extraction	24
III-5	Analyses des huiles essentielles par CG/SM	24

#### **Chapitre IV :**

#### **Résultats et discussion**

IV-1	Extraction des huiles essentielles	26
IV-1-1	Détermination de la matière sèche	26
IV-1-2	Caractères organoleptiques d'HEs	26
IV-2	Détermination du rendement	28
IV-3	Détermination l'analyse des huiles essentielles par CG/SM	30
IV-3-1	Huile essentielle de <i>Mélissa Officinalis</i>	30
IV-3-2	Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	34

#### **Conclusion générale**

#### **Références bibliographiques.**

#### **Annexes.**

## Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
<b>AFNOR</b>	Association Française de NORmalisation
<b>CG/MS</b>	chromatographique en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de carbone
<b>g</b>	Gramme
<b>h</b>	Heur
<b>HEs</b>	Huiles essentielles
<b>ISO</b>	International Standards Organization
<b>mg</b>	Milligramme
<b>min</b>	Minute
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mm</b>	Millimètre
<b>MS</b>	Matière sèche
<b>R<sub>HE</sub></b>	Rendement en huiles essentielles
<b>μL</b>	Microlitre

## Résumé

L'extraction des huiles essentielles des feuilles des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L et *Mélissa Officinalis* L. Récolte de la région de Djendel Ain Defla (Algérie) à 11 heure du matin durant le mois de novembre 2021, a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement obtenu varie de 1.26% et 0.2% respectivement pour *Rosmarinus officinalis* L et *Mélissa officinalis* L.

Les analyses par la chromatographie en phase gaz (CG) et par la chromatographie en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) ont permis d'identifier 31 composés pour *Rosmarinus officinalis* L et 21 *Mélissa officinalis* L. Les composés majoritaires sont Neral (20.71%),  $\beta$ - caryophyllene (14.74%), Citronelol (12.50%), Oxide de caryollene (9.78%) pour *Melissa officinalis*. Quant à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, Les composés majoritaires sont  $\alpha$ - pinene (23.1%), Camphre (14.7%) et  $\beta$ -pinene (12.2%).

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant sur le plan de leurs propriétés organoleptiques, composition que sur leur rendement. Cette variabilité est liée aux différents facteurs telles que : l'espèce végétale, la période de récolte ainsi qu'aux conditions climatiques.

**Mots clé :** Huiles essentielles - *Rosmarinus officinalis* L - *Mélissa officinalis* L

### ملخص:

تم استخراج الزيوت الأساسية من أوراق الجزء العلوي من إكليل الجبل و مليسا أوفيسيناليس. المأخوذة من منطقة جندل عين الدفلى (الجزائر) على الساعة 11 صباحا في شهر نوفمبر 2021 عن طريق التقطير المائي. يتراوح المردود الذي تم الحصول عليه 1.26% و 0.2% على التوالي ل إكليل الجبل و مليسا أوفيسيناليس.

أظهرت التحليلات عن طريق كروماتوغرافيا الغاز (CG) إلى جانب قياس الطيف الكتلي (CG/MS) تحديد 31 مركبا لإكليل الجبل و 21 لمليسا أوفيسيناليس. المركبات الأساسية هي Citronelol (12.50%) Oxide de caryollene (9.78%)  $\beta$ - caryophyllene (14.74%), Neral (20.71%),  $\alpha$ - pinene (23.1%), Camphre (14.7%) و  $\beta$ -pinene (12.2%).

تظهر الزيوت الأساسية تنوعا كبيرا سواء من حيث خصائصها الحسية وتكوينها وأدائها. يرتبط هذا التباين بعوامل مختلفة مثل أنواع النباتات وفترة الحصاد والظروف المناخية.

**كلمات المفاتيح:** الزيوت الأساسية - إكليل الجبل - مليسا أوفيسيناليس

## Abstract

The extraction of essential oils (Eos) from the leaves of the aerial parts of *Rosmarinus officinalis* L and *Mélissa Officinalis* L. harvest from the Djendel Ain Defla region (Algérie) at 11 a.m. during the month of Novembre 2021. Was carried out by hydrodistillation. The yield obtained varies from 1.26% and 0.2% respectively for *Rosmarinus officinalis* L and *Mélissa officinalis* L. Analyzes by gas chromatography (GC) and gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS) identified 31 compounds for *Rosmarinus officinalis* L and 21 *Melissa officinalis* L. The majority compounds are Neral (20.71%),  $\beta$ - caryophyllene (14.74%), Citronelol (12.50%), Caryollene oxide (9.78%) for *Melissa officinalis*. As for the essential oil of *Rosmarinus officinalis*, the main compound are  $\alpha$ -pinene (23.1%), Camphor (14.7%) and  $\beta$ -pinene (12.2%). Essential oils show great variability, both in terms of their organoleptic properties, composition and their performance. This variability is linked to different factors such as: the plant species, the harvest period and the climatic conditions

**Key words:** Essential oils - *Rosmarinus officinalis* L - *Mélissa Officinalis* L

## Liste des figures

Figure	Titre de figure	Page
01	Quelque plantes aromatiques	03
02	<i>Rosmarinus Officinalis</i> L	04
03	Feuille de <i>Rosmarinus officinalis</i> L	06
04	La fleur de <i>Rosmarinus officinalis</i> L	06
05	La tige de <i>Rosmarinus officinalis</i> L	06
06	Mélisse ( <i>Mélissa Officinalis</i> L)	07
		09
07	La feuille de mélisse ( <i>Mélissa Officinalis</i> L)	
08	La tige de mélisse ( <i>Mélissa Officinalis</i> L)	09
09	La fleur de mélisse ( <i>Mélissa Officinalis</i> L)	09
10	Cellule sécrétrice d'HE dans un rhizome de gingembre <i>Zingiber Officinale</i> Roscoe (MEB x 813)	11
11	Trois types de trichomes sur calice de <i>Lavandula. Angustifolia</i> (MEB x500 12kV)	11
12	Détail des 8 cellules sécrétrices d'une glande peltée sur calice de <i>lanata</i> L. (MEB x500 8kV)	11
13	Poil sécréteur sur une feuille de <i>Thymus vulgaris</i> , contenant une goutte d'huile essentielle	11
14	Cellule sécrétrice ayant libéré son huile essentielle de <i>T. vulgaris</i>	11
15	Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d' <i>O.vulgare</i>	11
16	Montage d'extraction par hydrodistillation	13
17	Entraînement à la vapeur d'eau	14
18	Montage d'extraction assistée par micro-onde	14
19	Montage d'hydrodiffusion	15
20	Traitement par fumigation	18
21	Traitement par ingestion (sirop)	18
22	Traitement par ingestion (candi)	19
23	Position géographique du site des plantes étudiées	20
24	Feuilles et tiges de <i>Rosmarinus Officinalis</i> L séchées	21
25	Feuilles et tiges de la mélisse ( <i>Mélissa Officinalis</i> L) séchées	21
26	Hydrodistillateur de type clevenger	23
27	Appareille de chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (CG/MS)	25
28	Teneur de MS de <i>Mélissa Officinalis</i> L et <i>Rosmarinus Officinalis</i> L	26
29	Huiles essentielles de <i>Rosmarinus Officinalis</i> L	27
30	Huiles essentielles de mélisse ( <i>Mélissa Officinalis</i> L)	28
31	Histogramme des rendements de l'HEs de <i>Rosmarinus Officinalis</i> L et mélisse ( <i>Mélissa Officinalis</i> L)	29
32	Histogramme des différentes compositions chimiques de l'HE de <i>Melissa officinalis</i>	32
33	Histogramme des constituants majoritaires de l'HE de <i>Melissa officinalis</i>	33
34	Histogramme des différentes compositions chimiques de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i>	35
35	Histogramme des constituants majoritaires de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i>	35

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre de tableau</b>	<b>Page</b>
01	Caractères organoleptiques et physico-chimiques des huiles essentielles	12
02	les caractères organoleptiques de HEs de romarin ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L)	27
03	les caractères organoleptiques de HEs de la mélisse ( <i>Mélissa Officinalis</i> L)	28
04	le rendement en HEs de <i>Rosmarinus Officinalis</i> L	29
05	le rendement en HEs de <i>Mélissa Officinalis</i> L	29
06	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Melissa officinalis</i> à l'état cultivé	31
07	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> à l'état cultivé	34

## **Introduction :**

Depuis l'antiquité, l'homme utilisait les plantes comme une source principale de nourriture, par la suite, il s'est développé pour les utiliser comme médicament et remède afin de soigner les différentes maladies. Jusqu'à maintenant, les plantes sont encore destinées à la santé humaine malgré les efforts des chimistes qui essaient de synthétiser de nouvelles molécules. D'après des études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes (**Damintoti, 2005**).

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne saharienne et une flore paléo tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques (**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, animale et en cosmétologie (**Naghibi et al., 2005 ; Babulka, 2007**).

La famille des *Lamiacées* est l'une des plus répandues dans le règne végétal (**Naghibi et al., 2005**). C'est une famille de grande importance aussi bien pour son utilisation dans l'industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongiques, anti-inflammatoire et antioxydant (**Bouhdid et al., 2006 ; Hilan et al., 2006 et Belkhiri et Baghiani, 2017**). Il est bien connu que les huiles essentielles extraites des plantes de cette famille possèdent des propriétés pharmacologiques tant sur le plan humain qu'industriel

Cette famille comprend près de 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres (**Miller et al., 2006**). La région méditerranéenne a été le centre principal pour la domestication et la culture de Labiatea, Lamiaceae, caractérisée par des plantes productrices d'huiles essentielles (**Naghibi et al., 2005**). Les genres les plus cités dans la littérature sont : *Rosmarinus officinalis* et La mélisse ou mélisse officinale (*Melissa officinalis*) (**Lemon balm**)

*Rosmarinus officinalis* est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les huiles essentielles de cette plante sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle depuis des siècles contre une multitude de maux. Aujourd'hui, le *Romarin* est entré dans la médecine moderne (**Høstettmann, 1997**).

La flore Algérienne mérite d'être explorée davantage. Nous nous sommes intéressés à deux espèces de la famille des Lamiacées qui s'y développent naturellement telle que *Rosmarinus officinalis* et *Melissa officinalis* et méritent d'être prospectée et valoriser.

C'est dans ce contexte que s'insère le présent travail qui vise à étudier et caractériser les huiles essentielles *Rosmarinus officinalis* L et *Melissa officinalis* L.

Notre étude est subdivisée en deux sections différentes: une section correspondant à une synthèse bibliographique et une autre correspondant au travail expérimental. Chaque section est divisée en deux parties :

Partie bibliographique :

Chapitre I : La famille des *Lamiaceae*

Chapitre II: Les huiles essentielles

Partie expérimental:

Chapitre III. Matériel et méthodes

Chapitre IV. Résultats et discussion

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

# Chapitre I: La famille des *Lamiaceae*

## 1-Définition de la famille des *Lamiaceae*

La famille des lamiacées (*Lamiaceae*) ou labiées (*Labiatae*) (Naghbi et al., 2005), est l'une des grande familles et plus répandue dans le règne végétale comprend 6700 espèces regroupées dans environ 250 genres (Miller et al., 2006). Entre autre les genres *Melissa* (mélisse), *Rosmarinus* (romarin) *Thymus* (thym), *Salvia* (sauge), *Lavandula* (lavande), et *Mentha* (menthe) (Kennedy et al., 2018).

*Lamiacées* est une plantes médicinales et aromatiques (Singh et Pandey, 2018), et sont riches en huiles essentielles. Ils possèdent souvent des poils glanduleux et des glandes sous- épidermiques à huiles essentielles

## 2-les plantes aromatique

### 2-1-Définition

Les plantes aromatiques une plante qui contient suffisamment des molécules aromatiques dans un ou plusieurs de ses organes producteurs : fleurs, fruits, feuilles, graines, racines, écorce et sont des plantes connues pour leur richesses en huiles essentielles (Beskri et al.,2005).



Figure01 : Quelques plantes aromatiques

### 3- Identité du deux espèces de la famille des *Lamiaceae*

#### 3-1-Romarin

##### 3-1-1- définition

*Rosmarinus officinalis* L est une espèce qui appartient à la famille des *lamiacées* qui sont des gamopétales super ovaires tétra cyclique appartenant à l'ordre des *Lamiales* (Messaili., 1995).

Le romarin est une plante aromatique originaire du littoral méditerranéen. Elle est prisée pour ses propriétés curatives depuis l'antiquité. Les médecins arabes tenaient le romarin en grande estime et l'utilisaient pour soigner un grand nombre de maladies, la plante pousse spontanément dans les forêts claires du Rif, du grand et du Moyen Atlas. Elle est également cultivée dans les jardins comme plante aromatique et ornementale (Messaili., 1995).



Figure 2 : *Rosmarinus officinalis* L (Photo personnel, 2022).

##### 3-1-2- Répartition géographique

Le romarin possède une aire géographique très vaste, il pousse sur tous types de terrains avec une préférence pour les sols calcaires, argileux, argileux-limoneux, situé dans les endroits ensoleillés, chauds, secs et abrités du vent (Quezel et Santa, 1963; Gilly, 2005).

Le romarin officinal est spontané dans toute la région méditerranéenne (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, France, Espagne, Portugal, Grèce, Turquie et Italie). cependant, étant donné qu'il est cultivé depuis l'antiquité, on le retrouve dans de nombreux pays d'Europe et d'Asie notamment

l'Inde, les Philippines, les Antilles, l'Australie, les Etats-Unis et le Mexique (**Pelikan, 1986 ; Teuscher et al., 2005**)

### 3-1-3-Classification botanique

Classification botanique de romarin (*Rosmarinus officinalis* L) (**Quezel et santa, 1963**)

<b>Règne</b>	Plantes
<b>Embranchement</b>	Spermaphyte
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Lamiales ( <i>Labiales</i> )
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i> L
<b>Nom vernaculaire</b>	iklil el jabal, romarin, Rosemary, herbe aux couronnes, rose marine.

### 3-1-4- Description botanique

Le romarin est un arbrisseau de la famille des labiées, peut atteindre jusqu'à 2 mètres de haut, à branches brunes dressées vers le haut ou rarement courbées vers le bas. Feuilles sessiles de 15 à 40 mm de long sur ,2 à 3,5 mm de large, droites, coriaces, à bords enroulés, d'un vert brillant et rugueux sur la face supérieure, blanches et velues sur la face inférieure. Pédoncule velu ; calice de 3 à 4 mm, vert ou violé et quelque fois velu lorsqu'il est jeune ; calice de 5 à 7 mm, glabre et veiné plus tardivement. Corolle de 10 à 12 mm, bleu pâle (rarement rose ou blanche). Fruits bruns. Présent sur sol sec (**Williams, 1996**).

#### a-Feuille :

Linéaire, gaufrée, feuilles coriaces, sessiles, opposées, rigides brillantes à bords repliés verdâtre en dessus plus ou moins hispides blanchâtre en- dessous de 18 à 50 x 1.5 à 3 mm. Les feuilles sèches dégagent une forte odeur et un gout amer. Elles contiennent jusqu'à à 2% d'huile essentielle oleum *Rosmarinus* =Oleum anthos, renfermant du Cinéol et du Borneol, des alcaloïdes et des acides organiques. Ces feuilles, voire l'essence de romarin, entrent dans la composition de nombreux produits Antirhumatismaux du fait de leur fortement rubéfiant sur la peau alcool spiritus *Rosmarinus* (**Janvolak et jinistodoa 1985**)

## b-Fleur

La floraison commence dès le mois de février (ou janvier parfois) et se poursuit jusqu'au avril – mai (**Bousbia, 2011**). Les fleurs sont des pentamères, en général Hermaphrodites. Le calice est plus ou moins bilabié persistant. La corolle bilabiée, longuement tubuleuse, parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre inférieure trilobée, la supérieure est bilobée. L'androcée est formé de 4 étamines, la cinquième étant très réduite, parfois 2 étamines et 2 staminodes. Le Gynécée forme 2 carpelles biovulés subdivisés chacun par une fausse cloison en 2 logettes uniovulées (**Madadori., 1982**)

## c-Tige :

Arbuste ou sous arbrisseau, rameau de 0.5 à 2 mètres cette tige est tortueuse, anguleuse et fragile. L'écorce est linéaire à cyme plus ou moins simulant des épis. (**Sanon, 1992**)



**Figure 03:** Feuille (**Academic, 2000-2014**)



**Figure 04:** La fleur (**Valter Jacinto ,2015**)



**Figure 05:** La tige (**paprikaetchocolat.wordpress.com**)

**de romarin (*Rosmarinus officinalis* L)**

## 3-2-la Mélisse (*Mélissa Officinalis* L) :

### 3-2-1-Définition

La *Mélissa Officinalis* vient du grec *Mélistophulon* qui signifie « feuille à abeilles ». On appelle aussi citronnelle ou mélisse-citronnelle, bien que la véritable citronnelle (*Cymbopogon nardus*) soit une graminée asiatique. Les anglais la nomment **lemon-balm** et les allemands Zitronenmelisse ou Melissenkraut (**Neché, 2019**).

C'est une plante herbacée vivace de la famille des *Lamiacées* (**Quèzel et santa, 1963**), et c'est une plante aromatique, est une vieille plante mellifère, condimentaire et médicinale, importée par les Romains et les anciens Grecs (**Feknouset al., 2014**), et Très recherché par les abeilles et il très répandue en Algérie (**Brunton, 1999 ; Feknouset al., 2014**).



**Figure 06:**La mélisse (*Melissa Officinalis L*) (Photo personnel, 2022).

### **3-2-2- Répartition géographique**

Mélisse citronnelle, est cultivée dans les jardins depuis des temps très anciens. Originaires d'Europe, elle a été introduite en Amérique du Nord. Les tiges et les feuilles sont encore utilisées comme tonique et stimulant léger. Le goût est astringent et l'arôme léger.

En Algérie, la mélisse est cultivée dans les régions de la Kabylie. Néanmoins, elle est spontanée dans les montagnes du Tell (Feknousetal., 2014). Plante originaire de l'Est du bassin méditerranéen, qui s'est répandue dans toute l'Europe dès l'Antiquité.

### **3-2-3-Classification botanique :**

**Nom scientifique :** *Melissa officinalis L*

**Nom commun :** Mélisse officinale, Mélisse Citronnelle ou simplement Citronnelle, Ifertizwa (Bérbère - Kabyle), Trandjane (Arabe)

## ➤ **Systématique**

Classification botanique de mélisse (*Melisse officinalis*.L) (**Quezel et Santa, 1963**).

<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Ordre</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Famille</b>	<i>Lamiaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Melissa</i>
<b>Espèce</b>	<i>Melissa officinalis</i> .L
<b>Nom vernaculaire</b>	<i>Herbe au citron, Piment des ruches à miel, migune</i>

### **3-2-4- Description botanique**

La mélisse (famille des lamiacées) est une plante herbacée aromatique, robuste et vivace, à rhizome court. Très parfumée, elle dégage une odeur agréable de citron, haute de 30 à 80 cm, à tiges dressées à section carrée. La mélisse a des petites feuilles ovales gaufrées vert vif et dentelées qui exhalent un parfum doux et citronné quand on les froisse. (**Neche, 2019 ; Alloun, 2019 ; Bounihi, 2016**). Les fleurs blanches ont une corolle longue de 12 mm, à deux lèvres.

#### **a- Feuille :**

Les feuilles sont simple, oppose, nervation, réticulée et mesurant de 5 à 8 cm sur 4 à 5 cm. La face supérieure, de couleur verte vif foncée est rugueuse au toucher car couverte de poils testeurs fins et courts de couleur blanche.. Les nervures, saillantes sur la face inférieure beaucoup plus pâle et glabre (**Bounihi, 2016**), forment un réseau entre les branches duquel le limbe est soulevé ce qui donne à la face inférieure un aspect gaufré caractéristique. Les feuilles des rameaux axillaires sont plus petites d'odeur citronnée (**Neche, 2019**)

#### **b-Tige :**

Elle est dressée, quadrangulaire - caractère typique des Lamiaceae-, plus ou moins velue ; peu ramifiée à la base, elle le devient fortement dans les parties hautes à la floraison. Les rameaux de la partie supérieure portent des fleurs et sont bien développés, tandis qu'ils sont courts et non fleuris dans la partie inférieure. Selon **Neche, (2019)** les tiges sont dressées et divisées en plusieurs

tiges secondaires dites rameuses. Sa haute de 30 à 80 cm (parfois elle peut atteindre jusqu'à 1 mètre).

**c-Fleur :**

La **floraison** a lieu de juin à septembre (**Bounihi, 2016**). Le type **d'inflorescence** est la cyme. de coloration blanche ou rose, brièvement pédonculées, les fleurs sont groupées par trois ou six en verticilles axillaires unilatéraux, espacés le long de la tige et insérés à l'aisselle des feuilles supérieures et centrales (**Alloun, 2019**)

**Le calice**, formé de cinq sépales, est bilabié, campanulé, recouvert de poils épars courts et comporte treize nervures. La lèvre supérieure est plane et tridentée tandis que la lèvre inférieure est bifide.

**La corolle**, constituée de cinq pétales blancs, forme un tube saillant arqué-ascendant et s'évase en deux lèvres dont la supérieure, dressée, concave, présente une échancrure et l'inférieure, plus grande, est divisée en trois lobes inégaux, le médian étant très élargi.

**L'androcée** est composé de quatre étamines didynames, arquées, convergentes au sommet.

Le gynécée, disposé sur un disque nectarifère, est constitué de deux carpelles soudés, avec fausse cloison, constituant ainsi quatre loges renfermant chacune un ovule anatrope. Le style est gynobasique, terminé par un stigmate bifide.

**La formule florale est donc la suivante : 5S + 5P + 4E + 2C.**

(5 Sépales+ 5 Pétales+ 4 Etamines+ 2 Carpelles).

**Le fruit** c'est un tétrakène de 1,5 à 2 mm de large, constitué de quatre petits akènes ovoïdes et lisses de couleur brun foncé. Ils restent longtemps au fond du calice desséché.



**Figure 7:** Les feuilles (Photo personnel, 2022).



**Figure8:** La tige (Photo personnel, 2022).  
de la mélisse (*Mélissa Officinalis* L)



**Figure9:** La fleur (Alloun, 2019)

## Chapitre II: les huiles essentielles

### 1-Définition les huiles essentielles

Les essences ou huiles essentielles, connues également sous le nom d'huiles volatiles, des parfumes, etc., sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, sont sécrétées par les plantes médicinales (**Durvelle, 1930**), ils sont un mélange hydrocarbures et de dérivés oxygénés des hydrocarbures ;

car certaines huiles contiennent des hydrocarbures et un peu d'oxygéné comme la térébenthine et il existe un autre type d'huiles qui se compose de composés d'oxygéné tels que l'huile de girofle (**Ali Mansour, 2006**)

Les huiles essentielles sont des produits très complexes (**Kalemba et Kunicka, 2003**). Il est obtenu à partir des feuilles, des brindilles, des fleurs, et des fruits, et aussi de la gomme qui coule des troncs d'arbres, grâce à méthodes physiques (**Burt, 2004**), elle est séparée de la phase aqueuse (**AFNOR, 2000**).

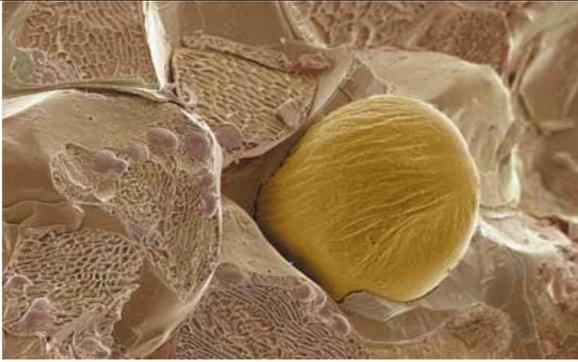
Selon **AFNOR (2000)**, les huiles essentielles sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche.

### 2- Caractéristique des huiles essentielles

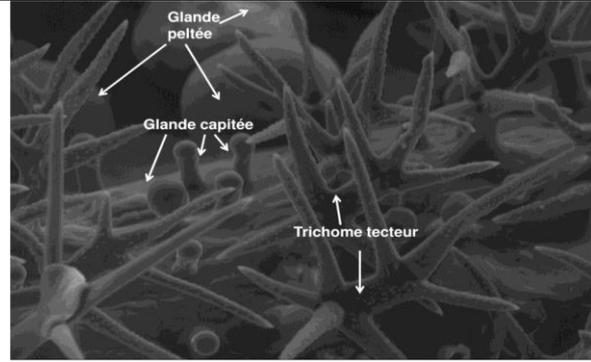
#### 2-1- Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, elles sont localisées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales sécrétrices qui se situent dans un ou plusieurs organes de la plante, à proximité de la surface des tissus de plantes et recouvertes d'une cuticule (**Beskri et al., 2005 et Iriti et al., 2006**), à savoir les poches sécrétrices (Myrtacées, Rutacées) ou les canaux sécrétrices (*Apiaceae* ou *Asteraceae*), les poils sécrétrices ou trichomes (Lamiaceae), les poches sécrétrices (Myrtaceae) et les canaux sécrétrices (Apiaceae), et les cellules sécrétrices (Zingiberaceae, Lauraceae) (**Fekam Boyom, 1992 ; Bruneton, 1993 ; Clarenton, 1999 ; Oussala et al., 2006 ; Piochon, 2008 ; Besombes, 2008 ; Bouyahya et al. 2016**), (Figures 10-15).

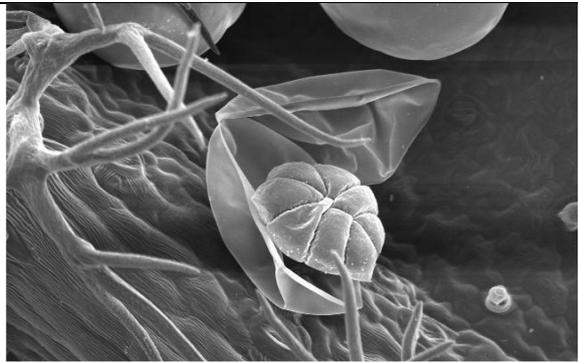
Ces huiles essentielles sont stockées dans les organes végétaux tel que les feuilles (citronnelle, eucalyptus,...) et les fleurs (bergamotier, tubéreux,...) elle sont habituellement dans les écorces, les racines, le bois, les grains et dans la peau des fruits (**Beskri et al., 2005**).



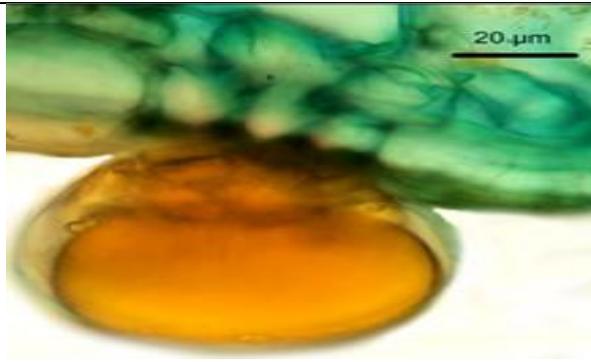
**Figure 10:** Cellule sécrétrice d'HE dans un rhizome de gingembre *Zingiber Officinale* Roscoe (MEB x 813) (Svoboda et al., 2000)



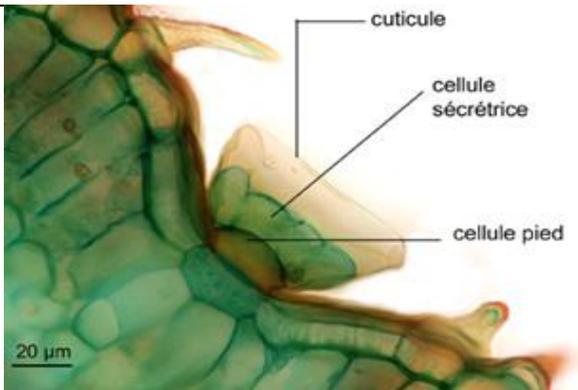
**Figure 11:** Trois types de trichomes sur calice de *Lavandula. Angustifolia* (MEB x500 12kV) (Ouïbrahim 2015)



**Figure 12 :** Détail des 8 cellules sécrétrices d'une glande peltée sur calice de *lanata* L. (MEB x500 8kV) (Ouïbrahim 2015)



**Figure 13 :** Poil sécréteur sur une feuille de *Thymus vulgaris*, contenant une goutte d'huile essentielle (Bernard, 2012)



**Figure 14 :** Cellule sécrétrice ayant libéré son huile essentielle de *T. vulgaris*, (Bernard, 2012)



**Figure 15 :** Glande sécrétrice avec cuticule dans la face inférieure de la feuille d'*O. vulgare* (Svoboda et Hampson 1999)

**Les figures 10-15** ci-dessus représentent des exemples des lieux de formation et d'accumulation des huiles essentielles.

## 2-2- Caractéristiques et propriétés physicochimiques des huiles essentielles

A température comprises entre 35°C et 40°C, les huiles essentielles sont liquides constituant ainsi des mélanges complexes de composés organiques (**Garnero, 2003**). Egalement, elles sont volatiles ce qui les oppose aux huiles grasses dites fixes. Cette volatilité leur confère le caractère odorant (Piochon, 2008). Elles sont liposolubles ainsi que solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool. Elles sont entraînées à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau (**AFSSAPS 2008, Vassart - Van Snicko, 2012**). A l'exception de quelques huiles notamment celles de saffras, de girofle et de cannelle et une variété de thym, qui se présentent sous différentes couleurs notamment rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym et jaune pour celles de la sauge et du romarin officinal, leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation, nécessitant une conservation dans l'obscurité et dans une ambiance humide. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre et opaque est recommandée (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

**Tableau 01** : Caractères organoleptiques et physico-chimiques des huiles essentielles

	Caractères organoleptiques			Caractères physico-chimiques			Référence
	Odeur	Aspect	Couleur	Densité à 20°C	Point éclair	Miscibilité dans l'alcool	
<b>Melisse</b> ( <i>Mélissa officinalis L</i> )	Fraîche citronnée et herbacée	Liquide	Jaune pâle à jaune orange	0.885 à 0.902	+80°C	NC	<b>Norme (AFNOR, 2000)</b>
<b>Romarin</b> ( <i>Rosmarinus officinalis L</i> )	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	0.907 – 0.920	/	/	<b>Norme (AFNOR, 2000)</b>

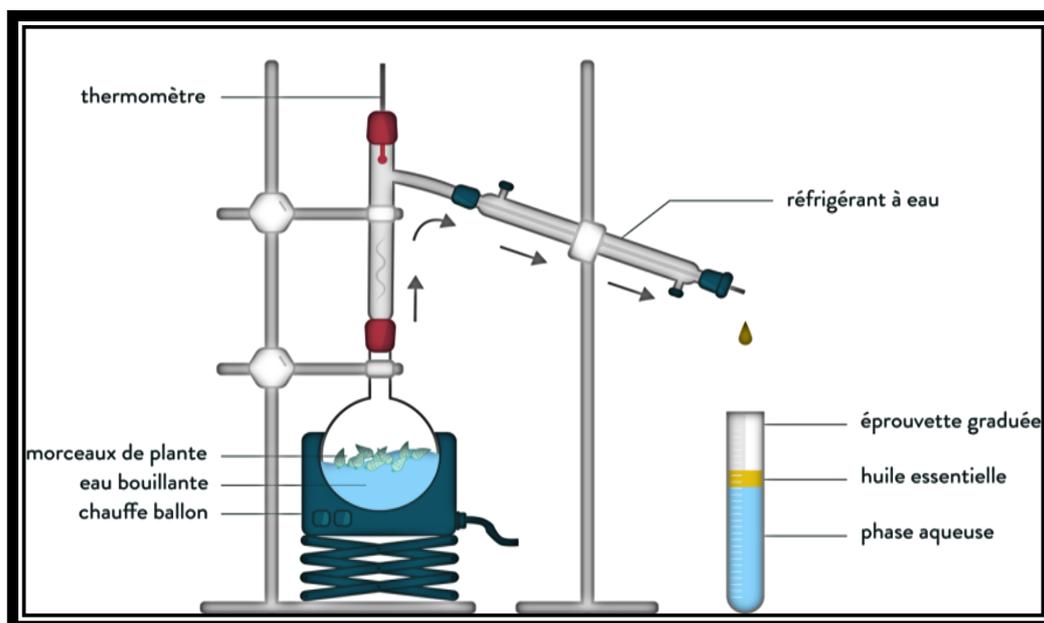
## 3-Technique d'extraction des huiles essentielles:

Selon **Boukhatem et al. (2019)**, l'extraction d'une l'huile essentielles (HE) est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, en effet, de capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et les plus fragiles qu'élabore le végétale, et cela sans en altérer la qualité.

Il existe plusieurs façons de l'extraire, et la méthode la plus appropriée est choisie en fonction de la nature du matériel végétal à traiter.

### 3-1- Extraction par hydrodistillation:

C'est le méthode le plus simple. L'hydrodistillation elle-même est une méthode standard d'extraction d'HE et de contrôle de qualité. De même que l'immersion de la matière première dans un bain-marie. Tous sont également portés à ébullition (**figure16**). Des vapeurs hétérogènes se condensent dans le réfrigérant et l'HE se sépare de la solution aqueuse, car l'huile essentielles est plus légère que l'eau (**Boukhatemet *al.*2019**).



**Figure 16:** Montage d'extraction par hydrodistillation

### 3-2-Entraînement à la vapeur d'eau:

Le but de cette méthode est de récupérer l'HE des plantes. La vapeur d'eau fournie par la Chaudière traverse les matériaux du réseau. Les cellules explosent et libèrent l'huile essentielle, tandis que la vapeur traverse la matière, ce qui conduit à l'évaporation de l'HE affectée thermiquement pour former un mélange eau + HE. Puis le mélange est transféré dans le condenseur l'essence avant de la séparer en une phase aqueuse et une phase organiques: l'huile essentielles (**Lucchesi, 2005**).

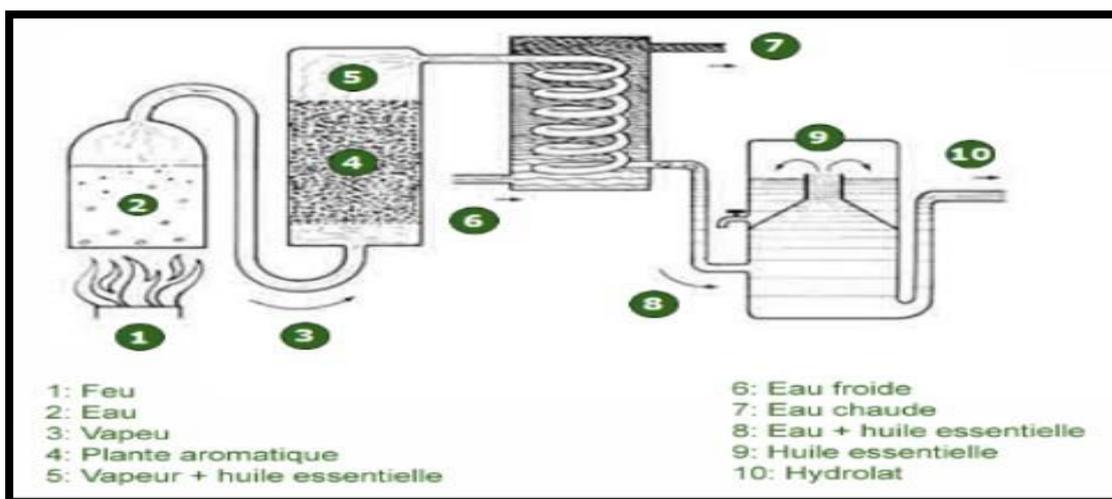


Figure 17:Entraînement à la vapeur d'eau

### 3-3-Extraction par micro-onde:

Le principe de ce procédé est réduire considérablement le temps de distillation et incrémenter le rendement. L'utilisation de fours à micro-ondes est une méthode d'extraction complète en plein développement par exemple SFME (Solvent Free Microwave Extraction) est une combinaison originale de techniques de chauffage par micro-ondes et de distillation sèche. Cela se fait en plaçant le matériel végétal dans un four à micro-ondes sans ajouter d'eau ou de solvant. Cela permet au chauffage interne de l'eau du plant de dilater ses cellules et d'entraîner la rupture des glandes sébacées et des vaisseaux. L'HE ainsi libérée est évaporée avec l'eau de la plante (Lucchesi et *al.*, 2007 ; Herzi, 2013).

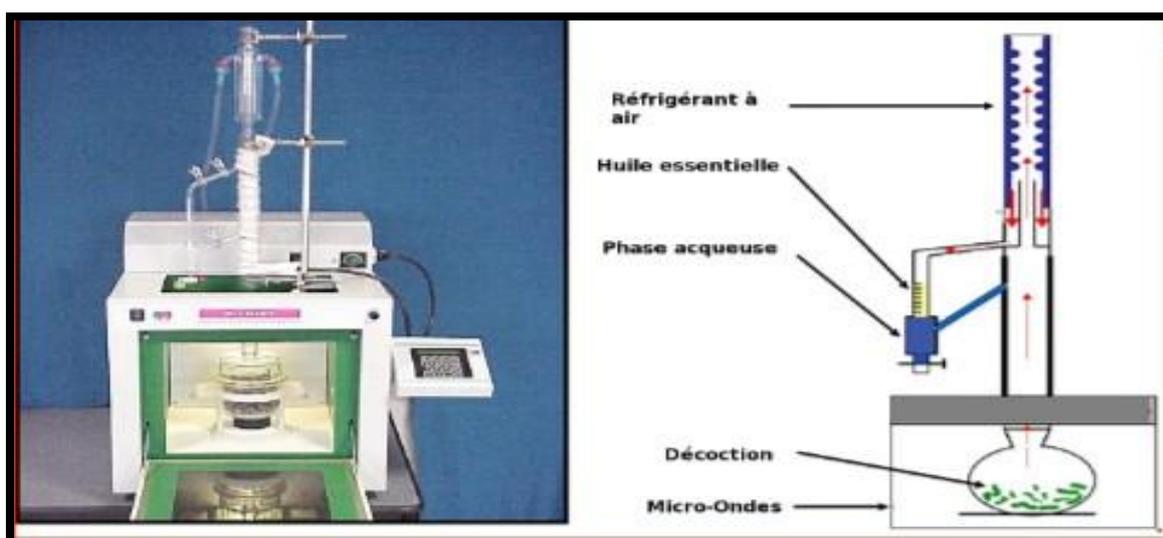


Figure 18: Montage d'extraction assistée par micro-onde

### 3-4- Hydrodiffusion:

Hydrodiffusion, est une co-distillation descendante. Dans ce procédé, le végétal est disposé dans un parallélogramme métallique grillagé. On soumet donc le végétal à une pulsion de vapeur d'eau, saturée et humide (Bousbia N, 2011). Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale (El Haib, 2011).

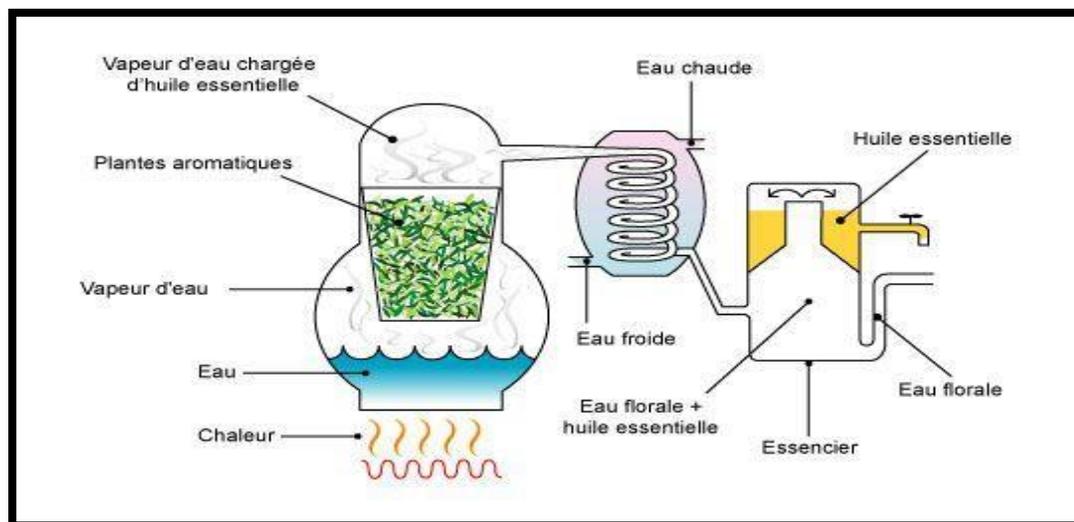


Figure19:Montage d'hydrodiffusion

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (El Haib, 2011).

### 4-Activités biologiques des huiles essentielles:

Les huiles essentielles et leur composants chimiques possèdent un large spectre des différentes activités biologiques des plantes aromatiques incluant les activités antioxydants (Arab et al., 2014; Bouzouita et al., 2008), antimicrobienne (Hanana et al., 2014), antifongiques (Parveen et al., 2014 ;Dorman et Deans, 2000), antibactériens (Magina et al., 2009), insecticides (Vera et al., 2014).

#### 4-1-Activités antioxydante

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire (Richard, 1992). Sont aujourd'hui commercialisés: c'est le cas de l'eugénol, du Thymol, du carvacrol (Bruits et Bucar, 2000; Tepe et al., 2005). L'activité antioxydante des huiles essentielles est exploitée dans la lutte contre le stress (Rezaire, 2007).

#### **4-2- Activité antibactérienne:**

Les extractions d'huiles essentielles dans les plantes aromatique de la famille des lamiacées: Origanum, Rosmarinus, Mentha et Thymus connus par ses activité antibactériennes (**Delamare et al., 2007**), et cette différent formulation comme les médicaments et la parfumerie (**Touré D, 2015**). Plusieurs travaux montrent

Cette activité est par ailleurs d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalemba, 2003**).

#### **4-3-Activité antifongique**

Les infections fonginque sont très fréquents dans notre société et les HEs et leur composants présentant également une activité contre les champignons activités qui est de mieux décrite, un large éventail de pathogènes humains, animaux et agricoles ont montré une importante sensibilisé aux HEs in vitro (**Hammer et al 1996 et Hammer et al 1999**)

Parmi les constituants actifs dans HEs qui sont responsable de l'activité antifongique : lecarvacrol et thymol qui ont prouvé une action sur des espèces fonginque responsable de l'altération des aliments telles qu'*Aspergillus niger*, *Aspergillusflavuset Aspergillus parasiticus* (**Razzaghi-Abyaneh et al, 2009**).

#### **4-4-Activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne inclue sur les bactéries, champignons, virus et protozoaires (**Jiovetz et al 2006**), elle est généralement liée aux composés majoritaires que contient l'huile essentielles, comme les monoterpènes, sesquiterpènes et les composes non terpéniques tels les phénylpropanoïdes, ainsi que les composes soufrés qui sont souvent des composés antimicrobiens (**Carson et Hammer 2011**)

De nos jour, leur utilisation se fait sur des bases scientifique et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche portent sur les propriétés antimicrobienne des HEs des plantes aromatiques (**Cox et al., 2000;Ettatyebi et al.,2000**).

#### **4-5-Activités insecticide**

Généralement les huiles essentielles sont utilisées pour leurs activités insecticides (**Burt 2004**) et elles ont une toxicité sur les insects nuisibles aux grains .les principaux constituants des HEs comme les monoterpènes ,sont également intéressants pour les marches industriels en raison de leur activités biologiques puissantes en plus de leur toxicité pour les insects (**Lee et al 2004**) par exemple de l'huile essentielles de romarin qui ai montré une importante activités insecticide contre le Charançon du riz (**Lee et al 2001; Prieto et al 2011**)

## 5-Les modes d'application des huiles essentielles

On peut utiliser les huiles essentielles en goutte buvables, en gélules, en suppositoires et ovules, en bains mélangées à des huiles végétales ou lait des massages à raison 10 % d'huile essentielle et 90 % huiles végétales.

– *Sur la colonne vertébrale* : Pour apaiser le système nerveux (*Lavandula officinalis*).

– *Sur le thorax* : Pour agir sur les bronches avec des HEs riches en cinéol (*Eucalyptus radiata*)

- *Pour activer les fonctions corticosurrénales* : Frictionner la région avec des huiles essentielles positivement riches en terpènes (*Pinus Sylvestris*).

- *Dans le cas d'une infection/inflammation* : Placer les huiles essentielles sur la gorge et la nuque (*Bois de Rose*).

- *Pour la peau* : C'est l'un des usages, le plus pratique des huiles essentielles. De plus la résorption percutanée des huiles essentielles à lieu très rapidement.

- *Par voie orale* : Quand il ya urgence, on peut les absorber mélangées dans un excipient (huile végétale, Miel) avec une efficacité plus puissante que par voie percutanée **Sikkema et al (1995) et Michael T (2002)**

Mais dans le domaine apicole, 3 méthodes d'application des huiles essentielles pour lutter contre le parasite varroa destructeur (**Anderson et Truman, 2000**), est une maladie qui menace l'abeille domestique et se reproduit dans les cellules du couvain des ouvrières et des faux bourdons (**Rehm Et Ritter, 1989 ; Beetsma et al., 1999**).

### 5-1-Traitement par Fumigation :

Cette technique semble plus intéressante dans la lutte contre le varroa. La matière fumigène était au début placée dans l'enfumoir, qui doit se consumer d'une forte source de chaleur et le plus rapidement possible. Les dégagements de la fumée et son efficacité dans la lutte contre ces parasites sont liées à plusieurs conditions :

- Au moment de l'emploi, la température doit être supérieure à 18°C. car à basses températures, la grappe se forme et s'oppose à toute pénétration de la fumée.
- La matière végétale doit se consumer très rapidement et sans flammes pour ne pas détériorer la molécule active.
- Pour que cette matière végétale atteigne son efficacité maximale, un grand volume d'air est conseillé (**Tahi, 2013**).



**Figure 20** : Traitement par fumigation [1]

### **5-2-Traitement par Ingestion (sirop)**

Altération de la reproduction via l'alimentation de sirops contenant des huiles essentielles, lorsque les varroas se nourrissent de larves contenant des huiles essentielles, leur reproduction est interrompue. Si l'huile est assez forte, les femelles sont incapables de pondre. Si les huiles sont en plus faible concentration, les œufs sont pondus, mais le développement des acariens immatures est retardé ; les jeunes acariens n'atteignent pas la maturité avant les abeilles sortent de la cellule ; par conséquent, les acariens immatures meurent, l'alimentation de sirop de sucre aux huiles essentielles à l'entrée, ou dans le couvain 25 gouttes d'huile sont ajoutées à une pinte de miel (ou deux tasses de sucre (environ une livre ou 453,6 grammes) dans un pot d'un litre (0,95 litre); de l'eau chaude est ajoutée pour remplir le bocal. Ils ont trouvé qu'il faut ajouter l'huile au sucre semoule puis ajouter l'eau très tiède (pas trop chaude sinon les huiles s'évaporent). Ils nourrissent les abeilles autant de sirop qu'elles en prendront ; utilise ½ pots de gallon sur ses mangeoires d'entrée. Ils ont eu de bons résultats avec la gaulthérie, la menthe verte, le romarin et huiles de menthe poivrée (**Amrine Jet al1996**).



**Figure 21** : Traitement par ingestion (sirop) [2]

### 5-3-Traitement par Ingestion (candi)

Cette technique consiste à ajouter une dose bien déterminée d'huile essentielle, la préparation de la candi traitée sont faites avec quatre tasses de sucre cristallisé, deux tasses de graisse et avec 11,5 cc de chaque de deux huiles quelconques. Les composants sont soigneusement mélangés (portez des gants ou utilisez un mélangeur ou une grande cuillère). Le mélange est ensuite préparé en galettes de 4 onces (comme une petite Hamburger) ; chaque galette est ensuite divisée et placée au-dessus de chaque boîte à couvain (**Amrine J et al., 1996**)



**Figure 22 :** Traitement par ingestion (candi)

**PARTIE**  
**EXPERIMENTALE**

## Chapitre III : Matériel et méthodes

### 1-Objectifs

Le présent travail contribue à l'étude des genres *Melissa* (*Mélissa Officinalis* L) et *Rosmarinus* (*Rosmarinus Officinalis* L) appartenant à la famille des lamiacées à travers la région de Djendel. Wilaya de Ain Defla, et la mise en évidence des variations du rendement et de la composition de l'huile extraite par la méthode d'hydrodistillation des diverses espèces, Les plantes sont récoltées durant les années 2021-2022, Les objectifs fixés sont résumés ci-après :

- Extraction et récupération des HES de *Mélissa Officinalis* et *Rosmarinus Officinalis* L par hydrodistillation,
- La caractérisation physicochimique des huiles essentielles extraites du genre *Mélissa* et *Rosmarinus* par les techniques GC et GC/MS

L'extraction, l'analyse et la caractérisation physicochimique des huiles essentielles de la mélisse et romarin a été effectuée au niveau du laboratoire de valorisation des ressources naturelles de l'Université Djillali Bounaama de Khemis Miliana,

### 2- Présentation de zone d'étude:

#### 2-1- Situation géographique:

Deux plantes étudiées des espèces (*Mélisse* et *Rosmarinus Officinalis* L). Ont été fraîchement récoltées en mois de Novembre 2021 de région de Djendel, à environ 47 km de la wilaya d'Ain Defla. Utilisé seulement la partie aérienne (tiges et feuilles).



Figure 23 : Position géographique du site des plantes étudiées (Google Earth, 2021).

### 3-Matériau végétale:

#### 3-1-Séchage et conservation

Les parties aériennes (feuilles et tige) *Mélissa Officinalis* et *Rosmarinus Officinalis* L ont été récoltées durant l'année (2021-2022) une fois, le matin à 9h, pour l'extraction des huiles essentielles, Le matériel végétal recueilli est étalé, séché, à l'air libre, pendant huit jours permettant de garantir une bonne conservation de ses paramètres physicochimiques d'une part, et d'autre part d'empêcher la prolifération bactérienne (**Wichtl et Anton, 2003; Nicolas et Billaud, 2006**)

Les parties aériennes faisant objet d'expérimentations sont conservées dans des sacs en papier, Un spécimen a été déposé à l'Herbarium du Département des sciences Agronomique de l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana.

Une fiche d'inventaire a été établie comportant les données suivantes : l'espèce, la commune, la localité (le lieu-dit).

L'identification botanique a été faite sur la base d'un spécimen d'herbier réalisé par M'KOUACHE Benmoussa UDBKM.



**Figure 24:** Feuilles et tiges de *Rosmarinus Officinalis* L séchées (Photo personnel, 2022).



**Figure 25:** Feuilles et tiges de mélisse (*Mélissa Officinalis* L) séchées (Photo personnel, 2022).

#### 3-2-Détermination de la matière sèche

La matière sèche du *Rosmarinus Officinalis* et *Mélissa Officinalis*, est déterminée par le procédé de dessiccation de 1gr de la matière végétale séché à l'air libre (**Linden et Lorient, 1994**), à une température de  $105^{\circ}\pm 2$  C dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique pendant 24h (**AOAC, 1990**),

$$MS\% = (Pds\ Sec/Pds\ Frais) \times 100$$

**Pds Frais :** poids du matériel végétal séché à l'air libre,

**Pds Sec :** poids du matériel végétal après passage à l'étuve,

**MS % :** Matière sèche,

#### **4- Méthode des extractions d'huiles essentielles**

##### **4-1- Extraction d'huiles essentielles par hydrodistillation:**

Ce travail à été réalisé au niveau du laboratoire de l'université Djilali Bounaama de Khemis Miliana de la faculté des sciences et de la technologie ST (Laboratoire de Valorisation des Substances Naturelles (LVSN)

Durant la période de 03 Mars 2022 au 22 Mars 2022

##### **4-2- Principe de l'extraction des huiles essentielles:**

L'extraction des huiles essentielles de plusieurs échantillons des feuilles et des tiges sèches des deux espèces différentes (*Mélissa Officinalis* L et *Rosmarinus Officinalis* L), ont été extraites par l'appareil de hydrodistillation de type Clevenger au laboratoire de Valorisation de Substances Naturelles.

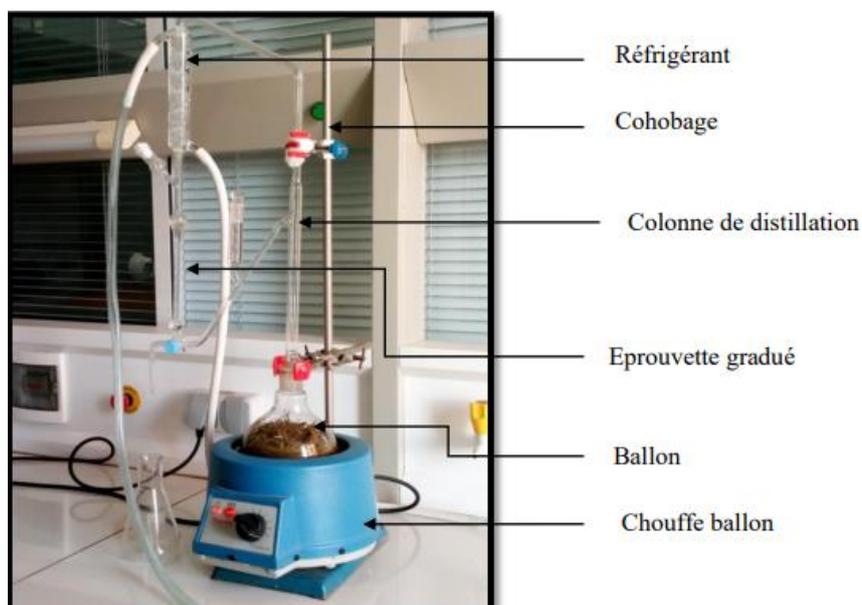
##### **4-3-Matériel utilisées au laboratoire:**

- ✓ Erlenmeyer de 250 ml
- ✓ Balance analytique
- ✓ Appraeil l'hydrodistillation de types clevenger.
- ✓ Les tubes eppendorf en plastique
- ✓ Réfrigérateur
- ✓ L'eau distillée
- ✓ Matériel végétale sèche (feuilles, tiges) de Mélisse et Romarin

##### **4-4- Mode opératoire**

L'extraction des HEs des deux plantes étudiées (Mélisse et Romarin) été effectuée a l'aide d'un dispositif de types clevenger, avant utilisation, l'appareil a été rincé avec l'eau distillé (mis à blanc), afin d'éliminer et nettoyer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil pour évite tout contamination de l'huile du cours de l'extraction.

Dans chaque échantillons on prendre 50g de matière sèche, soumises avec 500 ml d'eau distillé dans un ballon de 1000 ml de hydrodistillateur à température d'ébullition 100° C, la durée de distillation pendant entre 2 h et 3h à l'aide d'un chauff-ballon.



**Figure 26** : Hydrodistillateur de type clevenger (Photo personnel, 2022).

Lorsque l'eau arrive à ébullition, l'éclatement des cellules permet la sortie de l'essence aromatique, Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le condenseur, Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans un collecteur, L'huile essentielle, de faible densité surnage en surface de l'eau. Après l'extraction, le volume d'huile essentielle obtenu a été conserve dans un eppendorf en plastique stérile et couvert l'eppendorf d'un papier aluminium à l'abri de la lumière puis conserve dans un Réfrigérateur à 4°C jusqu'au son usage pour l'analyse des HEs par CG/SM.

#### 4-5- Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée (AFNOR, 1986), Le rendement ( $R_{HE}$ ) est exprimé en pourcentage, et est donné par la formule suivante :

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

$R_{HE}$ : Rendement en huiles essentielles,

$M_{HE}$ : quantité d'huile essentielle récupérée (gr)

$M_S$  : quantité de la matière végétale sèche utilisée (gr)

#### **4-6-Cinétique d'extraction**

Selon **Bachelot et al., (2006)**, la cinétique d'extraction a pour but de fixer le temps nécessaire pour extraire le maximum d'huile et pour éviter les pertes de temps et d'énergie, La cinétique consiste à déterminer le rendement en fonction du temps d'extraction.

Dans notre étude, le rendement est déterminé par prélèvement de l'huile essentielle à des intervalles de temps réguliers de 15 minutes qui s'étalent de 0 à 120 minutes en tenant compte que le début de l'extraction commence dès la formation de la première goutte du distillat, cette étape correspond à la mise à la température d'ébullition d'eau.

#### **5-Analyse chromatographique en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) de l'huile essentielle**

Dix milligrammes d'huile essentielle ont été dissous dans cinq millilitres d'éther diéthylique, puis 1 $\mu$ L de cette solution est utilisé pour l'analyse par la chromatographie en phase gazeuse et par la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS)

- **Analyse GC**

L'analyse de l'huile a été réalisée à l'aide d'un système HP GC 6890 de technologie Agilent avec détecteur à ionisation de flamme (FID), utilisant une colonne capillaire revêtue de phényl-méthylsiloxane à 5% (30 mx 0,25 mm x épaisseur de film de 0,25  $\mu$ m Agilent Technologies, Hewlett-Packard, CA, USA), Le programme de température était le suivant: 40 ° C pendant 1 min, puis élevé dans une première rampe à 200°C à 6°C/ min, suivi d'une seconde rampe à 280°C à 30°C/min, et finalement maintenu à 280°C pendant 2 min, L'injection a été réalisée en mode sans division à 280°C; le volume injecté était de 1  $\mu$ L d'huile diluée (10 mg d'huile / 5 mL d'éther diéthylique), La température du détecteur a été fixée à 300 ° C; Le gaz porteur était de l'hélium à 1 ml/min

- **Analyse GC-MS**

L'analyse a été réalisée avec un système CG Agilent HP 6890 couplé à un détecteur sélectif de masse réseau HP 5973 Agilent actionné par le logiciel HP Enhanced Chem Station, Les conditions analytiques ont été fixées comme suit: Colonne capillaire Agilent HP-5MS (30 mx 0,25 mm, df=0,25  $\mu$ m), injecteur sans éclats à 250°C (mode sans division), programme de température: de 40°-250°C à 6°C/min, phase mobile: gaz porteur hélium à 1 mL/min, Les spectres de masse ont été enregistrés en mode EI (70 eV), gamme de masse scannée: de 35 à 500 amu, Les températures de source et de quadripôle ont été fixées à 230°C et 150°C, respectivement,

L'identification des composants a été réalisée sur la base d'indices de rétention chromatographiques et par comparaison des spectres enregistrés avec la banque spectrale calculée (Wiley 275, L) (Adams,2001), Pour les hydrocarbures sesquiterpéniques, d'autres confirmations ont été obtenues en comparant les spectres de masse avec les données de la littérature (Adams, 2001et Joulain, König, 1998), Les indices de rétention (RI) ont été calculés au moyen d'un mélange de n-alcanes homologues (C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>) analysés dans les mêmes conditions chromatographiques que celles utilisées pour l'analyse des huiles essentielles (Adams, 2001).

L'identification des différents composants est basée sur la comparaison des temps de rétention de chaque composant, leurs spectres de masse et leurs indices de Kovats(KI) donnés par la littérature (Joulain, König, 1998 ; Adams, 2001) avec ceux des composés standards de la banque de données informatisées (Wiley 275, L), ceux décrits par Adams (2001)



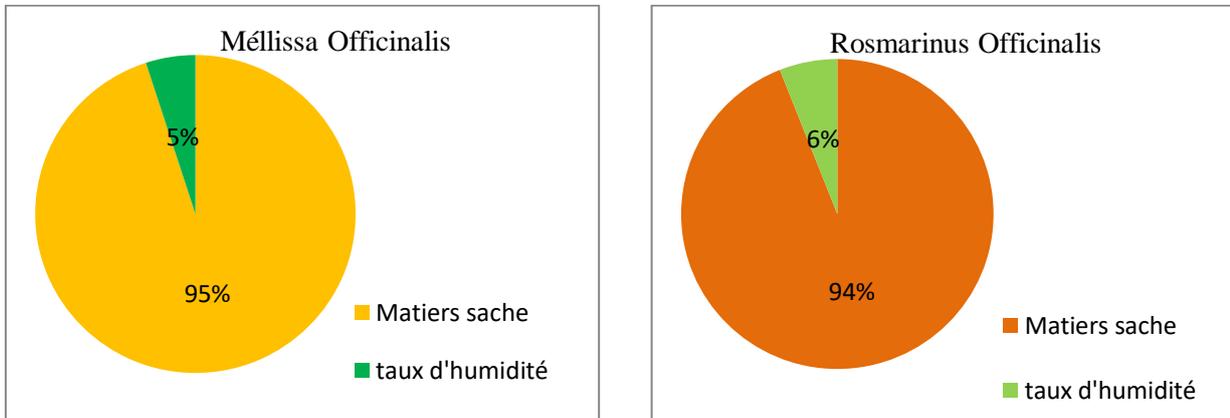
**Figure 27** : Appareille de chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (CG/MS) (Photo personnel, 2022).

## Chapitre IV

### Résultats et discussion

#### 1-Extractions des huiles essentielles

##### 1-1-Détermination de la matière sèche



**Figure 28 :** Teneur de MS de *Mélissa Officinalis* L et *Rosmarinus Officinalis* L

Nos résultats qui représente dans la figure 28 marquant que le taux de MS très élevés pour les deux plante (*Mélissa Officinalis* L 95% et *Rosmarinus Officinalis* L 94%) a cause de quelque facteur climatique tell qu'un taux d'humidité relative de l'air diminué avec une température élevé.

##### 1-2- Caractères organoleptiques d'HEs

Les seuls critères d'applications d'une huile essentielle étaient ses propriétés organoleptiques tels que le goût, la couleur, et l'odeur, Ces propriétés ne donnent qu'une information très limitée sur cette essence, La qualité d'une essence et sa valeur commerciale sont définies par des normes fixées, Ces normes ont été établies par plusieurs organisations connues à l'échelle mondiale (**AFNOR, ISO...**), en précisant les conditions opératoires des analyses, et en mettant au point des monographies pour la caractérisation des huiles essentielles les plus courants, Après l'extraction, nous avons déterminé les caractères organoleptiques de notre huile essentielle et comparé à ceux des normes **AFNOR (2000)**

Les caractères organoleptiques sont présentés dans les tableaux suivant :

**Tableau 02** : les caractères organoleptiques de HEs de Romarin (*Rosmarinus Officinalis L.*).

Les HEs	Caractéristiques Organoleptiques	Normes (AFNOR, 2000)	Les HEs extrait
<b>Romarin</b> ( <i>Rosmarinus Officinalis L.</i> )	Aspect	Liquide mobile, Limpide	Liquide
	Couleur	Presque incolore à Jaune pale	Jaune pale
	Odeur	Caractéristique fraîche plus ou moins camphrée de l'origine	Fraiche forte

L'huile essentielle de romarin est pratiquement incolore. Son odeur vivifiante varie selon les variétés de romarin mais, généralement, elle est plutôt riche, aromatique, puissante et camphrée. Les résultats des caractères organoleptiques de l'HEs de Romarin (*Rosmarinus Officinalis L.*) sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes (AFNOR, 2000).



**Figure 29** : Huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis L.* (Photo personnel, 2022)

**Tableau 03:** les caractères organoleptiques de HEs de la mélisse (*Mélissa Officinalis L*)

Les HEs	Caractéristiques Organoleptiques	AFNOR 2000	Les HEs extrait
Citronnelle ( <i>Mélissa Officinalis L</i> )	Aspect	Liquide	Liquide
	Couleur	Jaune pâle à jaune orange	jaune orange
	Odeur	Fraîche citronnée et herbacée	Fraîche citronnée

L'huile essentielle préparée, présente les caractères organoleptiques suivants : Aspect : liquide, Couleur : jaune orange, odeur : Aromatique et Type : volatil

Les résultats des caractères organoleptiques de l'HEs de citronnelle (*Mélissa Officinalis L*) sont en accord avec ceux répertoriés dans les Normes AFNR 2000



**Figure 30 :** Huiles essentielles de la mélisse (*Mélissa Officinalis L*) (Photo personnel, 2022).

## 2- Détermination du rendement

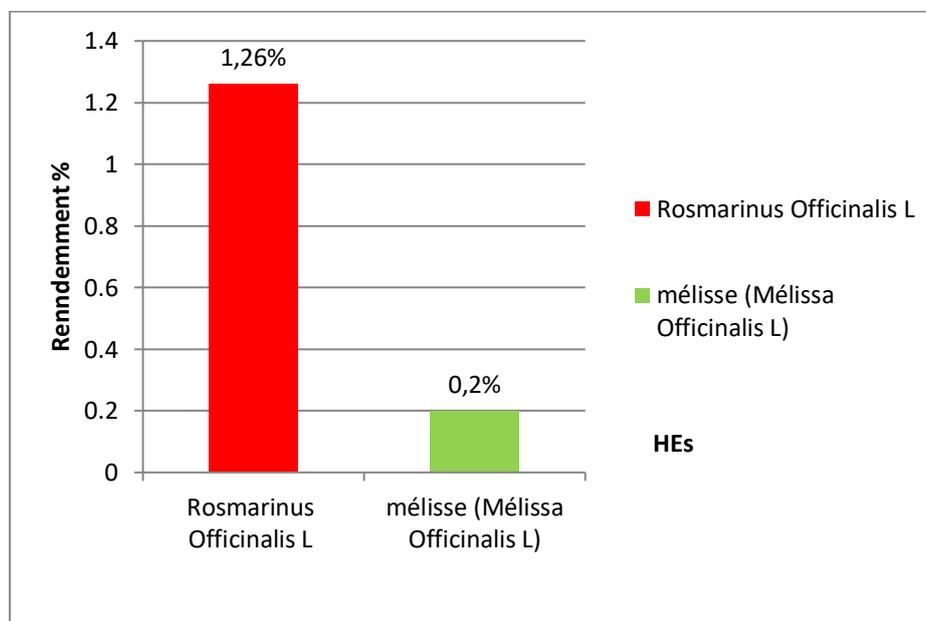
Les résultats de calcul des rendements obtenus après l'extraction des huiles essentielles des plantes étudiées (Mélisse et Romarin), par hydrodistillation. Les rendements exprimés en pourcentage, a été déterminé par la formule indiquée dans le chapitre matériel et méthode. Sont présente dans les tableaux 6 et 7.

**Tableau 04:** le rendement en HEs de *Rosmarinus Officinalis* L

Nombre Extraction	01	02	03	04	05	06	Moyenne
Poids sèche(g)	50	50	50	50	50	50	50
Durée d'hydrodistillation(Heure)	2h						/
Huile essentielle	0.5	0.7	0.5	0.5	0.6	1	0.63
Rendement d'HEs%	1	1.4	1	1	1.2	2	1.26

**Tableau 05 :** le rendement en HEs mélisse (*Mélissa Officinalis* L)

Nombre d'extraction	01	02	Moyenne
Poids sèche(g)	50	50	50
Durée d'hydrodistillation(Heure)	3h		/
Huile essentielle	0.1	0.1	0.1
Rendement d'HEs%	0.2	0.2	0.2



**Figure 31:** Histogramme des rendements de l'HEs de *Rosmarinus Officinalis* L et *Mélisse (Mélissa Officinalis* L)

L'extraction de quelque échantillon effectué par hydrodistillation a fourni un rendement moyen de six extractions de (1.26% ) pour *Rosmarinus Officinalis*, et 0.2% HEs pour la Melisse (*Mélissa Officinalis*) obtenus à partir de moyen de deux extractions (tableau 06 et 07).

Tenant compte de la récolte fraîche (plante jeune) de *Mélissa officinalis*, on peut constater que notre plante est très pauvre en HEs (R = 0.2% %). A noter que les travaux effectués par **Heitz et al (2000) et Abdelli W., (2017)** ont montré un rendement similaire en HE (de l'ordre de 0,26 %), de la région de hammam melouane de Blida.

En effet, les teneurs en H.E varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des paramètres d'extraction : solide-liquide, la température, le solvant d'extraction, la taille des particules et le coefficient de diffusion du solvant. Il a été démontré aussi, que l'extraction à températures élevées permettait d'obtenir des rendements plus élevés que lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante.

Cette faiblesse peut être aussi expliquée par la méthode choisie (hydrodistillation par Clevenger), ainsi que les paramètres climatiques de la région de la récolte.

En générale, malgré la région de récolte est le même et les deux plantes sont de même famille, ces teneurs de rendement peuvent être influencé par plusieurs facteurs notamment le degré de maturité des plantes, les facteurs climatiques (la température et l'humidité), et la période de collecte.

### **3-Détermination l'analyse des huiles essentielles par CG/SM :**

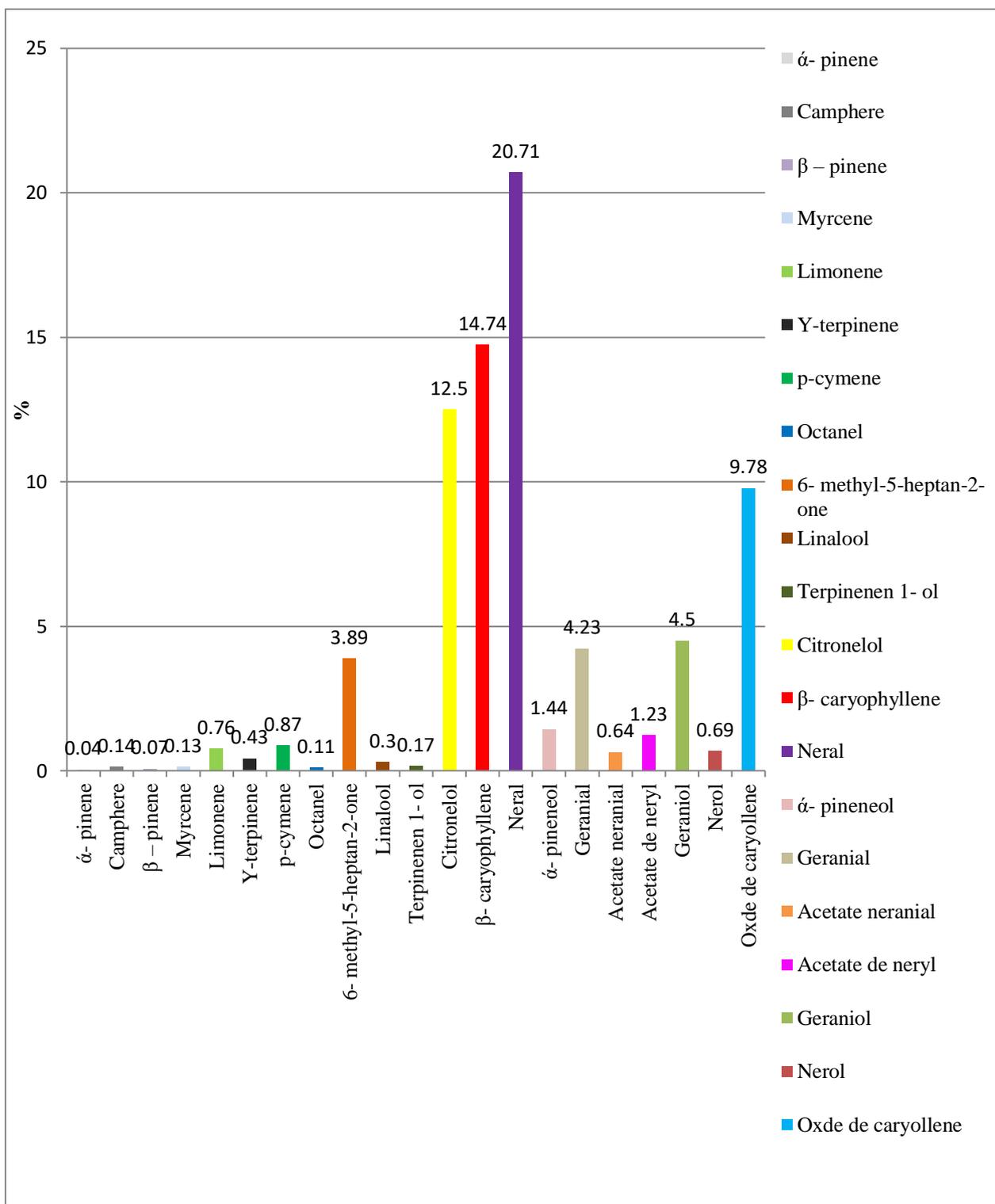
Les composés volatils des huiles essentielles de la *Melissa officinalis* et *Rosmarinus officinalis* isolés par hydrodistillation ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC/MS). Les résultats obtenus Les principaux composants des huiles essentielles et leurs pourcentages.

#### **3-1-Huile essentielle de *Melissa officinalis* :**

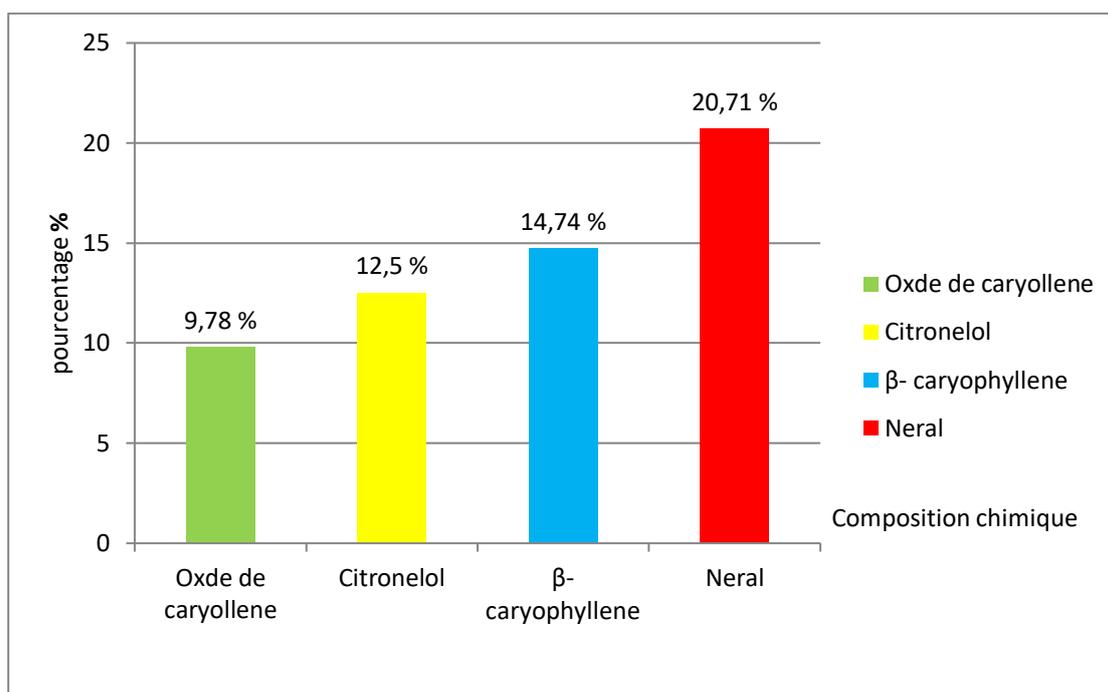
L'analyse chimique d'HEs de *Melissa officinalis* par CG/SM permet d'identifier 21 constituants différentes (Tableau 06 et figure 32) représentent environ 77.37% la masse total de plante, dont les Constituants majoritaires sont : Oxde de caryollene (9.78%), Citronelol (12.50%),  $\beta$ -caryophyllene (14.74%) et Neral (20.71%) (Figure 33).

**Tableau 06 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Melissa officinalis* à l'état cultivé

<b>Constituants</b>	<b><i>Melissa officinalis</i> (feuilles sèches) (%)</b>
α- pinene	0.04
Camphere	0.14
β – pinene	0.07
Myrcene	0.13
Limonene	0.76
γ-Terpinene	0.43
p-cymene	0.87
Octanel	0.11
6- methyl-5-heptan-2-one	3.89
Linalool	0.30
Terpinen-1-ol	0.17
<b>Citronelol</b>	<b>12.50</b>
<b>β- caryophyllene</b>	<b>14.74</b>
<b>Neral</b>	<b>20.71</b>
α- pineneol	1.44
Geranial	4.23
Acetate neranial	0.64
Acetate de neryl	1.23
Geraniol	4.5
Nerol	0.69
<b>Oxide de caryollene</b>	<b>9.78</b>
Identifies	
Non identifies	



**Figure 32 :** Histogramme des différentes compositions chimiques de l'HE de *Melissa officinalis*



**Figure 33:** Histogramme des constituants majoritaires de l'HEs de *Melissa officinalis*

L'étude de la littérature révèle des différences quant à la composition qualitative et surtout quantitative de l'huile essentielle de mélisse. En effet, nous avons constaté que les teneurs des différents composés sont loin d'être fixes et varient parfois beaucoup d'une étude à l'autre. Les résultats obtenus et essayer de comprendre ces variations chez *Melissa officinalis* L., plusieurs facteurs sont à prendre en considération (âge, altitude, le climat).

D'après **ADZET** et coll en 1992 Les biotypes de *Melissa Officinalis* subsp. *Officinalis* provenant de plusieurs pays (Allemagne, Irlande, Grande Bretagne, Suisse, Autriche, Pays-Bas, France et Grèce) ont présenté un taux d'HEs. Supérieur à ceux obtenus dans leurs pays d'origine Espagne avec un taux moyen de 0,3%.

D'autre part, dans leurs travaux de Mulken et coll 1988, se sont intéressés à l'influence de l'altitude sur la production et la composition de l'HEs de *Melissa officinalis* L.

Mélisse d'origines différentes (Suisse et France) et cultivées à trois altitudes (450 m, 900 m, 1400 m). Il en résulte que l'altitude ne semble pas être une condition favorable à la croissance et à la productivité de ces plantes : les plantes cultivées à 900 et 1400 m ne se sont pas acclimatées et leurs rendements en essences sont inférieurs à celui des cultures de plaine.

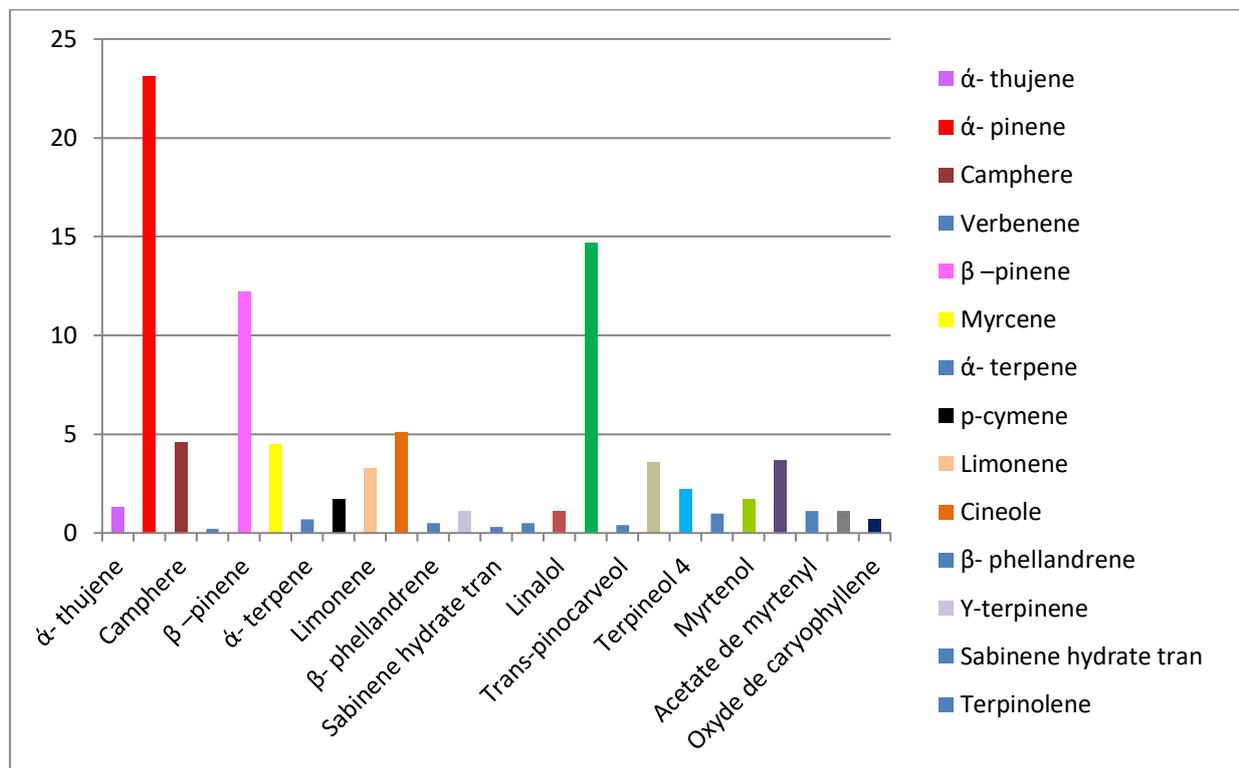
### 3-2- Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* :

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles d'échantillon de romarin (*Rosmarinus officinalis* L) ont permis d'identifier 31 composés (Tableau 07 et figure 34) représentent environ 91,8% de la masse total de plante, après 60 min d'extraction montrent bien l'influence de durée d'extraction sur le taux des principaux composants de huile essentielle.

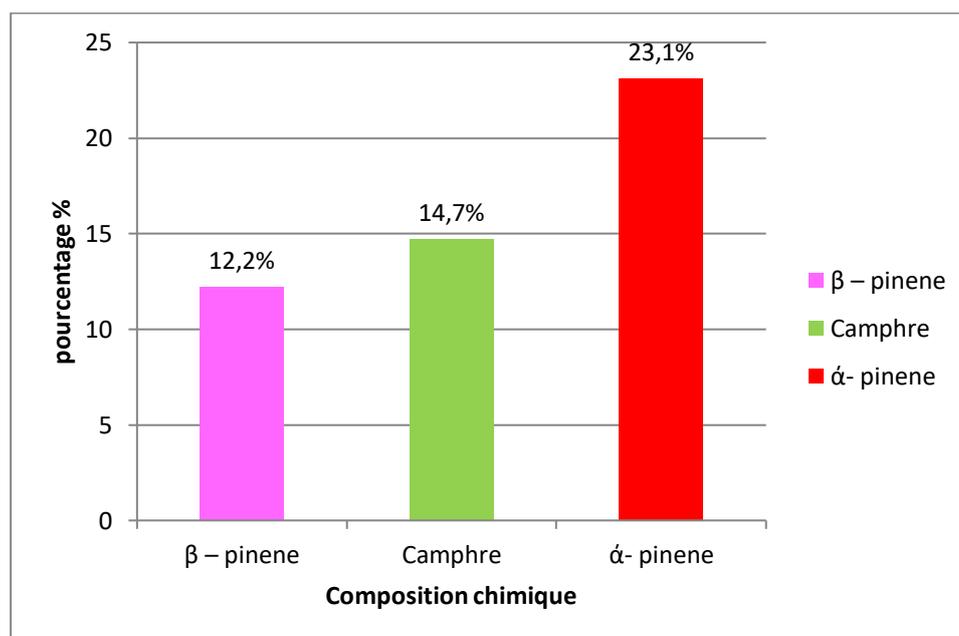
La composition chimique de *Rosmarinus officinalis* Lest marquée par la présence du  $\alpha$ - pinene (23.1%), Camphre (14.7%), et  $\beta$ -pinene (12.2%) comme constituants majoritaires (figure35)

**Tableau 07** : composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à l'état cultivé

Constituants	Rosmarin cultivé (feuilles sèches) (%)
$\alpha$ - thujene	1.3
<b><math>\alpha</math>- pinene</b>	<b>23.1</b>
Camphere	4.6
Verbenene	0.2
<b><math>\beta</math> -pinene</b>	<b>12.2</b>
Myrcene	4.5
$\Delta$ -carene	---
$\alpha$ - terpene	0.7
p-cymene	1.7
Limonene	3.3
Cineole	5.1
$\beta$ - phellandrene	0.5
$\gamma$ -terpinene	1.1
Sabinene hydrate trans	0.3
Terpinolene	0.5
Linalol	1.1
Chrysanthenone	-
<b>Camphre</b>	<b>14.7</b>
Trans-pinocarveol	0.4
Pinocamphore	TRACE
Borneol	1.4
Isopinocamphore	3.6
Terpineol 4	2.2
$\alpha$ -terpinol	1.0
Myrtenol	1.7
Verbenone	-
Trans-oxyde de pipéritone	-
Acetate de bornyl	3.7
Acetate de myrtenyl	1.1
(E)- $\beta$ - caryophyllene	1.1
Oxyde de caryophyllene	0.7
Identifies	
Non identifies	



**Figure 34 :** Histogramme des différentes compositions chimiques de l'HE de Rosmarinus officinalis



**Figure 35:** Histogramme des constituants majoritaires de l'HEs de Rosmarinus officinalis

Nous remarquons également que le taux de  $\alpha$ - pinene est plus élevée par rapport aux autres composés, selon **Belkamel *et al*, (2013)** ces composants présentent des corrélations deux à deux entre eux.

**Selon Boutekedjiret *et al* (1998)** L'huile essentielle de romarin récolté de la région de Bibans (Alger) est riche en 1,8-Cineole et il contient également du camphre et de l' $\alpha$ -pinène La composition de ce romarin varie manifestement en fonction du cycle végétatif de la plante **Boutekedjiret *et al* (1999)**.

Comparativement, les romarins marocains présentent une teneur importante en l'un des 3 composés:  $\alpha$ -pinène (37,0-40,0%, Rabat), Cineole (58,7-63,7%, El Ateuf), camphre (41,7-53,8%,) **Elamrani *et al*(2000)**.

Le romarin de Tunisie est également riche en Cineole (40,1-55,1%) et contient aussi les monoterpènes habituels **Lawrence B.M. (1988 et 1997)**.

Le Romarin cultivé dans le Nord Est d'Espagne présente une huile essentielle parmi lesquels le camphre et l' $\alpha$ -pinène sont les constituants majoritaires **Guillen Maria et Cabo (1995)**.

Par contre, en Egypte, on trouve deux compositions, l'une dominée classiquement par le camphre, l' $\alpha$ -pinène et le Cineole, l'autre riche en verbénone et en camphre **Soliman *et al* (1994)**.

Enfin, le romarin de Corse et de Sardaigne contient une huile essentielle riche en verbénone, acétate de bornyl et  $\alpha$ -pinène **Pintore *et al* (2002)**.

Les variations, rencontrées dans la composition chimique du point de vue qualitatif et quantitatif de nos échantillons comparés à certains travaux antérieurs, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, à la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques.

## Conclusion générale

Le travail a été mené dans le cadre de la valorisation des huiles essentielles de lamiacées Algériennes et particulièrement *Rosmarinus officinalis* L et *Mélissa Officinalis* L poussant à l'état sauvage ou cultivé dans la wilaya de Ain Defla. Cette étude a permis de localiser et de quantifier deux espèces dans la région de Djendel

L'extraction des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L et *Mélissa Officinalis* L est réalisée par hydrodistillation. La caractérisation des extraits est réalisée par CG et CG/MS. Le rendement obtenu varie de 1.26% et 0.2% respectivement pour *Rosmarinus officinales* L et *Mélissa officinales* L durant le mois de Novembre. Cette période est caractérisée par une photopériode minimale à la biosynthèse des huiles essentielles. En plus, elle coïncide avec la période de froid durant laquelle la plante préserve les huiles essentielles pour se protéger contre les aléas climatiques.

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant sur le plan de leurs propriétés organoleptiques que sur leur rendement. Cette variabilité est due à notre avis, aux différents facteurs liés à l'espèce végétale, la période de récolte ainsi qu'aux conditions climatiques.

L'analyse chimique d'HEs de citronnelle (*Melissa officinalis* L) par CG/SM permet d'identifier 21 constituants différents, représentant environ 77.37% la masse totale de plante, dont les Constituants majoritaires sont : Oxide de caryollène (9.78%), Citronelol (12.50%),  $\beta$ -caryophyllène (14.74%) et Neral (20.71%), et l'analyse chimique d'HEs de romarin (*Rosmarinus officinalis* L) permet d'identifier 31 composés, représentant environ 91,8% de la masse totale de plante, dont les Constituants majoritaires sont :  $\alpha$ -pinène (23.1%), Camphre (14.7%), et  $\beta$ -pinène (12.2%).

En effet, Les différences observées dans la teneur en composition chimique de l'huile essentielle pourraient être attribuées à plusieurs facteurs, y compris la méthode utilisée pour l'extraction, les conditions géographiques, le climat, les variations saisonnières, le stade de la croissance.

Enfin, notre objectif était pratiquement atteint, mais il est loin d'être terminé. Il serait souhaitable de compléter cette étude par :

- l'identification des composés qui possèdent des effets biologiques et un pouvoir acaricides
- Préparer des formulations médicales en utilisant les l'HE comme traitement en mode *in-vivo*.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

# A

**Adam frère. (1964).** Les croisements et l'apiculture de demain. Paris: SNA, 1985, 127p.

**Abdelli W., (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat 3ième cycle LMD, Microbiologie Appliquée, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 1-2 ; 15-16 ; 31-35 ; 70-72 ; 80 ; 90 ; 104p.

**Adzet T., Ponz R., Wolf E., (1992).** Schulte E. Content and composition of *M. officinalis* oil in relation to leaf position and harvest time. *Planta Medica*, 1992, 58: 562-564.

**AFANOR., 1986 :** Recueils des normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris.57p.

**AFNOR (Association Française de Normalisation) 2000.** Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris

**AFSSAPS. (2008).** Pharmacopée européenne. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé. Mai. 2008

**ALLOUN, K. (2019).** Composition Chimique et activités biologiques de métabolites secondaires de *Crithmum maritimum* L., de *Hong Melissa officinalis* L. Et de *Thymus pallescens* de Noé et effet de l'irradiation gamma sur les huiles essentielles du thym (Doctoral dissertation).

**Ali Mansour H. (2006).** Plantes médicinales mondiales ; Description, Composants, Méthode d'utilisation et de culture. P85

**Amrine J, Noel B, Mallow H, Stasny T, Skidmore R (1996)** Results of Research: Using Essential Oils for Honey Bee Mite Control 1.2 P

**Anderson, D. L., & Trueman, J. W. H. (2000).** *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental & applied acarology*, 24(3), 165-189.

**Anton R. and Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. *Tec. & Doc.*, Paris, 522p.

# B

**Beetsma, J., Boot, W. J., & Calis, J. (1999).** Invasion behaviour of *Varroa jacobsoni* Oud: from bees into brood cells. *Apidologie*, 30(2-3), 125-140

**Belkamel A., Bammi J., Belkamel A., et Douira A. (2013).** Étude de la composition chimique de l'huile essentielle d'une endémique Ibéromarocaine : *Origanum compactum* (Benth.). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 19 (1) : 2880-2887

**BESKRI, Abd El Ouahab, KRIOUI, Siddiq, BOUKLAB, Yacine, (2005).** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite à partir de trois plantes aromatiques locales. Thèse de doctorat. Université de Jijel.

**BOUKHATEM, Mohamed Nadjib, FERHAT, Amine, et KAMELI, Abdelkrim (2019)** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. Une, vol. 3, no 4, p. 1653-1659.

**Boughendjioua H., (2015).** Les plantes médicinales utilisées pour les soins de la peau. Composition chimique, activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus numidicus*. Thèse de Doctorat, Biologie

**Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R., Bessière J.M. (1998),** The essential oils from *Rosmarinus officinalis* L. in Algérie, *J.Essent. Oil Res.* 10, 680-682.6.

**Boutekedjiret C., Belabbes R., Bentahar F., Bessière J.M (1999),.** Study of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and compositions a function of *Oil Res.* 11, 238-240

**Bounihi, A. (2016).** Criblage phytochimique, Étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées) (Doctoral dissertation).

**Bousbia, N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).

**Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M. M. (2008).** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10, 119-125.

**Bruneton, J. *Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales.*** No. 581.634 B7. **1993.**

**Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie, phytochimie–plantes médicinales–3ème Ed* Techniques et documentations. Paris. Pp, 227-310.

**Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

## C

**Carson, C. F., & Hammer, K. A. (2011).** Chemistry and bioactivity of essential oils. *Lipids Essent Oils Antimicrob Agents*, 25, 203-38

**Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000).** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (teatree oil). *Journal of applied microbiology*, 88(1), 170-175.

## ***D***

**Delamare, A. P. L., Moschen-Pistorello, I. T., Artico, L., Atti-Serafini, L., & Echeverrigaray, S. (2007).** Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. And *Salvia triloba* L. Cultivated in South Brazil. *Food chemistry*, 100(2), 603-608.

**Dorman, H. D., & Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.

**DURVELLE J. P. (1930).** *Fabrication des essences et des parfums*. Ed. Des forges, Girardot et Cie, 807 p

## ***E***

**Elamrani A., Zsira S., Benjilali B., Berrada. A (2000),** Study of Moroccan Rosemary oils. *J. Essent. Oil Res.* 12, 487-495.

**El Haib, A. (2011).** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

## ***F***

**Feknous, S., Saidi, F., & Said, R. M. (2014).** Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). *Nature & Technology*, (11), 7

## ***G***

**Garnero P., Ferreras M., Karsdal MA., Nicamhlaibh R., Risteli J., Borel O., Qvist P., Delmas PD., Foged NT and Delaissé JM (2003).** The type I collagen fragments ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation. *J Bone Miner Res.* ;18 (5):859-67.

**Gilly G., 2005.** *Les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse: botanique, culture, chimie, production et marché*. Ed. L'Harmattan, Paris, 405 p.

**Guillen Maria D., Cabo N.J. (1995).** Characterization the essential oils of some cultivated aromatic plants of industrial interest. *J. Sci. Food Agric.*, 70, 359-363.

## H

**Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1996).** Susceptibility of transient and commensal skin flora to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *American journal of infection control*, 24(3), 186-189.

**Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V.(1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 985-990

**Hanana, M., Bejia, A., Amri, I., Gargouri, S., Jamoussi, B., & Hamrouni, L. (2014).** Activités biologiques des huiles essentielles de pins. *Journal of New Sciences*, 4(3), 18-32.

**Heitz A., Carnat A., Fraisse D., Carnat A.-P., Lamaison J.-L. 2000.**Luteolin 3'-glucuronide, the major flavonoid from *Afelissa officinalis* subsp. *Officinalis*. *Fitoterapia*, 71 : 201-202.

**Herzi, N. (2013).** Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles (Doctoral dissertation).

## J

**Janvolak.K., Jinistodola.L. ,1983-** Plantes médicinales illustration de Francis et Severa. Traduction française 1985-by Griind. 256-258p.

**Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoilova, I., Stoyanova, A., Krastanov, A., & Schmidt, E. (2006).** Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(17), 6303-6307.

## K

**Kalemba, D. A. A. K., & Kunicka, A. (2003).**Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.

## L

**Lawrence B.M. (1988)** in: Rosemary Oil in essential oils. Allured Publishing Corporation, Carol Stream. 1976-77, 34; 1979-80, 50; 1981-87, 60, 115, 179; -91, 49, 136; 1992-94, 6.

**Lawrence B.M. (1997).**Progress in essential oils, Rosemary Oil. *Perfumer & Flavorist*. 1995, 20 (1), 47, 22 (5), 71.

**Lee, B. H., Choi, W. S., Lee, S. E., & Park, B. S. (2001).** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop protection*, 20(4), 317-320.

**Lucchesi, M. E. (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

**Lucchesi, M. E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., & Chemat, F. (2007).** Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamom* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 1079-1086.

## M

**Madadori, M. K. (1982).** Les plantes médicinales. *Guides vert. Salar. 624p*

**Magina, M. D., Dalmarco, E. M., Wisniewski, A., Simionatto, E. L., Dalmarco, J. B., Pizzolatti, M. G., & Brighente, I. (2009).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species. *Journal of natural medicines*, 63(3), 345-350.

**Michael T (2002)** (Ed). *Textbook of Natural Medicine*, Churchill Livingstone 2006; Organization Mondiale de la santé. WHO monographs on selected medicinal plants, vol. 2, Suisse,

**Mulkens A., Kapetanidis I1988.** Etude de l'huile essentielle de *lyfelissa officinalis* L. (Lamiaceae). *Pharma. Acta Helv.* 63: 266-270.

## N

**Naghibi, F., Mosadegh, M., Mohammadi, M. S., & Ghorbani, A. B. (2005).** Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacolog.

**Neche, Z. (2019).** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mélissa officinalis* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

**Nicolas J. and Billaud C. (2006).** Brunissement enzymatique-Prévention. In « *Les polyphenols en agroalimentaire* », Ed. : Lavoisier, ISBN : 2-7430-0805-9, pp: 173-196.

## P

**Parveen, S., Wani, A. H., Ganie, A. A., Pala, S. A., & Mir, R. A. (2014).** Antifungal activity of some plant extracts on some pathogenic fungi. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47(3), 279-284.

**Pelikan J., 1986.** Matière première du règne végétal. Ed. Masson Et Cie, Tome 2, paris, 2343 p

**Prieto, J. A., Patiño, O. J., Delgado, W. A., Moreno, J. P., & Cuca, L. E. (2011).** Chemical composition, insecticidal, and antifungal activities of fruit essential oils of three Colombian *Zanthoxylum* species. *Chilean journal of agricultural research*, 71(1), 73

**Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Chessa M., Cerri R. and Casanova J. (2002)**, Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. From Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance journal*. 17, 15-19. *Biologie*

**Piochon M. (2008)**. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Mémoire de maîtrise, option ressources renouvelables. Université du Québec à Chicoutimi

## Q

**Quezel, P., & Santa, S. (1963)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).

## R

**Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Rezaee, M. B., Jaimand, K., Alinezhad, S., Saberi, R., & Yoshinari, T. (2009)**. Chemical composition and antiaflatoxic activity of *Carum carvi* L., *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils. *Food Control*, 20(11), 1018-1024.

**Rehm, S. M., & Ritter, W. (1989)**. Sequence of the sexes in the offspring of *Varroa jacobsoni* and the resulting consequences for the calculation of the developmental period. *Apidologie*, 20(4), 339-343.

## S

**Sanon, E., 1992**-Arbre et arbrisseaux en Algérie O.P.U. Ben Aknoun. Algérie N°686 Alger. 121p

**Sikkema J., De Bont, J.A.M., Poolman B., (1995)**. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews*, 59: 201-222.

**Singh, P., & Pandey, A. K. (2018)**. Prospective of essential oils of the genus *Mentha* as biopesticides: A review. *Frontiers in plant science*, 1295.

**Soliman F.M., Kashoury E.A., Fathy M. M. Gonaïd M.H. (1994)**. Analysis and biological activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Egypt. *Flavour Fragr. J.* 1994, 9, 29-33.

## T

**Teuscher E., Anton R., Lobstein A., 2005**. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Lavoisier, Paris, 522p.

**Toure, D. (2015)**. Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire (Doctoral dissertation, Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire).

**Tzima, K., Brunton, N. P., & Rai, D. K. (2018).** Qualitative and quantitative analysis of polyphenols in Lamiaceae plants—A review. *Plants*, 7(2), 25.

## V

**Vassart - Van Snick (2012).** Aromathérapie; I.P.I. Besançon, 05/2012

**Vera, S. S., Zambrano, D. F., Méndez-Sanchez, S. C., Rodríguez-Sanabria, F., Stashenko, E. E., & Duque Luna, J. E. (2014).** Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 113(7), 2647-2654.

## W

**Wichtl M. et Anton R. (2003).** Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Editions Tec. & Doc. – EM Inter, 2e édition, 788 p

**Williams, D. G., (1996).** The Chemistry of Essential Oils: An Introduction for Aromatherapists, Beauticians, Retailers & Studentss (0th Edition ed.): Micelle Pr (October 1, 1996).

[1]<https://www.gazdetect.com/blog/traitement-varroa-protection-respiratoire-apiculteur>

[2][http://abeilleduforez.tetraconcept.com/wp-content/uploads/2015/11/acide-oxalique\\_300x225.jpg](http://abeilleduforez.tetraconcept.com/wp-content/uploads/2015/11/acide-oxalique_300x225.jpg)

# ANNEXES

Les indices de Kovats des étalons des H.E analysés sur colonne DB5

Les analyses chromatographiques ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression de type Chrompack CP 9002, équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de type DB-5 de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et 0,25 µm d'épaisseur de film,

D'un détecteur à ionisation de flamme réglé à 280°C et alimenté par un mélange de gaz H<sub>2</sub>/air et d'un injecteur splitsplitless réglé à 250°C. Le gaz vecteur est l'azote à 1 ml/min. Le mode d'injection est split (rapport de fuite de 1/50, débit de fuite 66 ml/min). La température de la colonne est programmée de 50°C(3mn) à 250°C à raison de 2°C/min, puis est maintenue à 250°C pendant 10 min.

Constituants	Formule	Tr mn	Indice de Kovats	Alcanes	Tr Des Alcanes
Alpha.Thujène		13.05	929		
A.Pinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	13.90	937	C9	11.94 mn
Camphène	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	14.74	941	C10	18.05 mn
Sabinene		16.82	970		
B.Pinène	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	16.57	971	C11	25.04mn
Myrcene		17.85	986		
Carène	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	18.74	1007	C12	32.24 mn
a.terpinene					
P.Cymene		20.60	1027		
Limonène	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	20.24	1027	C13	39.30mn
Eucalyptol (Cineol)	-----	20.67	1028	C14	46.04 mn
γ.Terpinene		22.80	1057		
Linalool	-----	25.20	1099	C15	52.510
γ.terpinène		22.69	1057		
Camphre		28.26			
Bornéol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>1</sub>	30.01	1164	C16	5863 mn
Menthol	-----	30.55	1171	C17	64.45 mn
A.Tèrpéneol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>1</sub>	31.83	1189	C18	69.98 mn

Anis-Aldéhyde	-----	34.40	1207	C19	75.25 mn
Citonnello	-----	34.40	1201	C20	79.27 mn
Nèrol	-----	34.76	1229	C21	84.04 mn
Acétate de Linalyl	-----	34.79	1244	C22	88.68 mn
Citral	-----	37.36	1246	C23	93.00 mn
Thymol	-----	39.07	1287	C24	97.21 mn
Carvacrol		41.01	1334		
Eugenol	-----	43.43	1353	C25	101.27 mn
Acétate de Gèranyl		45.08	1377		
Nerolidol		54.85	1519		

### Méthode de calcul des indices de Kovats : IK

$$IK = 100n + \left[ 100 \times \frac{\text{Tr}(A) - \text{Tr}(C_n)}{\text{Tr}[C_{(n+1)}] - \text{Tr}[C_n]} \right]$$

Ou : **IK** est l'indice de Kovats.

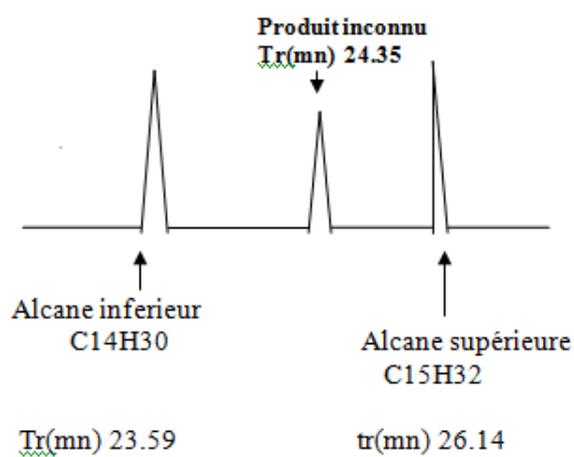
**n** est le nombre de carbone de l'alcane précédant immédiatement le composé étudié.

**Tr(A)** est le temps de rétention du composé étudié.

**Tr(C<sub>n</sub>)** est le temps de rétention de l'alcane précédent immédiatement le composé étudié.

**Tr C<sub>(n+1)</sub>** est le temps de rétention de l'alcane à n+1 atomes de carbone suivant immédiatement le composé.

### Exemple de calcul d'un indice



$$IK = (100 \times \underline{14}) + \left[ 100 \times \frac{24.35 - 23.59}{26.14 - 23.59} \right] = 1430$$