

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE

FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**SCILLE MARITIME : EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE ET ETUDE DE
SON EFFET BACTERIOLOGIQUE. APPROCHE STATISTIQUE
GEOMETRIQUE DES RESULTATS ANTERIEURS.**

Présenté par : **DEGHOUL
SI SALEM**

**ANIA
TAOUS**

Soutenu publiquement, le 24 / 11 / 2020, devant le Jury composé de :

MECHOUET	Mourad	MCA	UMMTO	PRESIDENT
AYATI	Fadila	MCB	UMMTO	ENCADREUR
BAAZIZ	Bahia	MCB	UMMTO	Co-ENCADREUR
GOUBI	Mouloud	MCB	UMMTO	EXAMINATEUR

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

*La première personne que nous tenons à remercier est notre encadreur Madame **AYATI Fadila** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour ses précieux conseils et son orientation ficelée tout au long de notre recherche et pour la patience qui a constitué un apport considérable sous lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.*

*Nos remerciements s'étendent également à Madame **BAAZIZ Bahia** pour sa précieuse aide, ces conseils et son soutien durant la réalisation de ce travail.*

Nous tenons à remercier sincèrement le membre de jury :

*Monsieur **MECHOUET Mourad** maitre de conférences classe « A » à l'Université de Mouloud MAMMERI de TIZI-OUZOU, pour le temps consacré à la lecture et à l'évaluation de ce travail et d'avoir aimablement accepté de présider ce jury.*

*Nous témoignons également notre reconnaissance à Monsieur **GOUBI Mouloud**, maitre de conférences classe «B» au sein du département mathématique à l'Université de Mouloud MAMMERI de TIZI-OUZOU, d'avoir accepté d'évaluer notre travail.*

*Nous n'oublions pas de remercier vivement Madame **BELMEHDI Lila** qui nous a aidés, conseillé au cour de la réalisation de notre travail.*

*Un remerciement particulier pour Madame **AMROUN pharmacienne** galéniste, pour sa patience, son aide et ses conseils.*

*Nous adressons nos remerciements à Monsieur **MARZI** qui nous a fourni le matériel pour l'extraction de l'huile essentielle afin de réaliser les premières démarches de ce travail, nous le remercions pour sa générosité et sa grande patience malgré sa charge professionnelle.*

Nos plus vifs remerciements vont également aux ingénieurs du laboratoire chimie pharmaceutique et à tous nos professeurs.

Nos sentiments de reconnaissance vont à tous ceux qui ont contribué de pré et de loin à la réalisation de ce présent travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail en témoignage de mon profond amour, à mes très chers parents Omar et Noura. Puisse dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorde la santé, longue vie et bonheur

A ma très chère maman

Ma source de joie, bonheur, mon trésor et le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse celle qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mon très cher papa

A celui qui m'a aidé à découvrir le savoir le trésor inépuisable

De tous les pères, tu as été le meilleur, tu as su m'entourer d'attention, m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité

A mes très chères sœurs Melha, Thanina et Yasmine

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous

Vous êtes toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager

Je vous aime

A toute ma famille

En particulier Dada Hocine, tata Malika, khalti Baya, khali Ouali et ma cousine Aziza

Vous êtes toujours là pour les bons conseils. Votre affection et votre soutien toute au long de ma vie

Veillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

A mon binôme et son époux ainsi qu'à toute sa famille et belle famille

Je suis très émue en écrivant ces mots...

Je me souviendrai toujours des moments qu'on a passé ensemble en réalisant se travail

J'ai gagné une grande sœur !

Un grand merci à ta famille pour leur support précieux depuis le début de notre travail et sur tout Madjid

A tous mes amis, camarades et proches

Vous êtes les meilleur qui puissent exister et toujours la a mes cotés

Je vous aime très fort et sans exceptions

Il est très difficile de remercier toutes les personnes qui ont eu une influence sur ma vie de tous les jours pendant la durée de mon travail. Ces personnes, sauront combien ma tendresse et mon amitié sont grandes pour eux.

Ania



Dédicace :

A l'aide de dieu tout puissant qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A MA TRES CHERE MERE

A La plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans, une personne qui m'a tout donné sans compter, autant de phrase, de paroles et de bons mots ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi.

Maman tu m'as encouragé durant toutes les années de mes études, tu as toujours été à mes côtés pour me conseiller quand il fallait, tu as été la source de mon courage, de ma connaissance, de ma joie ; mon progrès, ma personnalité, mon succès sont grâce à toi maman.

Aucune dédicace ne pourrait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as pas cessé de me donner.

Je te dédie ce travail au témoignage de mon profond amour.

Je t'aime maman.

A MON CHER PERE

A celui qui a été toujours avec moi, à celui qui me dit vas-y ma fille, à celui avec qui je partage mes soucis et mes bonnes nouvelles, à celui qui m'a toujours encouragé. Papa, de tous les pères tu as été et tu seras le meilleur papa dans le monde, tu as su m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens de l'honnêteté et de la responsabilité et la confiance en soi.

Autant de phrases, de mots, d'émotions ne suffisent jamais pour exprimer ma gratitude et ma reconnaissance, que le bon dieu te garde pour moi et mes frères inshallah.

A MON TRES CHER MARI MADJID

A celui qui m'a aidé pour réaliser les plus sensibles tâches de ma vie, a celui qui a suivi mes pas, à celui qui a été toujours avec moi, a celui qui n'a pas cessé de me dire t'inquiète pas, mon mari je te remercie infiniment, tu as été toujours à mes côtés, tu as été comme un père, un frère et un mari que le bon dieu m'a offert.

Aucun mot ne pourrait exprimer les sentiments et l'amour que je porte pour toi, je te dédie ce travail avec mes vœux de bonheur et de santé.

A toutes ma famille

Je dédie mon travail à khouya Smail que j'adore beaucoup, il a été un exemple pour moi, avec ses conseils et ses affections et son soutien


A ma belle famille

Je dédie ce travail à vava Ali, à yemma Dahbia, à ma belle-sœur et ses enfants. Je vous remercie infiniment pour vos soutiens, vos conseils et encouragements ainsi que les douaas que vous me donnez que dieu m'aide pour continuer ce noble chemin. Je vous souhaite une longue vie pleine de bonheur et de prospérité.

A mes chères sœurs et frères

Vous étiez toujours à côté de moi pour m'encourager et avoir partagé avec moi tous les moments d'émotion pour la réalisation de ce travail. Vous m'avez chaleureusement soutenue et encouragée tout au long de mon parcours.

A mes grands parents



A ma très chère jida et à mon très cher jedi, je vous aime énormément, je vous remercie pour votre aide, votre soutien et votre conseil, je vous souhaite une longue vie pleine de joie et d'amour.

A mes chers oncles et tantes

Je dédie ce travail a vous : khali Hicham et sa femme maha qui a été toujours avec moi qui m'a conseillé, qui a partagé avec moi mes moments de stresse, de douleurs ainsi de bonheur malgré la distance mais elle n'a pas empêché de m'aide, de m'encourager alors je vous remercie beaucoup.

A khali Nassim et sa femme et ses enfants, à khali Said Ali et sa famille, a khalti hakima et sa famille.

A mon binôme et sa famille

A mon binôme d'amour Ania et a toute sa famille, je suis très heureuse de faire ce travail de fin d'étude avec toi, je ne regretterai jamais de t'avoir choisi comme binôme, on est plus amies on est sœurs.

Un grand merci pour ta famille, pour leurs encouragement et soutien pour nous notre travail surtout khalti baya qui n'a pas cessé de nous encourager, de nous aider je te dédie ce modeste travail l'expression de mon affection.

A tous mes amies chacun avec son nom Sissi, Wiwiz, Kinouz, Wissam Soumer qui ont été avec nous dans le bien et dans le mal, je vous remercie infiniment pour vos encouragement, vos soutiens et vos conseils.

Taous



Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviations

Introduction.....1

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

1 Phytothérapie et plantes médicinales.....3

1.1 Définitions.....3

1.1.1 Phytothérapie.....3

1.1.2 Plantes médicinales.....3

2 Plante étudiée.....3

2.1 Classification botanique.....4

2.2 Etude botanique.....4

2.3 Habitat et aire de répartition géographique.....4

2.4 Récolte et séchage.....5

2.5 Effets biologiques.....5

2.6 Usages traditionnels.....5

2.7 Utilisation raticides.....6

2.8 Toxicité de la *Scille maritime*.....6

3 Composition chimique de la *Scille Maritime*.....7

3.1 Métabolites primaires.....7

3.2 Métabolites secondaires.....7

3.2.1 Huiles essentielles.....7

3.2.1.1 Définition.....7

3.2.1.2 Procédés d'extraction des huiles essentielles.....8

3.2.1.3 Composition chimique des huiles essentielles.....9

3.2.1.4 Propriétés organoleptiques.....10

3.2.1.5 Bio-activité de l'huile essentielle.....11

3.2.1.6 Toxicité des huiles essentielles.....13

3.2.1.7 Méthodes d'analyse des huiles essentielle.....13

3.2.2 Polyphénols.....15

3.2.2.1 Classification.....	15
3.2.3 Alcaloïdes.....	17
4 Formulation pharmaceutique : Pommade.....	18
4.1 Définition.....	18
4.2 Différents types de pommades.....	18
5 Méthodologie des plans d'expériences.....	19
5.1 Définition.....	19
5.2 Statistique descriptive multidimensionnelle.....	20
5.2.1 Analyse des composantes principales.....	20
5.2.2 Principe.....	20
5.2.3 Etapes d'une ACP.....	20
5.2.4 Analyse des données.....	20

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1 Matériel et méthodes.....	23
2 Récolte.....	24
2.1 Lieu de récolte.....	24
2.2 Période de récolte et identification de la plante.....	25
3 Méthodes.....	25
3.1 Broyage et conservation.....	25
3.2 Evaluation du taux d'humidité du matériel biologique.....	25
4 Tests phytochimiques et extractions de substances utiles.....	25
4.1 Tests phytochimiques.....	25
4.1.1 Test d'identification des composés phénoliques.....	25
4.1.2 Caractérisation des flavonoïdes.....	26
4.1.3 Caractérisation des tanins condensés.....	26
4.1.4 Différentiation des tanins.....	26
4.1.5 Caractérisation des saponines.....	26
4.1.6 Caractérisation des alcaloïdes.....	26
5 Extraction des polyphénols.....	27
5.1 Extraction des flavonoïdes.....	27
5.2 Extraction des tanins.....	27
5.3 Caractérisation et dosage des extraits de flavonoïdes et de tanins.....	28
5.2.1 Caractérisation organoleptique.....	28

5.2.2 Caractérisation par HPLC.....	28
5.4 Dosage des flavonoïdes.....	28
5.5 Dosage des polyphénols totaux (tanins).....	29
6 Extraction de l'huile essentielle de la <i>Scille maritime</i>	30
6.1 Caractérisation de l'huile essentielle extraite.....	31
6.1.1 Caractérisation organoleptique.....	31
6.1.2 Caractérisation physicochimique.....	31
6.1.2.1 Densité relative.....	31
6.1.2.2 Indice de réfraction.....	32
6.1.3 Evaluation de la composition chimique de l'huile essentielle par CPG/SM.....	32
7 Etude de la bio activité de l'huile essentielle de la plante.....	33
7.1 Matériel et produits utilisés.....	33
7.1.1 Activité bactériologique de l'huile essentielle.....	33
7.1.1.1 Préparation du milieu de culture.....	33
7.1.1.2 Ensemencement.....	34
8 Formulation de pommade et tests de contrôle.....	34
8.1 Tests de contrôle de la pommade formulée.....	35
8.1.1 Caractérisation macroscopique.....	35
8.1.2 Homogénéité.....	35
8.1.3 Mesure du pH.....	35
8.1.4 Examen microscopique.....	35
Chapitre 3 : Analyse des résultats : études antérieures sur la plante	
1 Taux d'humidité.....	36
1.1 Détermination de Rendement d'extraction de l'huile essentielle.....	36
1.2 Détermination des caractéristiques physicochimiques.....	37
2 Résultats de l'examen cytobactériologique.....	38
3 Résultats des tests effectués sur la pommade.....	38
3.1 Examen microscopique.....	38
3.2 Examen macroscopique.....	39
3.3 Mesure de pH.....	40
4 Approche statistique des études antérieures.....	40
4.1 Evaluation des différents facteurs influençant sur le rendement.....	41

4.1.1 Première analyse.....	42
4.1.2 Deuxième analyse.....	44
4.2 Discussion des résultats.....	46
4.3 Evaluation de l'activité antioxydante.....	47
4.3.1 Discussion des résultats.....	47
Conclusion.....	48

Références bibliographiques

Glossaire

Résumé

Figure 1.1 : Photo de la plante <i>Scille maritime</i> : (a) bulbe ; (b) bulbe et feuille.....	3
Figure 1.2. Forme libre et réduite du DPPH.....	11
Figure 1.3 : Structure de base d'un Flavonoïde.....	16
Figure 1.4 : Structure de base d'une quinone.....	16
Figure 1.5 : Structure de base des tanins.....	17
Figure 1.6 : Structure de base des coumarines.....	17
Figure 1.7 : Structure de base des alcaloïdes.....	18
Figure 1.8 : Corrélation des cercles ; Forte corrélation positive : (a) ; corrélation négative : (b) ; corrélation positive : (c) ; Aucune corrélation : (d) ; corrélation positive (négligeable) : (e) ; corrélation positive : (f).....	22
Figure 2.1 : (a) : Répartition des écailles dans le bulbe de <i>Scille maritime</i> ; (b) : Bulbe coupé en lamelles ; (c) : la plante séchée sur les roseaux.....	24
Figure 2.2 : Photo du montage expérimental d'extraction.....	30
Figure 2.3 : Décantation de l'huile essentielle à l'aide d'un vase florentin.....	30
Figure 2.4 : Photo du pycnomètre rempli d'huile essentielle.....	31
Figure 2.5 : Photo du réfractomètre Abbe.....	32
Figure 2.6 : Photo de boîte de pétrie avec différents milieu (a) ; Ensemencement d'un échantillon dans un milieu de culture (b).....	34
Figure 3.1 : Teneur en eau et en matière sèche de la <i>Scille maritime</i>	36
Figure 3.2 : Photo de l'huile essentielle.....	37
Figure 3.3 : Photo des résultats de lecture après 72 heures.....	38
Figure 3.4 : Observation microscopique effectuée sur la pommade formulée. Pommade conservée à température ambiante: (a) ; Pommade conservée à froid:(b).....	39
Figure 3.5 : photo de la pommade en préparation.....	39
Figure 3.6 : Valeur du pH de la pommade à l'aide d'un papier pH.....	40
Figure 3.7 : Projection des variables dans l'espace des axes F1 et F2.....	43
Figure 3.8 : Projection des variables dans l'espace des axe F1 et F2.....	45

Tableau 1.1 : Classification botanique.....	4
Tableau 2.1 : Matériel et produits utilisés.....	23
Tableau 2.2 : Situation géographique et bioclimatique de la région de la récolte.....	24
Tableau 2.3 : Concentrations et volumes prélevés des solutions étalons de Quercétine.....	29
Tableau 2.4 : Concentrations et volumes prélevés des solutions étalons d'acide gallique.....	29
Tableau 2.5 : Ensemble de matériel utilisé pour les tests biologiques.....	33
Tableau 2.6 : Différent milieu de culture utilisé.....	33
Tableau 2.7 : Ingrédients pour la formulation d'une pommade.....	34
Tableau 3.1: Diminution du poids de la plante durant la période de séchage.....	36
Tableau 3.2: Poids de la matière végétale avant et après séchage et H%	36
Tableau 3.3 : Rendement de l'huile essentielle.....	37
Tableau 3.4 : Valeurs de l'indice de réfraction et de la densité de l'huile essentielle extraite....	38
Tableau 3.5 : Résultat de l'examen cyto bactériologique dans les différents milieux de culture.	38
Tableau 3.6 : Facteurs influençant le rendement d'extraction et les composés bioactifs.....	41
Tableau 3.7 : Variation des différents facteurs influençant le rendement (articles 2,4,7).....	42
Tableau 3.8 : Corrélations entre variables et facteurs F1 / F2.....	42
Tableau 3.9 : Variation de différents facteurs influençant le rendement (articles 1, 2, 4, 7).....	44
Tableau 3.10 : Corrélations entre variables et facteurs F1/F2.....	45
Tableau 3.11 : Evaluation de l'activité antioxydante avec différentes méthodes.....	47

β -caro. : β -carotène

AAPH : 2,2'-azobis (2amidinopropane) dihydrochloride

ABTS : Acide 2,2-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

Acéta. : Acétate

ACP : Analyse des composantes principales

Art. : Article

Bul. : Bulbe

Chlo. : Chloroforme

CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse- spectrométrie de masse

D : Densité

Décoc. : Décoction

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EAG : Equivalent acide gallique

Eth. : Éthanol

Ext. : Extraction

Fe²⁺ : Ions ferreux

Fe³⁺ : Ions ferriques

FeCl₃ : Chlorure de fer

Flav. : Flavonoïde

FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power): Capacité de réduction des ions ferriques

H.rad. : Hydroxyle radicalaire

HCl : Acide chlorhydrique

HE : Huiles essentielles

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

IC50 : Concentration d'inhibition de 50%

INA : Institut national d'agronomie, El Harrach

Inf.: Infusion

IR : Infrarouge

Lib. : Libre

Mac. : Macération

Métha. : Méthanol

Métho. : Méthode

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

p. per : Piégeage de peroxyde

P. red : Pouvoir réducteur

PAL : Phénylalanine ammonia-lyase

Part. : Partie

PEG : Polyéthylène glycol

Per. : Période

Ph Eur : Pharmacopée européenne

Poly. : Polyphénols

R% : Rendement

Rec. : Récolte

R_{HE} : Rendement en huile essentielle

ROS : Réactive oxygen species (espèces réactifs de l'oxygène).

Séch. : Séchage

Solv. : Solvant

t : Temps

T° : Température

Tan. : Tanin

TPTZ-Fe²⁺ : Complexe tripyridylthiazine ferreux

TPTZ-Fe³⁺ : Complexe tripyridylthiazine ferrique

UV/Visible : Ultraviolet visible

Vert. : Verte

x. o : Xanthie oxydase

Introduction



Les plantes médicinales et aromatiques représentent des intérêts multiples mis à profit dans la biotechnologie, dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

L'exploitation des plantes médicinales pour le domaine thérapeutique est connue à travers le monde depuis de nombreux siècles. En effet la médecine traditionnelle s'est toujours basée sur les ressources naturelles, notamment les plantes médicinales, pour traiter différents types de maladies.

La valeur thérapeutique des plantes médicinales réside dans leur richesse en huile essentielle, huile végétale et métabolites secondaires. Ces composants se retrouvent dans une large gamme des plantes. Ils sont des éléments très utiles pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques mais aussi comme matière première.

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 **(Gaussen et Leroy, 1982)**.

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, la présente étude s'intéresse à une espèce de la famille des Liliaceae appartenant à l'une des plus grandes familles des plantes à fleurs. La *Scille maritime* de la classe des monocotylédones **(Twentyman et al., 1984)** comprend 250 genres et 3000 espèces, c'est une plante très largement distribuée, elle est utilisée traditionnellement pour ses propriétés antiasthmatiques, et est administrée comme expectorant et fluidifiants dans les bronchites.

L'expérimentation réalisée dans ce présent travail traite l'extraction de l'huile essentielle de la *Scille maritime*. Cette dernière est récoltée à M'douha (TIZI-OUZOU), l'étude bactériologique de l'extrait de la plante et enfin la préparation et le contrôle qualité d'une formulation pharmaceutique (pommade).

Ce travail est complété par l'exploitation des travaux antérieurs effectués sur la même plante ou sur les plantes appartenant à la même famille, l'objectif visé étant de déterminer les conditions expérimentales appropriées pour obtenir un meilleur rendement d'extractions de substances bioactives. La démarche employée est qualitative, elle consiste à rassembler puis à transformer les résultats expérimentaux des travaux antérieurs en variables statistiques, c'est la méthode d'analyse des composantes principales (ACP). Cette démarche est assistée par le logiciel mathématique « Statistica 2010 ».

Le manuscrit est composé de trois chapitres répartis comme suit :

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique sur la plante étudiée, les métabolites secondaires qu'elle renferme ainsi qu'un aperçu sur les méthodes d'extraction et la formulation pharmaceutique envisagée.

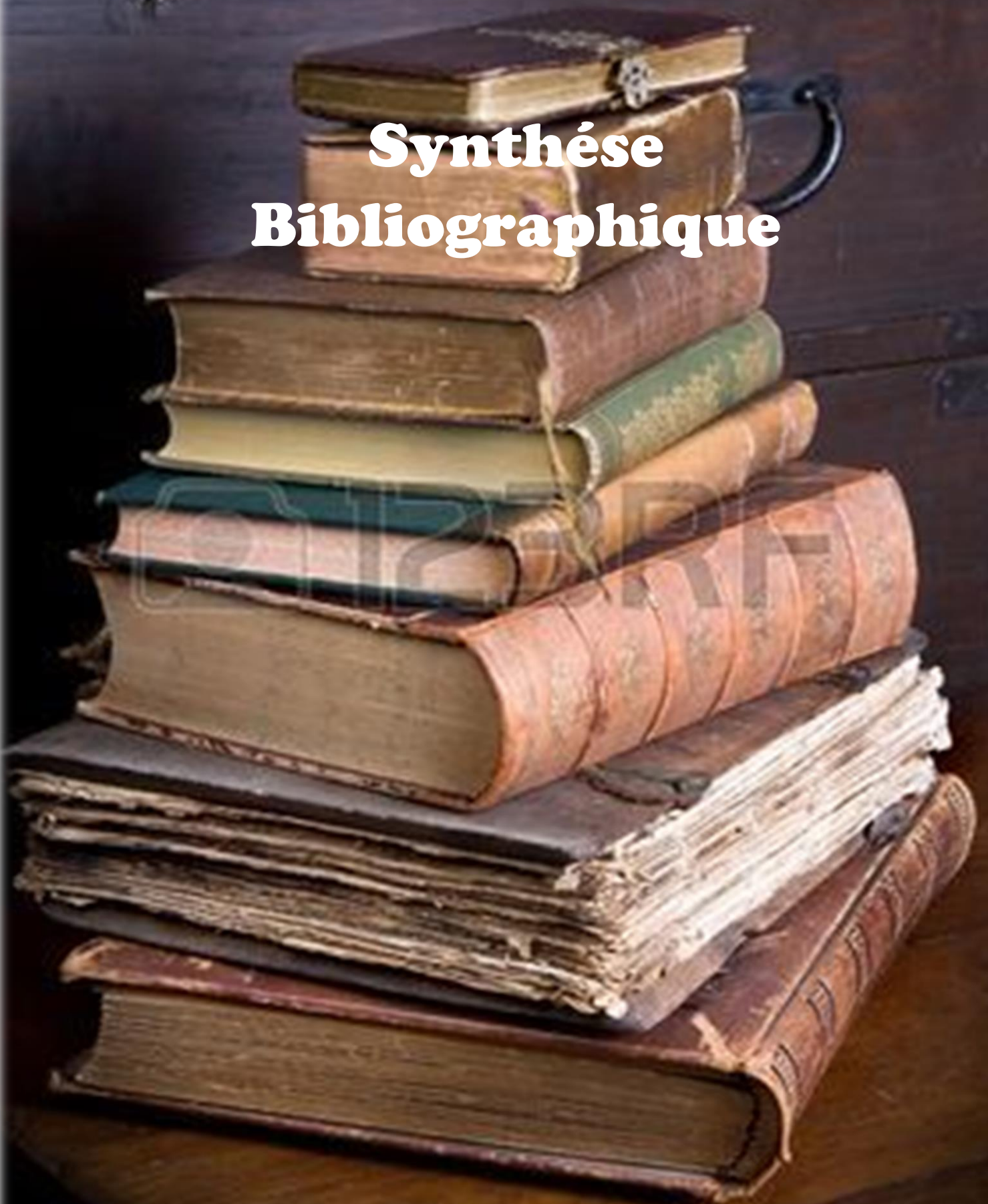
Le second chapitre est consacré à la présentation du matériel et des méthodes utilisés ou à utilisée pour la conduite des expériences.

Les résultats relatifs à l'expérimentation et à l'analyse des composants principaux sont présentés dans le dernier chapitre.

La conclusion générale présente les résultats obtenus, elle est notifiée par des perspectives à venir pour une éventuelle poursuite de ces travaux.

Chapitre 1

Synthèse Bibliographique



1 Phytothérapie et plantes médicinales :

1.1 Définitions :

1.1.1 Phytothérapie :

Une science à la fois ancestrale et moderne, la phytothérapie vient du grec et signifie « soigner par les plantes ». Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Les plantes médicinales renferment de nombreuses substances actives (plus de 250) présentant des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces actifs ont été étudiés et produits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments (**institut européen des substances végétales, 2015-2016**).

1.1.2 Plantes médicinales :

Au sens de la pharmacopée européenne, les plantes médicinales « sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». En d'autres termes, une plante médicinale dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives et préventives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise (**Chabrier, 2010**). Ces plantes peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques.

2 Plante étudiée :

De son vrai nom « *Drimia Maritima* », scientifiquement appelée « *scilla Maritima L. Baker* ». Cependant les noms communs suivants sont souvent utilisés : *Scille officinale*, *scille maritime*, *oignon marin*, *charpentaire*, *grande scille*, *squil* (anglais), *escila* (Espagnol), *squille*, *urginée fausse scille* (**Joly, 2010**).



(a)



(b)

Figure 1.1 : Photo de la plante *Scille maritime* : (a) bulbe ; (b) bulbe et feuille

2.1 Classification botanique :

La classification de Cronquist est une classification classique des angiospermes. Elle est la dernière version des classifications majeures basées essentiellement sur des critères morphologiques, anatomiques et chimiques, et qui ignore donc les critères de la classification phylogénétique. La classification de la *Scille Maritime* selon Cronquist (1981) est résumée dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1 : Classification botanique (Cronquist A., 1981)

Règne	<i>Plantae</i>
<i>Division</i>	Magnoliophyta
<i>Classe</i>	Liliopsida
<i>Ordre</i>	Liliales (Aspragales)
<i>Famille</i>	Liliaceae (Asparagaceae)
<i>Genre</i>	Drimia
<i>Nom binominal</i>	<i>Drimia Maritima</i>

2.2 Etude botanique :

La *Scille maritime* est une plante méditerranéenne, vivace par un bulbe énorme dont le diamètre atteint, en Algérie 20 à 30 cm et le poids, 5 à 7 kg. Il est formé d'écailles emboîtées que l'on appelle également tuniques ou squames, de couleur blanchâtre dite scille d'Italie ou scille « femelle » ou rougeâtre dite scille d'Espagne ou scille « male », suivant les variétés. Les écailles externes sont unies et membraneuses, les écailles moyennes sont épaisses et charnues (Hammiche et al., 2013).

La tige fleurie (environ 1m) porte à son extrémité une grappe de petites fleurs blanches à corolle en étoile (Joly, 2010).

2.3 Habitat et aire de répartition géographique :

La *Scille maritime* pousse spontanément sur les rivages sablonneux des côtes méditerranéennes essentiellement, mais aussi sur les côtes atlantiques. Elle est particulièrement abondante en Algérie dans les forêts littorales, les lieux rocaillieux, les coteaux secs, les pâturages, elle est utilisée pour border les champs (Hammiche et al., 2013).

En Algérie pousse la variété rouge appelée *scille d'Espagne* ou *scille male* (Paris et Moyes, 1976).

2.4 Récolte et séchage :

Le bulbe de la *Scille maritime* est récolté en automne, époque où il est riche en substances bioactifs, tandis qu'au printemps il est plus sucré (**Cazin, 1868**).

Les écailles ou séquences les plus extérieures, trop sèches, sont détacher, les plus intérieurs, muqueuses et presque inerte, sont rejetées.

Pour sécher les écailles intermédiaires, il est nécessaire de les isoler, les enfile dans une corde et l'air libre ou à l'étuve. Après dessiccation complète, ces écailles, de couleur rosée, transparentes, fragiles sont conservées dans des boites à l'abri de l'humidité.

Pour mieux conserver la plante séchée, il est conseillé de la pulvériser et de l'utiliser rapidement, car trop vieille, la poudre perd ses propriétés (**Cazin, 1868**).

2.5 Effets biologiques :

La *Scille maritime* est diurétique par action cardiovasculaire comme la digitalique mais aussi par action rénale directe : elle augmente le débit sanguin au niveau du rein (**Chalmers et al, 1974**).

La *Scille maritime* exerce une activité anti-inflammatoire, antioxydante, antibactérienne, anticholinergique, et des activités antivirales. Elle a aussi un effet bronchodilatateur (broncho-relaxant) pour l'asthme et les effets modulateurs de la sécrétion de muqueuses.

La *Scille maritime* contient du bufadienolide des glycosides tels que le scillaréne A, le scillirubroside, le scilliroside, le scillarenin et le proscillaridine A. Ce dernier a une puissante activité suppressive des lymphocytes T (**Nejatbakhsh et al., 2017**).

L'extrait aqueux de la *Scille maritime* indique une activité antifongique positive sur *Aspergillus brasiliensis* et *Fusarium oxysporum*, (**Daoudi et al., 2017**) ; ceci est lié à la présence d'une glycoprotéine localisée dans la paroi cellulaire de l'ampoule, qui inhibe complètement la germination des spores et la croissance des hyphes (**Deepak et al., 2003**).

2.6 Usages traditionnels :

En médecine traditionnelle maghrébine, la *Scille maritime* reste assez utilisée. La décoction du bulbe dans l'huile d'olive est utilisée pour ses propriétés antiasthmatiques et expectorantes dans les affections respiratoires, car elle augmente toutes les sécrétions, notamment les sécrétions bronchiques (**Hammiche et al., 2013**).

C'est le remède éprouvé des bronchites, des toux persistantes et productives car il fluidifie les sécrétions ; il est conseillé de l'utiliser pour le nez bouché, le rhume, la coqueluche et l'asthme (**Hammiche, 2013**).

La décoction du bulbe dans l'huile d'olive est également employée pour traiter des problèmes rhumatismaux (**Daoudi et al., 2015**), et d'autres vertus, mais aussi utilisée sous forme de goutte pour traiter les douleurs de l'oreille et ceci après broyage et filtration du bulbe (**El Hafian et al., 2014**), aussi elle est utilisée pour traiter des pathologies digestives (**Mehdioui et Kahouadji, 2007**), et est recommandée pour traiter l'hépatite (**Bellekhdar, 1977 ; Benkhniqne et al., 2010**).

En fumigations vaginales, le bulbe, broyé dans l'huile d'olive et mélangé avec d'autres ingrédients, est prescrit pour traiter la stérilité et comme abortif.

Toujours en fumigation, il est utilisé comme antiseptique intra-utérine pour soigner les affections gynécologiques et en post-partum ; le mode d'administration est recommandé dans le traitement des crises hémorroïdaires.

Les squames, appliquées en pansement sur les plaies infectées, favorisent la guérison.

Le liquide, extrait du bulbe broyé, est utilisé pour traiter les tumeurs cutanées et les verrues (**Hammiche et al., 2013**).

2.7 Utilisation raticides :

La *Scille maritime*, particulièrement toxique pour les rongeurs, grâce au scilliroside qu'elle contient, est largement employée dans les raticides du commerce. Cet hétéroside qui est aussi cardiotonique agit chez les rongeurs sur le système nerveux central comme convulsivant (**Merad R, 1991 ; Grive M, 2011**).

2.8 Toxicité de la *Scille maritime* :

La plante est toxique, elle est responsable d'empoisonnements graves. Elle entraîne des troubles du rythme, pouvant conduire à un arrêt circulatoire ; ceux-ci sont habituellement précédés par des troubles digestifs et neurosensoriels.

- **Troubles digestifs :**

Nausées, vomissements dus à une excitation des fibres lisses, des douleurs abdominales et diarrhées.

- **Troubles neurosensoriels plus tardifs :**

Obnubilation et somnolence ou agitation avec angoisse, parfois délire et hallucinations ; céphalées, myalgies et asthénie sont fréquentes.

- **Trouble oculaires :**

Généralement rencontrés lors de surdosage : vision floue ou dyschromatopsie. Atteinte d'une oligoanurie.

- **Troubles cardiaques :**
 - Troubles du rythme : bradycardie
 - Troubles de la conduction : bloc auriculo-ventriculaire
 - Troubles de l'excitabilité avec extrasystoles ventriculaires (**El fennouni, 2009**).
- **Action sur la peau :**

Une inflammation de la peau provoquée par la plante fraîche serait due essentiellement à la présence des raphides d'oxalate de calcium. Les arêtes vives de ces cristaux altèrent la peau ou les muqueuses et permettent l'introduction des principes actifs, ce qui provoque une véritable rubéfaction (**El fennouni, 2009**).

3 Composition chimique de la *Scille Maritime* :

Les plantes sont constituées essentiellement de métabolites primaires et de métabolites secondaires.

3.1 Métabolites primaires :

Métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories : les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques.

Seul le bulbe de la *Scille maritime* renferme les principaux constituants qui sont des hétérosides cardiotoniques : scillaréne A et B, scillipicine, scilline, scillitoxine.

Le scillaréne A et le scillaréne B sont deux hétérosides cardiotoniques stériodiques, du type bufadiénolide.

La *Scille rouge* possède un hétéroside particulier, le scilliroside ($C_{32}H_{44}O_{12}$), proscillaridine A, scilliglauciside, scillicyanoside.

Pigments anthocyaniques dans la *Scille rouge* : le principal étant la chrysanthémine (cyanidine-3-monoglucoside) (**Paris et Moyes, 1976**).

3.2 Métabolites secondaires :

3.2.1 Huiles essentielles :

3.2.1.1 Définition :

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydro distillation ou par expression mécanique (**Kalemba, 2003**).

Les huiles essentielles, sont utilisées pour soigner des maladies inflammatoires ; les allergies, eczéma... elles soulagent les problèmes intestinaux (**Iserinet et al., 2001**). Leur utilisation est également présente dans l'industrie cosmétique et alimentaire.

3.2.1.2 Procédés d'extraction des huiles essentielles :

De tous temps, les vertus des « essences de plante » sont connues et leurs extractions sont faites depuis la plus haute antiquité. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (**Burt, 2004**), mais également à partir de gommages qui s'écoulent du tronc des arbres ; expression à froid pour les agrumes (**Burt, 2004**).

L'exploration de diverse méthode d'extraction de ces huiles, a commencé vers le 13^{ème} siècle, en Europe plus précisément dans le sud de la France, au royaume des parfums (**France-Ida, 1996**). Connaissant mieux les constituants des huiles, des techniques se sont développées visant à optimiser la qualité de l'huile tout en maintenant un rendement intéressant. De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, sous haute pression (**Santoyo et al, 2005**) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (**Kimbaris et al, 2006**). Par ailleurs, La distillation est de loin, le procédé le plus utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.

- **Distillation :**

Il existe deux méthodes de base de distillation pour l'obtention des huiles essentielles qui reposent sur le même principe : entrainement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La différence entre eux réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal (**Benjilali, 2004**). Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation.

- **Hydro distillation :**

Distillation à l'eau ou « hydro distillation » : le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Selon **Bruneton (1999)**, l'hydro distillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité.

- **Distillation à la vapeur :**

Distillation à la vapeur saturée : « vapo-hydrodistillation » : c'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques (**Bego, 2001**). Le matériel végétal, dans ce cas, n'est pas immergé dans l'eau, se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant

les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée appelée eau florale ou hydrolat (**Benjilali, 2004 ; Belaiche, 1979**).

- **Extraction par les solvants volatils :**

Dans ce procédé, un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé « concrète ». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à « l'absolue » (**Belaiche, 1997 ; Duraffourd et al, 1990**). Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité (pouvoir solvant à l'égard des constituants odorants), stabilité, inertie, chimique, température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale, pas trop faible pour éviter les pertes et donc une élévation des coûts, sécurité de manipulation c'est-à-dire non toxique ou inflammable. Les solvants les plus utilisés sont les hydrocarbures aliphatiques : l'éther de pétrole et l'hexane, mais aussi le propane ou le butane liquide (sous pression). Si le benzène est un bon solvant, sa toxicité limite de plus en plus son utilisation. Le recours aux solvants halogénés (dérivé chlorés et fluorés du méthane et de l'éthane) ainsi qu'à l'éthanol a souvent lieu. Après l'extraction, le solvant est distillé et en fin de l'opération, le solvant qui imbibe la masse végétale est récupéré par injection de vapeur d'eau dans celle-ci (**Bruneton, 1999**).

L'extraction par les solvants présente toutefois des contraintes diverses liées en premier lieu au manque de sélectivité de ces produits : de nombreuses substances peuvent de ce fait se retrouver dans les concrètes (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, certaines coumarines) et imposer une purification ultérieure, et en second lieu, à la toxicité des solvants et leur présence sous forme de traces résiduelles dans l'extrait final (**Bruneton, 1999**). En effet, Viaud (1993) affirme que des analyses par les méthodes les plus modernes, montrent que les proportions de solvants résiduels dans le concrètes se situent entre 2 et 4% atteignant souvent 6% et même parfois 25%. Les absolues obtenues par lavage à l'alcool des concrètes contiennent encore des ppm importantes de ces solvants. De telles huiles ne sont donc pas admissibles à l'usage médical par contre, elles sont admissibles en parfumerie

3.2.1.3 Composition chimique des huiles essentielles :

Plus de 300 composés différents peuvent être identifiés dans les huiles essentielles. Trois groupes de composés ont été décrits (**Pichersky et al, 2006**). Le principal groupe est composé de terpènes et les terpénoïdes, majoritairement des monoterpènes et des sesquiterpènes, les

autres groupes comprennent les composés aromatiques (**Phénoliques**) et dans une moindre mesure des composés aliphatiques (**Alcanes et Alcènes**) qui sont généralement en trace. Tous les composés sont caractérisés par un faible poids moléculaire (**Bakkali et al, 2008**).

- **Composés aromatiques :**

Les composés aromatiques sont des dérivés du phénylopropanes. Ils sont moins abondants que les terpènes. Deux classes de composés aromatiques peuvent être distinguées : les composés substitués sur le noyau de benzène et les dérivés dans lesquels le substituant est directement attaché au cycle benzénique de la chaîne latérale des composés substitués.

- **Notion de chémotype :**

Selon les conditions environnementales et de vie, les mêmes espèces peuvent présenter des différences chimiques interspécifiques dans leurs compositions d'huiles essentielles (**Lahlou and Berrada, 2003 ; Lahlou, 2004**). Ces différences interspécifiques sont définies comme chémotypes. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très valables (**Pibiri, 2005**).

3.2.1.4 Propriétés organoleptiques :

Les huiles essentielles sont caractérisées par plusieurs propriétés organoleptiques à la température ordinaire, tels que :

- **La couleur :** la coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur d'une huile donnée (**Mohandi Z, 2005**)
- **L'odeur :** l'odorat est un sens chimique très sensible. En parfumerie, l'examen olfactif qui suit toute analyse d'huile essentielle est du plus grand intérêt car, si l'odeur de l'huile essentielle n'est pas satisfaisante, les constantes physicochimiques ne sont pas correctes. Cet essai olfactif est conduit par comparaison avec un échantillon type de l'huile essentielle aussi frais que possible et conservé dans les meilleures conditions.
- **L'aspect :** l'aspect d'un extrait dépend des produits qui la constituent, qui peuvent apparaître sous forme solide, liquide ou bien solide- liquide (**Mohandi Z, 2005**).

3.2.1.5 Bio-activité de l'huile essentielle :

- **Pouvoir antioxydant des huiles essentielles :**

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire des dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations cytotoxiques de ROS : réactive oxygen species (espèces réactifs de l'oxygène).

Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libre (**Favier, 2003**). Les huiles essentielles comme antioxydants sont très recherchées pour leur rôle de protecteur vis-à-vis des lipides et pour des propriétés hypocholestérolémiantes en protégeant contre le cancer (**Benbrinis Soumia, 2012**).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydant in vitro et in vivo, dont les plus utilisées :

- **Test de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) :**

Le test au DPPH permet de mesurer les propriétés antioxydants des composés en fonction de leur capacité à piéger le radical DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Le DPPH• est un radical libre très stable, capable d'accepter un électron ou un atome d'hydrogène ainsi la forme non radicalaire 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH) (Figure 1.2). Ce radical de couleur violette présente une bande d'absorption à 515nm dans le méthanol, mais lorsqu'il est mélangé avec une solution protique, sa forme réduite sera générée par le virement de la couleur violette en couleur jaune (**Litescu et al, 2010**).

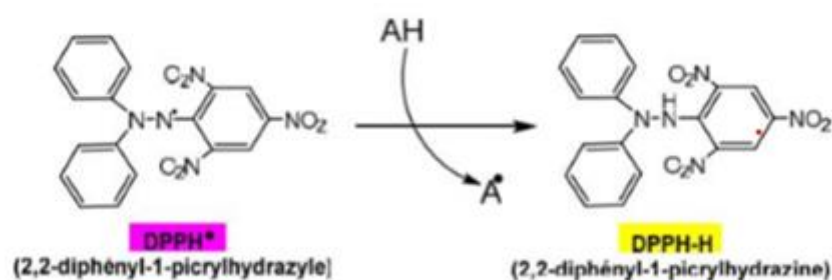


Figure 1.2. Forme libre et réduite du DPPH

Donc, en présence d'un antioxydant, la réduction du DPPH s'accompagne de la diminution de la coloration qui peut être suivie par spectrométrie. Le potentiel donneur d'un atome d'hydrogène d'un échantillon est le plus souvent exprimé par le paramètre EC50, qui correspond à la concentration d'antioxydant nécessaire pour réduire de 50% la concentration initiale de DPPH•. Plus l'EC50 est petite, plus la molécule est antioxydant. Le test au radical

libre DPPH s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles.

- **Test de β -carotène :**

Dans le test de blanchissement du β -carotène, la capacité antioxydant est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les radicaux peroxydes issus de l'acide linoléique. L'addition d'un antioxydant dans ce système retarde la décoloration du β -carotène. L'auto-oxydation de l'acide linoléique n'étant pas toujours reproductible, une amélioration est apportée en utilisant l'AAPH (2,2'-azobis (2amidinopropane) dihydrochloride) comme amorceur de peroxydation lipidique. La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est suivie à une longueur d'onde de 470 nm pendant des intervalles de temps réguliers (**Benzie et al, 1996**).

- **Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) :**

La méthode FRAP (capacité de réduction des ions ferriques) est basée sur l'étude du pouvoir réducteur des composés. Cette technique mesure la capacité antioxydant en étudiant la réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique (TPTZ-Fe³⁺) à pH faible et à 37°C. La réduction des ions ferriques (Fe³⁺) en ions ferreux (Fe²⁺), conduit à un complexe tripyridyltriazine ferreux (TPTZ-Fe²⁺) de couleur bleue intense, dont la formation peut être suivie par spectrophotométrie à 593 nm. Ainsi, la formation de ce complexe indiquera un pouvoir réducteur et déterminera la capacité d'un composé à se comporter comme un antioxydant. Les valeurs sont obtenues en comparant à 593 nm l'absorbance d'un mélange réactionnel contenant l'échantillon à tester, à celle d'un mélange réactionnel contenant une concentration connue en ion ferreux (**Benzie et al, 1996**).

• **Activité antimicrobienne des huiles essentielles :**

Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, la première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (**Boyle, 1995**). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (**Burt, 2004**).

Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques.

Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalemba, 2003 ; Avlessi, 2012**). Elles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur

composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Sipailiene et al, 2006**)

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la nature de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**). Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries Gram positif et Gram négatif comme **Aeromonas hydrophila** (**Wan et al, 1998**) et **Compylobacter jejuni** (**Wannissorn et al, 2005**) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles.

3.2.1.6 Toxicité des huiles essentielles :

Les HE sont des molécules actives. Elles peuvent avoir de graves effets secondaires. Il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. Parmi ces effets, citons : des allergisants ou hypersensibilisants, photosensibilisants dus aux furocoumarines, neurotoxiques dus aux cétones, néphrotiques dus aux terpènes majoritaires dans l'huile essentielle de Térébenthine et des rameaux de Genévrier, hépatotoxiques dus aux phénols pris pendant des laps de temps trop importants ou à doses massives L'eugénol, qui est l'un des constituants du Thym, est hépatotoxique. Chez l'enfant, 10ml d'eugénol peut conduire à une insuffisance rénale. Il a été démontré que le linalol, l'un des constituants d'une autre espèce de thym, est cytotoxique pour les cellules de la peau humaine (**Eisenhut, 2007 ; Elkolli, 2008**).

3.2.1.7 Méthodes d'analyse des huiles essentielle :

L'instrumentation moderne est progressivement confrontée à des analyses de plus en plus complexes, liées au nombre important de constituant présents et aux quantités extrêmement faibles à détecter. En effet l'analyse d'une huile est complexe, de par son très grand nombre de constituants chimiques volatils mais aussi, souvent, de par l'importance des composés à l'état de traces qui font le caractère spécifique de l'huile (**France-Ida, 1998**).

La chromatographie est le procédé fréquemment utilisé pour séparer les constituants des huiles essentielles. Elle se base sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions et de leurs désorptions successives sur la phase stationnaire, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase (**Schwedt, 1993**). Plusieurs méthodes existent :

- **Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

Elle s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur. Le principe de la chromatographie en phase gazeuse basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire.

Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer il s'agit de la chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...) c'est la chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption (**Audigie et al, 1995**).

La CPG permet une évaluation quantitative et qualitative de la composition chimique des huiles essentielles. Elle présente de nombreux avantages : facilité de mise en œuvre, temps d'analyse assez court et fiabilité des résultats (**Bruneton, 1999**).

- **Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)**

Si la chromatographie permet à elle seule de séparer correctement les différents constituants d'un mélange, il est néanmoins délicat de se livrer à une interprétation structurale permettant une identification certaine, car les paramètres déduits de la rétention sélective des solutés au travers de la colonne sont souvent lourds à manier et, dans la plupart des cas, peu reliés aux édifices moléculaires organiques. L'idée de coupler une autre méthode physique d'investigation après séparation chromatographique, dans le but d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique, s'est concrétisée dès 1960 dans la combinaison entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM (**De Maack et Sablier, 1994**).

Le principe de cette méthode consiste à transférer par le gaz vecteur (phase mobile) les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse (**Desjobert et al, 1997; Bruneton, 1999**).

Autres méthodes :

- **Chromatographie liquide à haute performance**

La chromatographie liquide à haute performance utilise une phase stationnaire très fine. Les particules solides ont un diamètre pouvant atteindre jusqu'à 5 µm. Le garnissage est tassé dans une colonne fermée. La phase mobile liquide circule sous l'effet d'une haute pression.

L'injection de l'échantillon à analyser est pratiquée en introduisant un faible volume de produit (quelques microlitres) dans l'éluant sous pression. Après leur séparation, les différents constituants de l'échantillon sont détectés en sortie de colonne. Un ordinateur assure l'acquisition et le traitement des données (Audigie et al, 1995 ; Bencheikh, 2005).

3.2.2 Polyphénols :

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances chimiques. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est lié directement au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, hétéroside...etc.). Le phénol est le composé de base de ce groupe et les dérivés portant plus de deux noyaux benzéniques sont appelés les polyphénols. Ces composés forment le principe actif de nombreuses plantes médicinales. Ils sont abondants chez plantes vasculaires et localisés dans : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit.

Les composés phénoliques sont des dérivés non azotés où le cycle aromatique est issu principalement du métabolisme de l'acide Schikimique et ou de celui du Malonyl Coa. La majeure partie des composés aromatiques est constituée de la famille des phényles paranoïdes, qui dérivent de la phénylalanine ou de la tyrosine. La désamination de cet acide aminé par une enzyme clé: la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), conduit à l'acide cinnamique.

L'acide cinnamique, un composé en C₆-C₃, constitue un carrefour métabolique intermédiaire entre le métabolisme primaire et secondaire.

3.2.2.1 Classification :

- **Phénols simples et acides phénoliques :**

Certains des plus simples composés phyto chimiques bioactifs sont constitués d'un seul anneau phénolique. Structurellement, les composés phénoliques comportent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyles substitués et vont de la molécule phénolique simple à des composés hautement polymérisés.

- **Flavonoïdes :**

Le terme flavonoïde provient du latin "flavus", signifiant "jaune", ils sont des pigments poly phénoliques presque toujours hydrosolubles qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaunes ou en blanc. Ils ont un champ d'action important et possèdent de nombreuses vertus médicinales. La structure de base d'un flavonoïde est donnée dans la figure 1.3

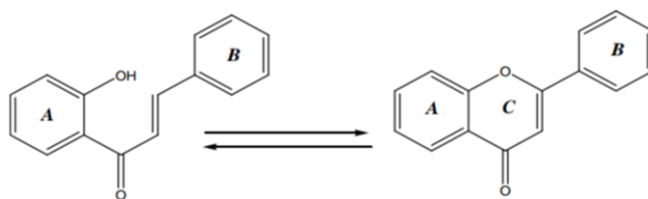


Figure 1.3 : Structure de base d'un Flavonoïde

- **Quinones :**

Les quinones sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques (figure 1.4). Ils sont présents aussi chez les champignons, les lichens et très rarement chez les fougères. Ces molécules se trouvent, également, dans le règne animal, en particulier chez les Arthropodes et les Echinodermes. Ils sont omniprésents dans la nature et sont hautement réactifs. Ces composés, étant colorés, sont responsables de la réaction de brunissement des fruits (coupés ou blessés) et des légumes. Leur présence dans le henné donne ses propriétés de teinture. Ex. l'Anthraquinone.

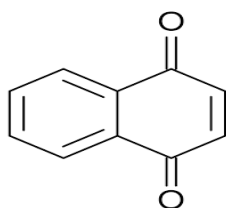


Figure 1.4 : Structure de base d'une quinone

- **Tanins :**

Les tanins sont des composés poly phénoliques (figure 1.5) qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce et aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes et le bétail. Les tanins ont des couleurs qui vont du blanc jaunâtre au brun et foncent à la lumière. Ils possèdent une légère odeur caractéristique et sont astringents. Ils se dissolvent dans l'eau, l'acétone et l'alcool. On les trouve, pratiquement, dans tous les végétaux, mais ils sont particulièrement abondants chez les Conifères, les Fagacées et les Rosacées.

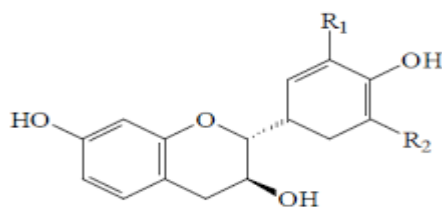


Figure 1.5 : Structure de base des tanins

- **Coumarines :**

Les coumarines sont des lactones des acides cinnamiques. Ils sont largement distribués dans tous le règne végétal et possèdent des propriétés très diverses. Les coumarines libres (figure 1.6) sont solubles dans les alcools et dans des solvants organiques ou des solvants chlorés avec lesquels on peut les extraire.

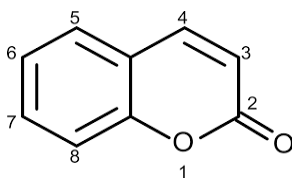


Figure 1.6 : Structure de base des coumarines

3.2.3 Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des molécules organiques mono ou polycycliques d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azotées, plus ou moins basiques, de distribution restreinte et doués, à faibles doses, de propriétés pharmacologiques marquées (figure 1.7). Ce nom dérive du mot alcalin. On les trouve surtout dans les familles suivantes: Papavéracées, Rutacées, Fabacées et Solanacées. Les alcaloïdes ont la propriété de former des sels et d'être amers, la plupart de ces molécules ont une activité biologique puissante et certaines d'entre elles sont de puissants poisons et (donc) de grands médicaments (Morphine, Codéine, Cocaïne...). Solubles dans l'eau.

Les alcaloïdes dérivent, en général, des acides aminés (tryptophane, tyrosine, phénylalanine, lysine, arginine...) qui sont d'abord décarboxylés.

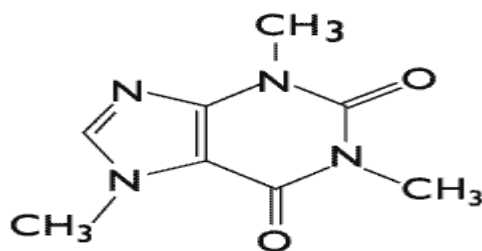


Figure 1.7 : Structure de base des alcaloïdes

4 Formulation pharmaceutique : Pommade

4.1 Définition :

Ce sont des préparations semi-solides composées d'un excipient monophasé hydrophile ou lipophile dans lequel peuvent être dispersées ou dissoutes des substances liquides ou solides. Elles présentent un aspect homogène. Il existe des pommades pour application cutanée, rectal, ophtalmique ou nasale (Wehrlé. P, 2012).

4.2 Différents types de pommades :

- **Pommades hydrophobes ou lipophiles :**

Elles n'absorbent pas ou de très petites quantités d'eau. Leur caractère hydrophobe leur donne un fort pouvoir occlusif (ne laisse pas respirer la peau). Elles forment une barrière à la surface de la peau, limitant ainsi l'évaporation de l'eau et augmentent son hydratation. Elles sont peu ou pas pénétrantes, ce qui permet de freiner la pénétration des composés toxiques et limiter les agressions extérieures. Elles sont généralement réservées aux affections de surface, pour les lésions sèches et/ ou squameuses. Elles ne sèchent pas et restent en surface pour une longue durée. Les excipients les plus fréquemment utilisés sont :

Les hydrocarbures, Les huiles végétales, Les graisses animales, Les huiles de silicone, Les cires (Wehrlé. P, 2012).

- **Pommades absorbant l'eau :**

Elles sont capables d'absorber des quantités importantes d'eau. Les excipients utilisés sont identiques que ceux utilisés pour les pommades hydrophobes, auxquels ils sont ajoutés des émulsifiants amphiphiles de type « eau dans huile » tel que la lanoline. D'autres émulsifiants de type « huile dans eau », peuvent être incorporés, tel que l'alcool gras (Wehrlé. P, 2012).

- **Pommades hydrophiles :**

Elles sont constituées d'excipients miscibles à l'eau. Généralement, il s'agit d'un mélange de polyéthylène glycol (PEG), liquide ou solide, de masses moléculaires élevées. Elles peuvent contenir des quantités d'eau appropriées.

La fabrication de pommade peut être effectuée soit à l'officine, soit à l'échelle industrielle. L'objectif est de fabriquer une préparation onctueuse et homogène dans laquelle des composants insolubles, s'il y en a, sont parfaitement dispersés.

Après les étapes de refroidissement, de lissage et de mûrissement, la pommade est mise dans un conditionnement adapté. Il est important de limiter toute contamination, surtout pour les pommades qui contiennent des phases aqueuses (**Wehrlé. P, 2012**).

5 Méthodologie des plans d'expériences :

5.1 Définition :

Un plan d'expériences est une méthode de planification ou d'organisation des expériences scientifiques et industrielles dans le but de retirer l'information correspondante à l'objectif préalablement fixé. En effet, Le but est d'obtenir un maximum d'informations avec un minimum d'expérimentations par rapport à l'objectif que l'on s'est fixé. Les plans d'expériences sont appliqués dans différents domaines des sciences. La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles, celle d'espace expérimentale et celle de modélisation mathématique des grandeurs étudiées (**Redhouane Lombarka, 2012**).

- **Vocabulaire du plan d'expériences :**

Facteur : il peut être toute variable obligatoirement contrôlable, pouvant influencer sur la réponse observée (**Boudissa F, 2011**).

Réponse : c'est la grandeur qui est observée pour chaque expérience réalisée.

Domaine expérimental : Il présente l'espace dans lequel peuvent varier les facteurs. Les informations tirées des résultats expérimentaux ne seront valables que dans ce domaine.

Matrice d'expérience : une matrice d'expérience est un objet mathématique qui représente l'ensemble des expériences à réaliser. Elle est toujours écrite sous forme codée. Elle est constituée de N lignes correspondants au nombre d'expérience et k colonnes correspondant au nombre de variables ce qui traduit qu'un élément X_{ij} correspond au niveau de l'ième expérience et de la j^{ème} variable.

5.2 Statistique descriptive multidimensionnelle :

Plusieurs méthodes sont développées, et parmi ces méthodes l'analyse en composantes principales (ACP).

5.2.1 Analyse des composantes principales :

Définition :

L'Analyse en composantes principales (ACP) est une méthode de l'analyse des données et plus généralement de la statistique multivariée, qui consiste à transformer des variables liées entre elles (dites "corrélées" en statistique) en nouvelles variables non corrélées les unes des autres. Ces nouvelles variables sont nommées "composantes principales". Elle permet au praticien de réduire le nombre de variables (**Hadj Kaci k, 2014**).

C'est également une méthode de traitement de données multidimensionnelles ayant pour objectifs de visualiser les données, notamment réduire la dimension de ces derniers.

5.2.2 Principe :

L'ACP permet de réduire des tableaux de valeurs de plusieurs variables en un nombre réduit de variables tout en conservant un maximum d'information.

5.2.3 Etapes d'une ACP :

- Choix du tableau de valeurs
- Analyse directe : Construction de l'espace factoriel du nuage de points individus associé au tableau.
- Analyse duale : Construction de l'espace factoriel du nuage de points - variables : elle est déduite de la première
- Interprétation de ces analyses : choix du nombre d'axes factoriel F à retenir, construction des nuages de points projetés sur ces axes, interprétation des axes principaux et étude des proximités entre points.
- Synthèse des résultats, construction éventuelle du tableau de valeurs réduit (tableau des composantes principales) et visualisation des nuages de points associés.

5.2.4 Analyse des données :

Soit « p » variable statistique réelles X^j ($j=1, \dots, p$) observées sur « n » individus i ($i=1, \dots, n$) affectés des poids w_i :

$$\forall i = 1, \dots, n : w_i > 0 \text{ et } \sum_{i=1}^n w_i = 1$$

$$\forall i = 1, \dots, n : x_i^j = X^j(i), \text{ mesure de } X^j \text{ sur le } i^{\text{ème}} \text{ individu.}$$

Ces mesures sont regroupées dans une matrice X d'ordre $(n \times p)$.

	X^1	...	X^j	...	X^p
1	x_1^1	...	x_1^j	...	x_1^p
...
i	x_i^1	...	x_i^j	...	x_i^p
...
n	x_n^1	...	x_n^j	...	x_n^p

- ✓ A chaque individu i est associé le vecteur x_i contenant la $i^{\text{ème}}$ ligne de X mise en colonne. C'est un élément d'un espace vectoriel noté E de dimension p ; nous choisissons R^p muni d'une métrique de matrice M lui conférant une structure d'espace euclidien : E est isomorphe à (R^p, M) ; E est alors appelé espace des individus (**Baccini A., 2010**).
- ✓ A chaque variable X^j est associé le vecteur x^j contenant la $j^{\text{ème}}$ colonne centrée (la moyenne de la colonne est retranchée à toute la colonne) de X . C'est un élément d'un espace vectoriel noté F de dimension n ; nous choisissons R^n muni d'une métrique de matrice D diagonale des poids lui conférant une structure d'espace euclidien : F est isomorphe à (R^n, D) avec $D = \text{diag}(w_1, \dots, w_n)$ (**Baccini A., 2010**).
- ✓ Composantes principales : A chaque axe est associée une variable appelée composante principale. La composante C_1 est le vecteur renfermant les coordonnées des projections des individus sur l'axe 1. La composante C_2 est le vecteur renfermant les coordonnées des projections des individus sur l'axe 2.

Pour obtenir ces coordonnées. Chaque composante principale est une combinaison linéaire des variables initiales.

$$C^1 = U_1^1 X^1 + U_2^1 X^2 + \dots + U_p^1 X^p$$

- **Propriétés des composantes principales :**

La variance d'une composante principale est égale à l'inertie portée par l'axe principal qui lui est associé.

1^{ère} composante C^1 variance : λ_1

2^{ème} composante C^2 variance : λ_2

3^{ème} composante C^3 variance : λ_3

Les composantes principales sont non corrélées deux à deux.

En effet, les axes associés sont orthogonaux.

- **Représentation des individus :**

La $j^{\text{ème}}$ composante principale fournit les coordonnées des n individus sur le $j^{\text{ème}}$ axe principal.

$$C_j = \begin{bmatrix} C_1^j \\ C_2^j \\ \dots \\ C_n^j \end{bmatrix}$$

Si on désire une représentation plane des individus, la meilleure sera celle réalisée grâce aux deux premières composantes principales.

- **Représentation des variables :**

Les représentations des cercles sur l'axe F1 et F2 montrant clairement les différentes corrélations possibles entre les individus (figure 1.8).

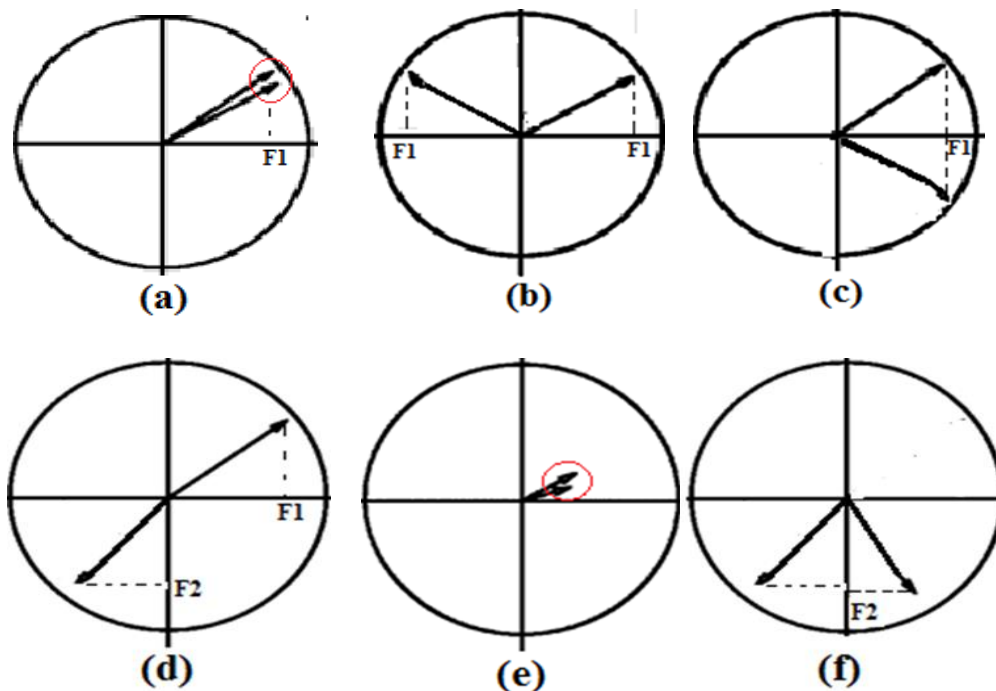


Figure 1.8 : Corrélation des cercles ; Forte corrélation positive : (a) ; corrélation négative : (b) ; corrélation positive : (c) ; Aucune corrélation : (d) ; corrélation positive (négligeable) c.-à-d. n'est pas valable : (e) ; corrélation positive : (f)

Chapitre 2

Matériel et Méthodes



Dans cette partie il était prévu d'examiner les trois points essentiels suivants :

- L'extraction et la caractérisation des polyphénols et de l'huile essentielle de la *Scille maritime*.
- L'étude de la bio activité (activités antibactérienne, activité antioxydant) de l'huile essentielle et des polyphénols.
- La préparation d'une formulation pharmaceutique (pommade à base de l'huile essentielle de la *Scille maritime*).

En raison de la fermeture des laboratoires pédagogiques en rapport avec la crise sanitaire, les parties de l'étude liées à l'extraction et la caractérisation des polyphénols ainsi que l'étude de l'activité antioxydante n'ont pu être réalisées, néanmoins, l'ensemble du matériel, produits et méthodes sont conservés et présentés en détail et serviront probablement pour les étudiants des futures promotions intéressés par la thématique.

1 Matériel et méthodes :

Le matériel et les produits utilisés (ou à utiliser) pour réaliser les différentes manipulations sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau 2.1 : Matériel et produits utilisés

Matériel d'analyse	Verrerie	Equipements	Produits
CPG/SM	Becher	Moulin électrique	Matériels végétales
HPLC	Fiole jaugée	Plaque chauffante	Méthanol ; Ethanol
IR	Pipette (10, 20ml)	Balance analytique	Acide formique à 0.1%
Spectromètre	Spatules	Pompe à vide	Acétonitrile
UV/Visible	Entonnoir	Chauffe ballon 1L	Acide gallique
	Papier filtre	Pince	Trichlorure d'aluminium
	Cristalliseur	pH mètre	Acide coumarique
	Tube à essai	microscope	Acide ciamique
	Erlenmeyer	papier pH	Acide caféique
	Ballon 1L	Etuve	FeCl ₃ 1% ; FeCl ₃ 2%
	Clevenger		HCl
	Pipette pasteur		Ether de pétrole
	Mortier		Ether d'éthylque
	Poinçon		Réactif de stiasny
	Buchner		Réactif de Folin
	Pycnomètre		Na ₂ CO ₃ 7%
			Quercétine

2 Récolte :

2.1 Lieu de récolte :

Les plantes sont une riche source de médicaments car elles produisent des molécules bioactives dont la plupart jouent le rôle de défense chimique contre le prédateur ou des agents infectieux (Cox et Buick, 1994).

Pour cela notre choix c'est porté sur une plante largement utilisée en médecine traditionnelle, la *Scille maritime*. Cette plante est récoltée dans la région : M'douha, commune, daïra et Wilaya de Tizi Ouzou.

Les conditions de récolte, situation géographique et climat, sont regroupés dans le tableau (2.2)

Tableau 2.2 : situation géographique et bioclimatique de la région de la récolte

Région	Altitude	latitude	longitude	climat
M'douha	281m	36,7152°	4,0721	Climat méditerranéen avec un hiver doux et été chaud

Le matériel végétal utilisé est constitué de la partie enterrée de la *Scille maritime*, les écailles les plus extérieures du bulbe qui sont trop sèches sont détachées et les plus intérieures qui sont muqueuses et inertes sont rejetées. Ce sont les écailles intermédiaires qui sont conservées puis séchées sur des roseaux après les avoir isolées et coupées en lamelle (figure 2.1).



(a)



(b)



(c)

Figure 2.1 : (a) : Répartition des écailles dans le bulbe de *Scille maritime* ; (b) : bulbe coupé en lamelles ; (c) : plante séchée sur les roseaux

2.2 Période de récolte et identification de la plante

La récolte a été effectuée, la fin du mois de juillet. L'identification de la plante a été faite par le Docteur **ABDELKADER NABIL BEN GHANEM** de l'INA (institut nationale d'agronomie, El Herrach)

3 Méthodes :

3.1 Broyage et conservation :

Le bulbe séché a été broyé dans un moulin électrique en une poudre très fine. Cette dernière a été conservée dans un flacon à l'abri de la lumière.

3.2 Evaluation du taux d'humidité du matériel biologique :

Le taux d'humidité, ou la teneur en eau, est définie comme étant la perte de masse subie par la matière végétale soumise à une opération de séchage ou à une dessiccation par évaporation (**Twidell E. et al., 2002**). Le taux d'humidité est évalué à l'aide de formule suivante :

$$H (\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \% \dots\dots\dots(1)$$

Avec :

H : teneur en eau (%)

m_1 : masse de l'échantillon avant dessiccation (g)

m_2 : masse de l'échantillon après dessiccation (g)

4 Tests phytochimiques et extractions de substances utiles

4.1 Tests phytochimiques :

Ces tests ont pour but de connaître les principales familles phytochimiques et la nature des métabolites contenus dans un organe végétal. Ils sont effectués avec la méthode de macération de la plante et à l'aide des réactifs appropriés qui indiquent un développement de coloration ou une précipitation.

L'extrait aqueux est obtenu par macération pendant 24h de 100g d'échantillon dans un volume de 100mL d'eau distillée, la phase aqueuse du macérât est filtrée sur un papier filtre, l'extrait obtenu doit être conservé dans des flacons stériles (**Ghdelba, et al..., 2014**).

4.1.1 Test d'identification des composés phénoliques :

Dissoudre 0.1g de l'extrait dans 3mL d'eau distillée et 5 gouttes de $FeCl_3$ y ont été ajoutées, la présence des composés phénoliques est marquée par l'apparition de la coloration bleue verdâtre (**Rosine et al., 2009**).

4.1.2 Caractérisation des flavonoïdes :

Ajouter à 3mL de l'extrait aqueux, 5mL HCl et quelques morceaux de Magnésium, une coloration orange apparaît en présence des flavonoïdes (Cuilei, 1982).

4.1.3 Caractérisation des tanins condensés :

L'ajout du trichlorure de fer (FeCl_3) 1%, permet de détecter la présence ou non des tanins.

Les couleurs vert ou bleu noir apparaît en présence des tanins galliques, et bleu verdâtre en présence des tanins catéchique (tanins condensés) (Dohou et al, 2003).

4.1.4 Différentiation des tanins :

Pour identifier les tanins condensés des tanins hydrolysables, il est préconisé d'utiliser la méthode de précipitation par le réactif de Stiasny (formaldéhyde à 30% ; 2 volumes + HCl concentré ; 1 volume) :

- **Tanins condensés :**

Rajouter 8mL de réactif de Stiasny à 5mL de l'extrait, le mélange est chauffé au bain-marie pendant 30min. En présence de tanins condensés il y'a apparition d'un précipité.

- **Tanins hydrolysables :**

Après filtration, de l'acétate de sodium est ajouté jusqu'à saturation, puis quelques gouttes de FeCl_3 à 2%, l'obtention d'une coloration bleu-noir indique la présence des tanins hydrolysables (Mamadou, 2002).

4.1.5 Caractérisation des saponines :

Introduire deux milligrammes de l'extrait dans un tube à essai contenant 4mL d'eau distillée puis chauffer l'ensemble pendant 5min. Après refroidissement et filtration, introduire 5mL du filtrat dans un second tube à essai et agiter pendant 1min. Après 15min de repos, mesurer l'épaisseur de la mousse à l'aide d'une règle graduée. Une hauteur de mousse d'au moins un centimètre indique la présence des saponines (Rosine et Momo. 2009).

4.1.6 Caractérisation des alcaloïdes :

Introduire dans chacun des deux tubes à essai 1mL d'extrait à analyser, acidifier avec quelques gouttes d'HCl concentré. Deux réactifs sont utilisés pour mettre en évidence la présence des alcaloïdes (Trease G.E et al., 1989)

- Le réactif de Wager, indique leur présence par apparition d'un précipité blanc.
- Le réactif de Mayer, indique la présence des alcaloïdes suite à l'apparition d'un précipité brun.

5 Extraction des polyphénols :

5.1 Extraction des flavonoïdes :

L'extraction des flavonoïdes est effectuée selon le protocole suivant (Feknous et al., 2014) : 30g de matériel végétal cisailés sont macérés dans 100mL de méthanol durant 72h. Le macérât recueilli après filtration est évaporé au rota vapeur pour éliminer le méthanol (à 64,5°C).

Le résidu obtenu est repris dans 50mL d'eau distillée tiède. Puis une série d'extraction liquide/liquide est effectuée sur cette fraction aqueuse par ajout de plusieurs solvants organiques non miscibles et à polarité croissante. La procédure à adopter est la suivante (Feknous al., 2014) :

- Lavage avec trois fractions de 30mL de chloroforme pour éliminer la chlorophylle et les lipides ;
- Lavage avec trois fractions de 30mL, d'éther diéthylique pour extraire les génines et les flavonoïdes libres ;
- Lavage avec trois fractions d'acétate d'éthyle permettant d'éliminer les monosides et d'entraîner les hétérosides flavonoïques ;
- Enfin lavage avec trois fractions de butanol à 30mL.

L'extraction est achevée par évaporation de la phase alcoolique obtenue à 55°C pour récupérer un résidu sec, ce dernier doit être pesé et stocké pour une analyse ultérieure (Feknous et al., 2014).

5.2 Extraction des tanins :

30g du matériel végétal sont macérés durant 24h dans 100mL d'éther de pétrole. Après filtration, le macérât est récupéré alors que la chlorophylle et les lipides sont éliminés.

Le traitement du macérât est effectué avec 50mL d'éther diéthylique durant 30 minutes, afin d'éliminer les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique (Feknous et al., 2014).

Le macérât est repris une seconde fois dans 100mL de méthanol pendant 30min. puis le filtrat méthanolique est évaporé. Le résidu récupéré doit être pesé et conservé dans un flacon propre.

Le rendement des différents extraits poly phénoliques est calculé par l'expression suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{masse de l'extrait sec obtenu}}{\text{masse de la matière végétale prise initialement}} \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

5.3 Caractérisation et dosage des extraits de flavonoïdes et de tanins :

5.3.1 Caractérisation organoleptique :

L'aspect, l'odeur et la couleur sont identifiés par l'examen sensoriel.

5.3.2 Caractérisation par HPLC :

Les composés phénoliques d'origine naturelle ont la propriété d'être soluble dans les solvants polaires, ce qui rend possible l'utilisation de la phase inverse en HPLC (Reverse Phase -HPLC) pour leurs dosages (Marta N Franciso et al., 2017).

- **Préparation des échantillons et des standards :**

La mise en solution des échantillons est réalisée par dissolution de 5mg d'extrait dans 1mL de méthanol.

Les standards sont préparés par solubilisation de 10mg dans 20mL de méthanol.

5.4 Dosage des flavonoïdes :

La détermination de la teneur des flavonoïdes est obtenue par la méthode du trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Elle est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits. Le chlorure d'Aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et absorbe dans le visible à 435nm (Lechehebe B.N et al., 2017).

Le dosage est effectué depuis une gamme d'étalon préparée à partir de la solution mère de quercétine à 0.12mg/mL, obtenue en dissolvant 6mg de quercétine en poudre dans 50mL de méthanol en prenant soin de mélanger vigoureusement. Des solutions filles sont préparées à partir de cette solution mère pour des concentrations comprises entre 0.018 et 0.06mg/mL (tableau 2.3).

Dans un tube à essai, ajouter 1mL de la solution de $AlCl_3$ à 2% (solubilisé dans du méthanol) à 1mL d'extrait ou d'étalon. Après une incubation de 10min, lire, grâce à un spectrophotomètre UV, l'absorbance à 435nm (Lechehebe B.N et al., 2017).

Tableau 2.3 : Concentrations et volumes prélevés des solutions étalon de Quercétine

<i>Concentration des solutions filles (mg/mL)</i>	<i>Volume prélevé depuis la solution mère (mL)</i>
0.018	3
0.024	4
0.03	5
0.042	7
0.06	10

5.5 Dosage des polyphénols totaux (tanins) :

Ce dosage est effectué sur les extraits obtenus par macération de 1g de matière végétale dans 10mL de chacun des deux solvants éthanol et eau distillée. La quantification des polyphénols totaux s'effectue au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier donne une coloration bleue avec les polyphénols totaux et absorbe aux environs de 765nm.

La solution mère à 1mg/mL est obtenue en solubilisant 50mg d'acide gallique dans 50mL de solvant.

Les étalons sont préparés à partir de cette solution mère en prélevant différents volumes pour différentes concentrations (tableau 2.4).

Dans une fiole jaugée de 25mL contenant initialement 9mL du solvant, introduire :

1mL d'extrait ou d'étalon, 1mL de réactif de Folin. Après 5min, additionner 10mL de Na₂CO₃ (7%) au mélange. Agiter l'ensemble et ajuster au trait de jauge (avec le solvant) puis incubé à 23°C pendant 90min. Lire, sur le spectrophotomètre UV-Visible, l'absorbance à 765 nm.

La teneur des composés phénoliques est exprimée en µg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (µg EAG/g d'extrait) (**Dona Tienk, 2009**).

Tableau 2.4 : Concentrations et volumes prélevés des solutions étalons d'acide gallique

<i>Concentration des solutions filles (µg/mL)</i>	<i>Volume prélevés (mL)</i>
20	1
40	2
60	3
80	4
100	5

6 Extraction de l'huile essentielle de la *Scille maritime* :

L'extraction de l'huile essentielle de la *Scille maritime* est obtenue par la méthode de l'hydro distillation dans un hydrodistillateur à échelle pilote (figure 2.2). Il s'agit d'un équipement en acier inoxydable chauffé par une chaudière à gaz et muni d'un serpentín conçu pour la réfrigération des vapeurs de solvant. Cet appareil est utilisé pour les extractions à échelle pilote, fabriqué par une entreprise algérienne.



Figure 2.2 : Photo du montage expérimental d'extraction

6 kg de la matière végétale sous forme de lamelles séchées sont versés dans un récipient de l'appareil avec environ 30L de l'eau, l'ensemble est porté à ébullition pendant 2h de temps. Le distillat est directement versé dans un vase florentin (figure 2.3), la séparation des deux phases se fait par différence de densité. Après récupération de la phase flottante (phase huileuse) à l'aide d'une seringue stérilisé, l'huile essentielle est conservée et stockée dans des flacons à l'obscurité, 4°C.



Figure 2.3 : Décantation de l'huile essentielle à l'aide d'un vase florentin

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle est donné par l'expression suivante :

$$R_{HE} (\%) = \frac{m_{HE}}{m_S} \times 100 \dots\dots\dots(3)$$

R_{HE} : rendement en huile essentielle (%)

m_{HE} : masse de l'huile (g)

m_S : masse du matériel végétal sec (g).

6.1 Caractérisation de l'huile essentielle extraite :

6.1.1 Caractérisation organoleptique :

Ces tests se basent sur la détermination de l'aspect, la couleur et l'odeur de l'huile essentielle (Pharmacopée Européenne).

6.1.2 Caractérisation physicochimique :

6.1.2.1 Densité relative :

La densité relative d'une huile essentielle est le rapport entre la masse d'un volume de cette huile et celle du même volume d'eau distillée pris à 20°C (**Randia Roger, 2010**). Elle est évaluée selon l'équation suivante :

$$d_{TA} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} + 0.0012 \dots\dots\dots(4)$$

d_{TA} : densité relative a T= 21°C

m_0 : masse du pycnomètre vide (g)

m_1 : masse d pycnomètre rempli d'eau (g)

m_2 : masse du pycnomètre rempli de l'huile essentielle (g) (figure 2.4).



Figure 2.4 : photo du pycnomètre rempli d'huile essentielle

6.1.2.2 Indice de réfraction :

Cet indice, souvent noté n , est une grandeur sans dimension caractéristique d'un milieu, décrivant le comportement de la lumière dans ce milieu. Il dépend de longueur d'onde de mesure mais aussi des caractéristiques de l'environnement (notamment pression et la température). La mesure de l'indice de réfraction est obtenue en utilisant le réfractomètre d'Abbe (figure 2.5).



Figure 2.5 : photo du réfractomètre Abbe

L'indice de réfraction d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air au sinus de l'angle de réfraction dans le milieu considéré (**Pharmacopée Européenne**). L'indice de réfraction à une température de référence est évalué par l'équation suivante :

$$n_D^T = n_D^{T'} + 0.0004 (T' - T) \dots \dots \dots (5)$$

T : température de référence 20°C

n_D^T : Valeur de l'indice de réfraction à la température T'

T' : Température de l'échantillon de l'huile essentielle au moment de la mesure

6.1.3 Evaluation de la composition chimique de l'huile essentielle par CPG/SM :

Une unité CPG/SM est composée de deux blocs principaux : chromatographie en phase gazeuse et un spectromètre de masse.

Le chromatographe en phase gazeuse utilise une colonne capillaire qui dépend des dimensions de la colonne (longueur, épaisseur du film) ainsi que les propriétés de la phase. L'analyse de l'huile essentielle de la *Scille maritime* est effectuée par la CPG/SM, dans le but de caractériser l'huile essentielle et identifier le pourcentage et la nature des composés constitués.

7 Etude de la bio activité de l’huile essentielle de la plante :

7.1 Matériel et produits utilisés

Le matériel et produits utilisés (ou à utiliser) pour les tests biologiques sont regroupés dans le tableau 2.5 :

Tableau 2.5 : ensemble de matériel utilisé pour les tests biologiques

<i>Les études</i>	matériel	Produits	Equipement et outil
<i>Etude antioxydant</i>	Micropipette Tubes à essais Fioles jaugée Burettes graduées bécher	Méthanol DPPH Huile de la scille Extrait des polyphénols	Balance analytique Spectromètre UV
<i>Etude bactériologique</i>	Boite de pétrie Ecouvillon Bec benzène	Gélose Gaz butane Huile de la scille	étuve

7.1.1 Activité bactériologique de l’huile essentielle :

L’activité bactériologique de l’huile essentielle de la *Scille maritime* extraite est déterminée par la méthode de l’ensemencement. Le test a été effectué dans un laboratoire d’analyse médicale privé à Draa-ben-Khedda, Tizi-Ouzou.

Le diagnostic a été effectué par madame BERCHICH Hayat, médecin biologiste.

Tableau 2.6 : Différent milieu de culture utilisé.

<i>Milieu</i>	Gélose nutritive	hectoene	Chapman (rouge)	Sabourand	Gélose au sang cuit	Gélose chromagar
<i>Quantité de l’huile</i>	1 goutte					

7.1.1.1 Préparation du milieu de culture :

Dans un bain marie faire fondre les différentes géloses, puis les coller dans les boites de pétries d’une épaisseur de 4mm. Avant l’emploi laisser les Géloses solidifier.

7.1.1.2 Ensemencement :

L'ensemencement est effectué selon les opérations suivantes :

Tromper un écouvillon stérile dans l'huile essentielle, frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la Gélose du haut vers le bas. Refaire l'opération deux fois en tournant la boîte de 60°.

Les boîtes de pétries sont rangés dans l'étuve à l'exception du milieu sang cuit qui est rangé dans une boîte entouré d'une flamme pour assurer les conditions anaérobique (figure 2.7).

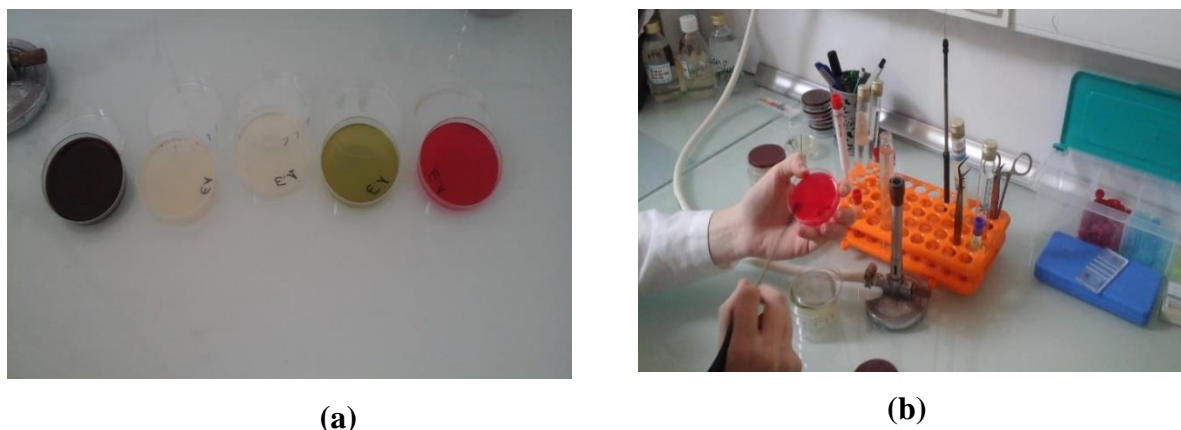


Figure 2.6: Photo de boîte de pétrie avec différents milieu (a) ; Ensemencement d'un échantillon dans un milieu de culture (b)

8 Formulation de pommade et tests de contrôle :

100g de vaseline blanche sont versés dans un mortier en porcelaine, mélangé à 10g de l'huile d'amande douce, le tout est mélangé avec des mouvements circulaires pour assurer l'homogénéité. Verser ensuite, petit à petit, les gouttes de l'huile essentielle en continuant de remuer à l'aide d'un pilon jusqu'à obtention d'une pommade.

La proportion de chaque ingrédient est citée dans le tableau 2.7.

Tableau 2.7 : Ingrédients pour la formulation d'une pommade

Composants	Quantité	Rôle
<i>Huile d'amande douce</i>	10 g	Adoucissant
<i>Vaseline blanche</i>	100 g	Lubrifiant
<i>L'huile essentielle de scille maritime</i>	15 gouttes	Principe actif

8.1 Tests de contrôle de la pommade formulée :

8.1.1 Caractérisation macroscopique :

Les caractères macroscopiques se basent sur l'observation de la couleur, la consistance et l'odeur de la pommade (Salomon, 1994).

8.1.2 Homogénéité :

L'homogénéité de la pommade est vérifiée en l'étalant en couche mince sur une surface plane à l'aide d'une spatule. La répartition régulière ou non des extraits dans les excipients est notée (Salomon, 1994).

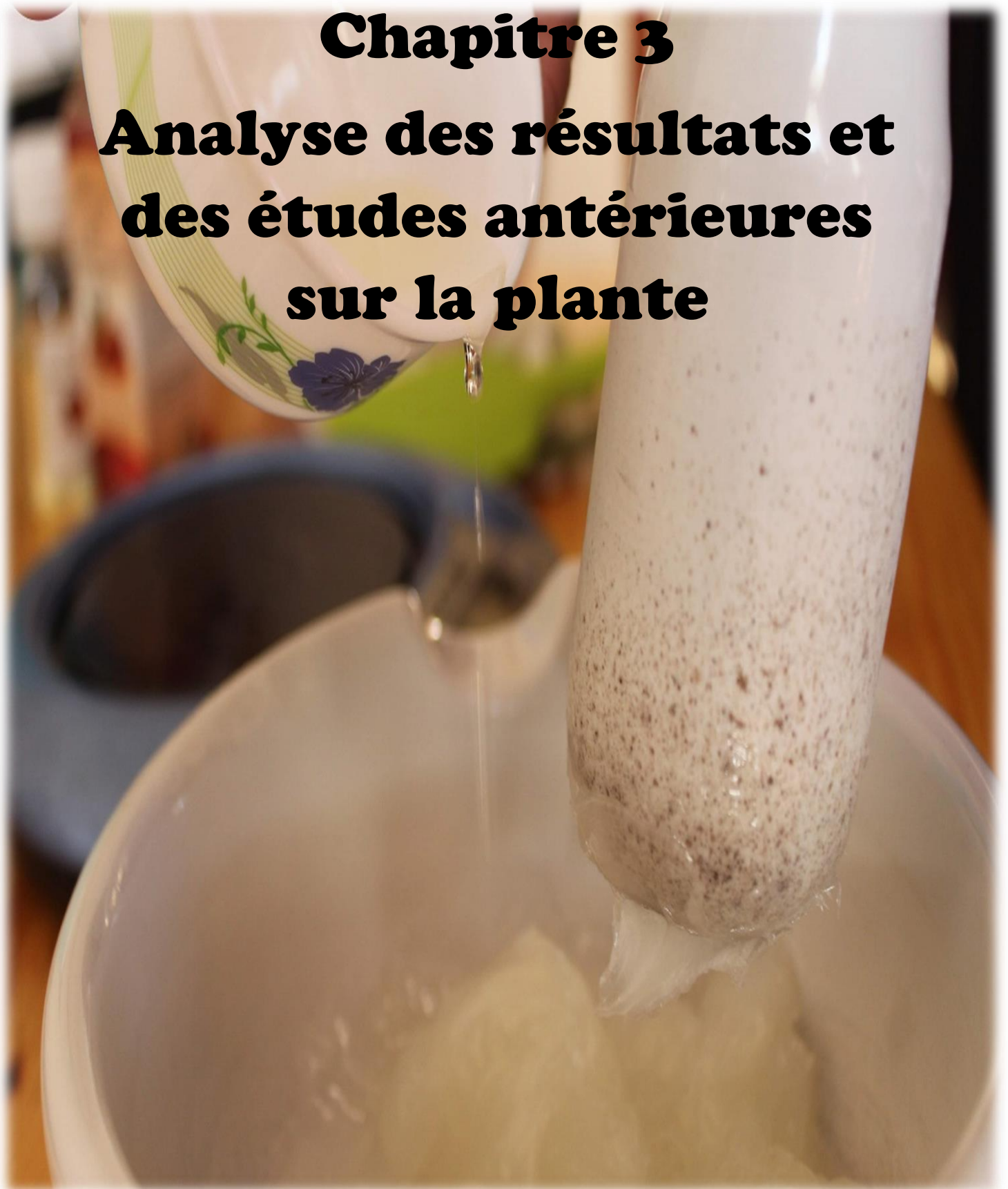
8.1.3 Mesure du pH :

Le pH est déterminé en mesurant celui d'une dilution au dixième, de la pommade, dans de l'eau distillée chaude (Sanogo et al., 2006).

8.1.4 Examen microscopique :

L'examen microscopique permet d'apprécier la bonne adhésion des excipients et extraits, à l'intérieur de la pommade formulée. En effet, la répartition granulométrique doit être la plus homogène possible (Salomon, 1994). Ce test a été effectué par observation au microscope optique.

Chapitre 3
Analyse des résultats et
des études antérieures
sur la plante



1 Taux d'humidité :

La *Scille maritime* a été séchée à l'air libre à l'abri de la lumière, la variation du poids de la matière végétale en fonction du temps est mentionnée dans le tableau 3.1 :

Tableau 3.1: Diminution du poids de la plante durant la période de séchage.

Date	26/07/2020	29/07/2020	01/08/2020	04/08/2020	07/08/2020	10/08/2020
Poids (kg)	23,75	14	8,5	7,75	7,25	6,8

Le taux d'humidité de la *Scille maritime* a été calculé par rapport à la masse de la matière végétale sèche et fraîche. L'ensemble des résultats est mentionné dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2: Poids de la matière végétale avant et après séchage et H%.

Poids de la plante sèche	Poids de la plante fraîche	H%
6,80 Kg	23,75 Kg	71,37

D'après ces résultats, le taux d'humidité est de 71,37%, ceci signifie que la *Scille maritime* est constituée majoritairement d'eau. Ce résultat est illustré par la figure 3.1

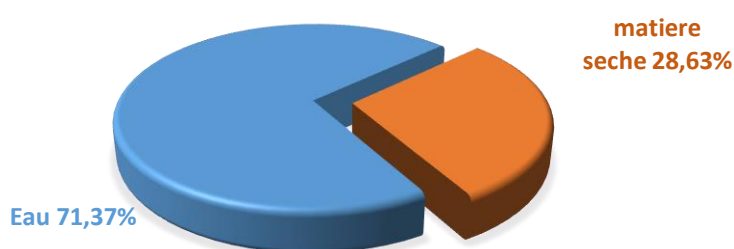


Figure 3.1 : Teneur en eau et en matière sèche de la *Scille maritime*

1.1 Détermination du Rendement d'extraction de l'huile essentielle :

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle a été déterminé par rapport à 6Kg de la matière végétale (lamelle sèche). Le résultat obtenu est présenté dans le tableau 3.3 :

Tableau 3.3 : Rendement d'extraction de l'huile essentielle.

Poids de plante sèche (Kg)	Quantité de l'huile obtenue (Kg)	Rendement %
6	$76,10^{-3}$	1,26

Les données du tableau 3.3 indiquent un rendement en huile essentielle très important ; l'huile obtenue est de couleur jaune pâle, d'odeur aromatique et possède un aspect huileux (figure 3.2). La valeur du rendement est étroitement liée à la période de récolte qui correspond à la période de floraison. En effet, durant cette période la plante est riche en substances bioactives (**La rousse des plantes médicinales, 2001**). Malheureusement ce résultat n'a pas pu être comparé aux données de la littérature à cause du manque des études expérimentales sur l'huile essentielle de la *Scille maritime*. L'ensemble des études antérieures consulté sur cette espèce est basé sur l'extraction des polyphénols (**Benoudina F. et al., 2018 ; Laraoui H., 2016**).



Figure3.2 : Photo de l'huile essentielle

1.2 Détermination des caractéristiques physicochimiques :

Le tableau 3.4 indique les résultats de l'indice de réfraction et de la densité relative de l'huile essentielle extraite. Ces résultats n'ont pas été comparés aux données de la littérature. En effet, l'ensemble des études antérieures conduites sur cette espèce sont principalement basées sur la caractérisation et l'identification des composés phénoliques.

Tableau 3.4 : Valeurs de l'indice de réfraction et de la densité de l'huile essentielle extraite.

Scille maritime	
Indice de réfraction	1,344
Densité	1,001

2 Résultats de l'examen cyto bactériologique :

Les résultats déduits de la première lecture (24 heures) et de la deuxième (72heures) (tableau 3.5) indiquent l'absence de développement de flore bactérienne et de germe susceptible d'altérer le milieu (figure 3.3).

Tableau 3.5 : Résultat de l'examen cyto bactériologique dans les différents milieux de culture.

Milieux de culture	Hectoene	Chapman	Sabourand	Gélose au sang cuit	Gélose chromagar
Résultat	Négative				
Après 24 heures et après 72 heures					

L'échantillon de l'huile essentielle de la *Scille maritime* est stérile, il est par conséquent apte à être utilisé pour une formulation pharmaceutique.

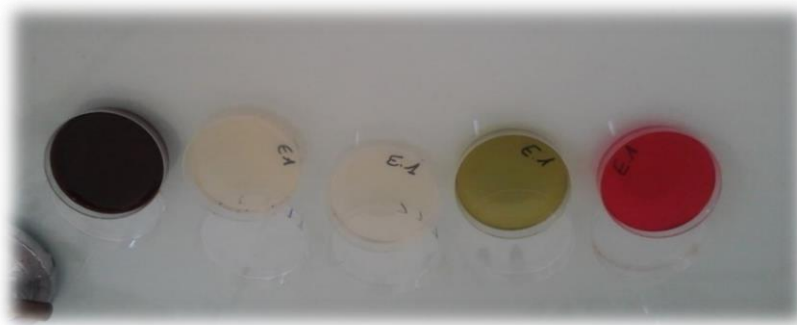


Figure 3.3 : Photo des résultats de lecture après 72 heures.

3 Résultats des tests effectués sur la pommade :

3.1 Examen microscopique :

L'examen, à l'aide d'un microscope optique, de l'homogénéité de la pommade conservée dans deux températures différentes indique :

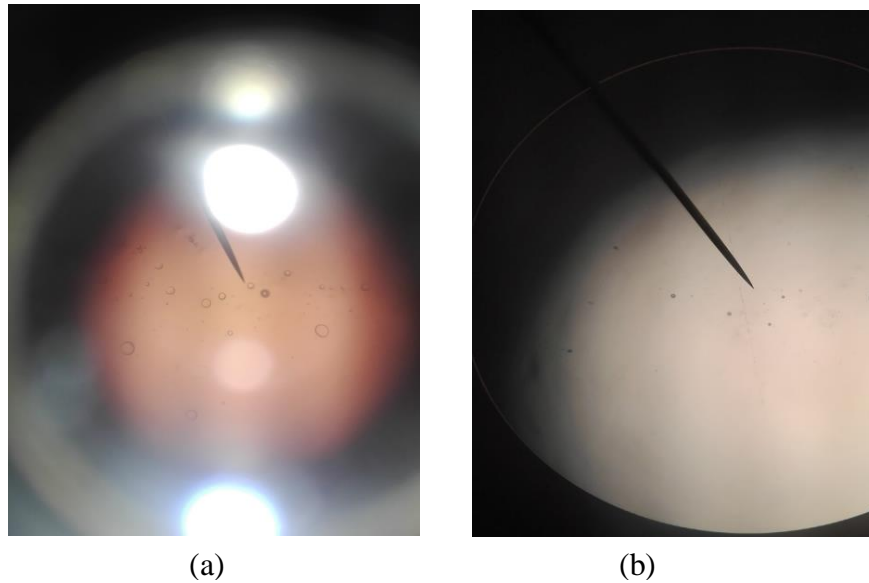


Figure 3.4 : Observation microscopique effectuée sur la pommade formulée.
Pommade conservée à température ambiante : (a) ; Pommade conservée à

Dans la pommade conservée à la température ambiante (figure 3.4 (a)), nous avons constaté un nombre important de particules dispersées de taille différente. La répartition des particules constituant la pommade n'est donc pas homogène, contrairement, dans la pommade conservée à l'intérieur du réfrigérateur (figure 3.4 (b), la majorité des particules observées possède des dimensions presque identiques. Cette pommade est relativement homogène.

3.2 Examen macroscopique :

La couleur de la pommade formulée est blanche pale, sa consistance est semi solide et possède une odeur aromatique (l'huile d'amande douce). Par ailleurs, après étalement de la pommade sur une lamelle nous constatons l'absence des agrégats blancs visible à l'œil nu, figure 3.5.



Figure 3.5 : Photo de la pommade en préparation.

3.3 Mesure de pH :

La valeur de pH mesuré est égale à 6 (figure 3.6). La pommade à base de la *Scille maritime* est neutre, elle ne présente, par conséquent, aucun risque d'irritation cutanée.



Figure 3.6 : Photo de la valeur du pH de la pommade à l'aide d'un

4 Approche statistique des études antérieures :

Dans le but d'approfondir nos recherches et pour une meilleure connaissance et exploitation de la plante étudiée (la *Scille maritime*, famille Liliaceae), nous avons ciblé un ensemble d'études antérieures, regroupées dans huit articles, traitant particulièrement le rendement d'extraction des substances bioactifs, et le pouvoir antioxydant de la plante. La démarche consiste à appliquer la méthodologie de l'analyse des composants principales (ACP) afin d'interpréter un nombre important de données expérimentales. Pour faciliter cette étude le logiciel mathématique « **Statistica 2010** » a été utilisé.

Les facteurs susceptibles d'influencer le rendement d'extraction des substances bioactifs, et le pouvoir antioxydant de la plante sont répartis comme suit :

- Méthode et période de séchage.
- Méthode d'extraction :
 - Méthode traditionnelle la décoction dans l'huile d'olive.
 - Macération, infusion, décoction dans des solvants.
- Solvant d'extraction.
- Le temps et la température d'extraction.
- La partie utilisée (bulbe, partie verte).
- Forme utilisée (poudre).

Les résultats de cette démarche, permettront de trouver et de préparer les conditions opératoires à mettre en œuvre pour réaliser les travaux expérimentaux que nous n'avons pas pu réaliser

cette année à cause de la situation sanitaire (covid-19). A travers cette étude nous espérons encourager la poursuite de ce travail durant les années prochaines.

4.1 Evaluation des différents facteurs influençant le rendement :

Un ensemble de facteurs influençant le rendement (tableau 3.6) et résultant d'une synthèse des résultats expérimentaux d'études antérieurs (articles 1, 2, 5, 7) font l'objet de deux analyses et sont présentées dans les deux paragraphes suivants.

Tableau 3.6 : Facteurs influençant le rendement d'extraction et les composés bioactifs

art	Part. bul	Part. vert	Per.Rec	Séch.	Metho. ext	Solv.	T°C ext	t _{ext} (min)	R%	[C] poly.bul	[C] poly.vert	[C] tan	[C] flav
1	-	+	Octobre	Air lib.	Inf.	Eau	-	15	20.4	-	68.7	391.1	3.45
	-	+		Air lib.	Mac.	Eth.	-	-	24.9	-	66.9	314.1	5.31
	-	+		Air lib.	Mac.	Acéta.	-	-	3	-	100.4	477.8	29.19
	-	+		Air lib.	Mac.	Chlo.	-	-	1.7	-	73.3	422.7	9.49
2	+	-	Mars	Air lib.	Mac.	eau	24	1440	0.975	31.86	-	6.66	1.01
3	+	+	avril	Etuve	Mac.	Eau	-	60	-	263	1526.27	-	-
	+	+		Etuve	Mac.	Eth.	-	60	338.85	1645.75	-	-	
	+	+		Etuve	Mac.	Acéto.	-	60	352.47	1734.87	-	-	
	+	+		Etuve	Mac.	Métha.	-	60	267.08	1506.36	-	-	
4	+	-	juillet	Air lib.	Mac.	Métha.	25	1440	6.24	564.43	-	-	37.45
5	+	-	Septembre	Air lib.	Mac.	Métha.	26	7200	-	234.25	-	-	11.42
6	+	+	octobre	Air lib.	Mac.	Métha.	27	-	-	15.28	17.80	-	-
				Air lib.		Eth.	28	-	9.66	23.14	-	-	
				Air lib.		Acéto.	26	-	56.76	24.06	-	-	
				Air lib.		Benz.	25	-	27.12	36.01	-	-	
7	+	-	juin	Air lib.	Mac.	Métha.	23	1440	12	130.88	-	6.76	50.81
8	+	-	-	-	Inf.	eau	24	15	-	48.3	-	-	-
					Mac.		25	15	58.5	-	-	-	
					Décoc.		23	2880	60.90	-	-	-	

- ✓ R% : rendement de l'extrait aqueux qui contient les métabolites secondaires ;
- ✓ Méthode d'extraction : c'est la méthode utilisée durant l'étape d'extraction comme la macération (Mac), infusion (Inf.) et décoction (Décoc) ;
- ✓ Temps d'extraction : t_{ext} c'est la durée de l'extraction, elle est exprimée en min ;
- ✓ Solvant : solvant utilisé, méthanol (Métha), éthanol (Eth), acétate (Acéta) et l'eau ;
- ✓ Partie : la partie utilisée, dans le cas de la *Scille maritime* c'est soit le bulbe soit la partie verte ;
- ✓ Forme : indique la forme d'utilisation de la plante, dans cette étude c'est la forme broyée ;
- ✓ Température : la température d'extraction qui correspond à la température ambiante ;
- ✓ Séchage : il est subdivisé en deux :
 - La méthode de séchage : à l'air libre à l'abri de la lumière ;
 - La durée de séchage : selon la quantité d'eau contenue dans la plante.

- ✓ [C]poly : la concentration des polyphénols ; [C]tan : la concentration des tanins ;
[C]flav : la concentration des flavonoïdes.

4.1.1 Première analyse :

Les articles étudiés pour réaliser cette première analyse sont les articles 2,4, et 7. Les facteurs ayant une influence sur le rendement sont regroupés dans le tableau 3.7.

Tableau 3.7 : Variation des différents facteurs influençant le rendement (article 2,4,7).

<i>Per.Rec.</i>	<i>Séch.</i>	<i>Solv.</i>	T°C _{ext}	R%	[C] flav
<i>mars</i>	25	eau	24	0,975	1,01
<i>juillet</i>	24	Métha.	25	6,24	37,45
<i>juin</i>	28	Métha.	23	12	50,81

Les valeurs des facteurs F1 et F2 sont dites significatives si elles sont supérieures ou égales à 0.5.

Selon les résultats du tableau 3.8, l'axe F1 contient, sur le pole négatif, des valeurs significatives des variables suivantes : Per.Rec (période de récolte = -0,99), sech (séchage = -0,782), Solv (solvant = -0,815), R% (rendement d'extraction = -0,997) et la [C]flav (concentration en flavonoïdes = -0,937).

Tandis que l'axe F2, contient un seul facteur significatif sur le pole négatif qui est la T°C_{ext} (température d'extraction = -0,815).

Tableau 3.8 : Corrélation entre variables et facteurs F1 / F2

<i>variable</i>	Factor coordinates of the variables, based on correlations	
	Factor 1	Factor 2
<i>Per.Rec</i>	-0,995596	-0,093745
<i>Séch.</i>	-0,782404	0,622772
<i>Solv.</i>	-0,815339	-0,578983
<i>T°C_{ext}</i>	0,578983	-0,815339
<i>R%</i>	-0,997691	-0,067914
<i>[C] flav.</i>	-0,937531	-0,347903

La projection des variables dans l'espace des axes F1 et F2 (figure 3.7) indique que le séchage, la période de récolte, le solvant, le rendement d'extraction et la concentration en flavonoïde sont tous corrélés positivement entre eux.

Le rendement et la période de récolte sont fortement corrélés entre eux, le rendement d'extraction dépend, par conséquent, d'une période de récolte précise, ce choix est particulièrement important. Ce résultat est en rapport avec la concentration élevée des flavonoïdes.

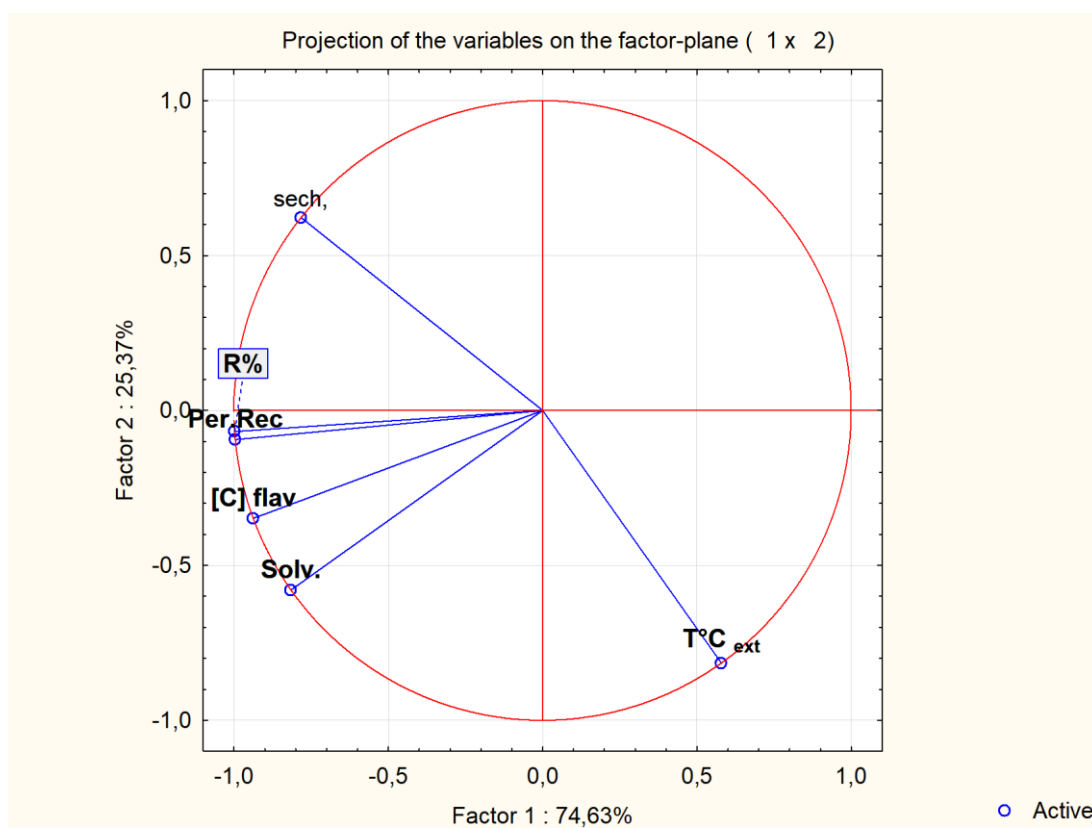


Figure 3.7 : Projection des variables dans l'espace des axes F1 et F2.

L'absence des facteurs F3, F4, F5 dans le tableau 3.7 est justifiée par la valeur de l'inertie totale des deux axes (100%), cela permet une très bonne analyse avec un maximum d'information.

Selon les données de la littérature, la période de séchage doit être courte et doit se faire dans un endroit bien aéré et à l'abri de la lumière (**Berton, 2001**) ; l'augmentation de la température de séchage influe négativement sur le rendement d'extraction.

La récolte doit être effectuée au moment le plus favorable afin de conserver l'efficacité des principes actifs. Certaines plantes peuvent être cueillies à tout moment de l'année, mais d'autres

doivent être récoltées à une période précise de leur croissance pour être utilisées immédiatement ou conservées (**La rousse des plantes médicinales, 2001**).

La récolte de la *Scille maritime* doit être en automne, la période où elle est riche en substances bioactives tandis qu'en printemps elle a un caractère sucrée.

4.1.2 Deuxième analyse :

Les articles étudiés pour réaliser la deuxième analyse sont 1, 2, 4, et 7. Les facteurs influençant le rendement sont regroupés dans le tableau 3.9.

Tableau 3.9 : Variation des facteurs influençant le rendement (articles 1, 2, 4, 7)

	Part.bul	Part.vert	Per.Rec	Metho.ext	Solv.	T°C ext	t.ext (min)	R%
-		vert.	octobre	Inf.	Eau	-	15	20,4
-		vert.	octobre	Mac.	Eth.	-	-	24,9
-		vert.	octobre	Mac.	Acéta.	-	-	3
-		vert.	octobre	Mac.	Chlo.	-	-	1,7
[C]		-	mars	Mac.	Eau	24	1440	0,975
poly.bul.								
bul.		-	juillet	Mac.	Métha.	25	1440	6,24
bul.		-	juin	Mac.	Métha.	23	1440	12

Les résultats du tableau 3.10 indiquent :

L'axe F1 contient des valeurs significatives des variables suivantes :

Sur le pole positif :

Part.vert (partie verte = 0,969), T°C_{ext} (température extraction = 0,975)

Sur le pole négatif se trouve :

La Part.bul (partie bulbe = -0,969), Per.Rec (période de récolte = -0,827), le t.ext (min) (temps d'extraction= -0,975) et T°C_{ext} (température extraction = -0,975)

L'axe F2 contient deux facteurs : Metho.ext (méthode d'extraction = -0,705) et le R% (rendement d'extraction = -0,647).

Tandis que le facteur Solv (solvant = -0,620) est définie sur l'axe F3.

Tableau 3.10 : Corrélacion entre variables et facteurs F1/F2.

Variable	Factor coordinates of the variables, based on correlations					
	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6
<i>Part.bul.</i>	-0,969331	-0,198595	0,132986	0,019758	0,053677	-0,000608
<i>Part.vert.</i>	0,969331	0,1985948	-0,132986	-0,019758	-0,053677	0,000607
<i>Per.Rec.</i>	-0,827841	-0,189393	-0,448642	-0,078914	-0,267022	-0,000058
<i>Métho.ext.</i>	-0,505497	0,705173	-0,029498	0,494552	-0,041838	0,000018
<i>Solv.</i>	-0,550597	0,478858	-0,620042	-0,239414	0,160516	0,000028
$T^{\circ}C_{ext}$	0,970109	0,200724	-0,128455	-0,020574	-0,040855	-0,001843
$T_{ext. (min)}$	-0,975754	-0,163793	0,129453	0,041514	0,050914	-0,000596
<i>R%</i>	0,426467	-0,647698	-0,513436	0,355517	0,092749	0,000010

Cette deuxième ACP représente une inertie totale (F1+F2) des deux axes de 81.58% cela permet une bonne analyse des résultats (figure 3.8).

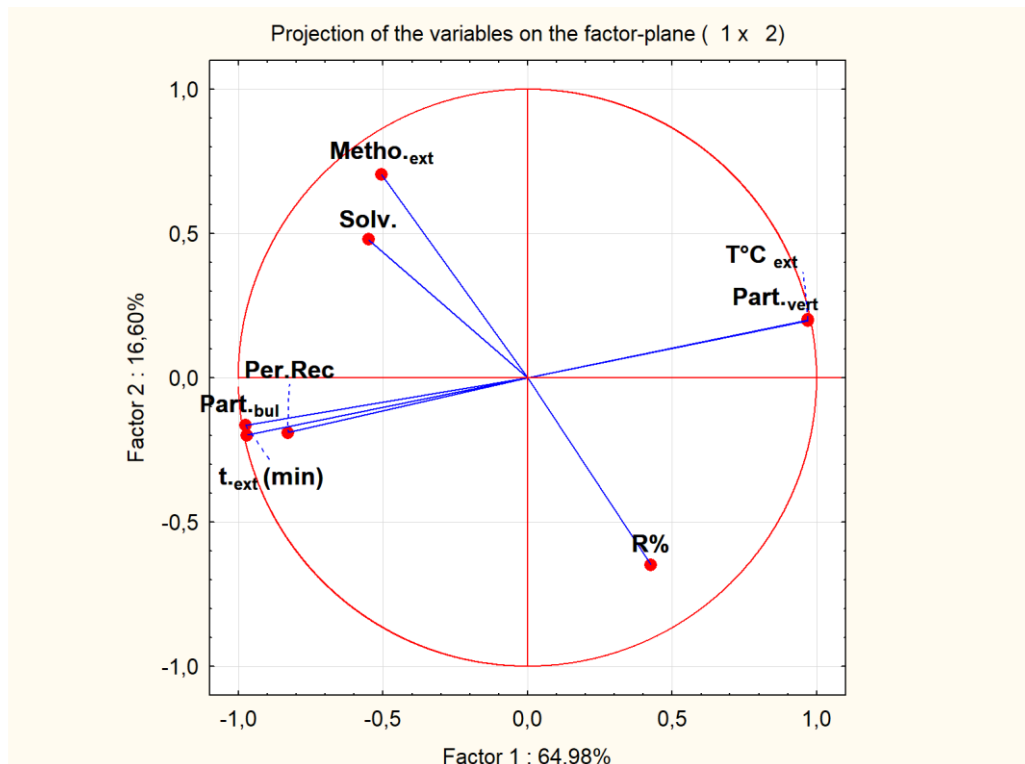


Figure 3.8 : Projection des variables dans l’espace des axe F1 et F2

Les résultats de la figure 3.8 indiquent que la méthode d’extraction et le rendement sont corrélés négativement sur l’axe F2, ce qui traduit que les méthodes d’extraction influencent différemment le rendement d’extraction, en effet :

- La méthode d'extraction : selon la littérature (**Benoudina F. et al., 2018 ; Laraoui H., 2016 ; Rebaya A. et al., 2015 ; Pinela J. et al., 2012 ; Castroviejo S. et al., 2010 ; Bedoya, L.M. et al., 2001; Abad, M.J. et al., 1997**), la méthode utilisée en médecine traditionnelle est la décoction dans l'huile d'olive. Cette méthode est du point de vue qualitatif aussi efficace que les autres méthodes. Cependant, concernant *la Scille maritime*, les données des études antérieures que nous avons consultées indiquent que la méthode d'extraction préconisée est la macération dans un solvant approprié.
- Le solvant d'extraction : la variable solvant est défini sur l'axe F3 avec une inertie de 11,49%, selon la littérature c'est un facteur susceptible d'influencer le rendement. Ce dernier augmente avec le choix du solvant approprié.
- La forme broyée de la partie bulbe : les résultats des données expérimentales décrites dans les articles des études antérieures montrent que cette forme est la plus utilisée.
- La température d'extraction : cette température (25°C) est corrélée positivement à la partie verte de la plante et négativement au temps d'extraction, le temps d'extraction doit, par conséquent, être court. En effet, l'augmentation du temps d'extraction influe sur la qualité de l'extrait, ceci est probablement due à la dégradation de certaines substances comme les polyphénols, l'oxydation des composés phénoliques quand le temps d'extraction est long est confirmée par plusieurs résultats expérimentaux des études antérieures (**Chirinos et al., 2007**). Cependant, la partie bulbe est corrélée positivement au temps d'extraction et est négativement corrélée à la température d'extraction.

4.2 Discussion des résultats :

Au terme de ces deux analyses, l'obtention d'un rendement d'extraction conséquent de substances bioactives de la *Scille maritime*, est obtenue quand :

- ✓ Le séchage de la plante est effectué à l'air libre, à l'abri de la lumière et à la température ambiante. La plante doit être séchée juste après la récolte pour réduire sa teneur en eau et limiter les dommages causés par les enzymes et d'autres agents biologiques ;
- ✓ Le solvant d'extraction est l'éthanol ;
- ✓ La méthode d'extraction est la macération ;
- ✓ Le temps d'extraction est réduit ;
- ✓ La température est la température ambiante ;
- ✓ La période de récolte est l'automne correspondant à la période de floraison ;

- ✓ La partie utilisée est le bulbe, ce choix est confirmé par l'utilisation ancestrale de la plante. En effet, les polysaccharides des plantes sont concentrés dans des parties bien spécifiques à savoir dans des organes de stockage souterrain comme les graines, les bulbes et les racines (Boual, 2014) ;

4.3 Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante est évaluée avec différentes méthodes telles que : DPPH, β-Carotène, xanthie oxydase, pouvoir réducteur, hydroxyde radicalaire, anion superoxyde, ABTS. Dans cette partie, l'analyse des composantes principales (ACP) n'a pas été réalisée à cause du manque de données dans les six articles consultés (tableau 3.11).

Tableau 3.11 : évaluation de l'activité antioxydante avec différentes méthodes.

Ar t	[C] poly.bul.	[C] poly.vert.	[C] flav.	[C] tan.	Activité Antioxydant								
					DPPH.bul.	DPPH.ver t.	β- carot	x.O.	P.red.bul	P.red.vert	H.rad.	A.sup.	ABTS
1	-	66.9	5.31	314.1	-	94,66	20	-	-	53,18	406,6	455,77	26.33
	-	100.4	29.19	471.8	-	34,22	30	-	-	17,06	7	202,77	25.77
	-	73.6	9.49	422.7	-	54,66	56	-	-	24,2	239,1	562,77	4.99
	-	68.7	3.45	391.1	-	40,88	71	-	-	50,56	7	147,78	7.33
2	31,86	-	1,01	6,66	-	-	18	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	263	1526,27	-	-	-	-	-	-	414.98	2312.09	-	-	-
	338,85	1645,75	-	-	-	-	-	-	418.94	1528.19	-	-	-
	352,47	1734,87	-	-	-	-	-	-	434.02	2427.15	-	-	-
	267,08	1506,36	-	-	-	-	-	-	409.97	1506.46	-	-	-
4	564.43	-	37450 .86	-	8.526	-	-	65.38	12.32	-	-	-	-
5	234.25	-	11.42	-	57.38	-	69.65	0.67	-	-	-	0.68	-
6	15.28	17.80	-	-	57.33	63.5	-	-	-	-	-	-	-
	9.66	23.14	-	-	72.6	61.3	-	-	-	-	-	-	-
	56.76	24.06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	27.12	36.01	-	-	31.12	-	-	-	-	-	-	-	-

A l'aide des données expérimentales extraites de l'article 1 dans lequel le teste de l'activité antioxydante a été effectuée avec différentes méthodes, nous pouvons déduire que la *Scille maritime* présente une activité de piégeage contre les radicaux DPPH et ABTS.

4.3.1 Discussion des résultats :

Cette capacité de piégeage peut être due à la présence des composés phénoliques notamment les tanins. Hagerman et al., 1998 ont rapporté que les composés phénoliques de haut point moléculaire tels que les tanins ont plus de capacité à atteindre les radicaux libres ABTS. Cet effet explique la présence d'une forte corrélation entre le piégeage des radicaux ABTS et la teneur des tanins.

Conclusion



Les plantes médicinales représentent une source fiable et inépuisable de métabolites secondaires. Ces derniers sont connus pour leurs propriétés thérapeutiques et suscitent actuellement beaucoup d'intérêt pour le domaine pharmaceutique.

L'expérimentation que nous avons réalisée dans ce présent travail concerne l'extraction de l'huile essentielle de la *Scille maritime* par la méthode d'hydrodistillation et l'évaluation de son activité bactériologique ainsi qu'une formulation pharmaceutique. Nous avons également adopté une démarche qualitative sur les études antérieures en appliquant la méthodologie de l'analyse des composantes principales, pour évaluer les paramètres qui influent le rendement d'extraction des substances bioactives. L'ensemble des résultats obtenus sont :

- Le rendement d'extraction de l'huile essentielle de la *Scille maritime* est de 1,26%, c'est un rendement appréciable favorisé par le choix de la période de récolte.
- L'absence de germe ou de flore bactérienne obtenue lors de l'examen bactériologique permet de déduire que l'huile essentielle de la *Scille maritime* est stérile et peut être utilisée pour une formulation pharmaceutique.
- L'examen microscopique de la pommade formulée indique que la pommade conservée dans le réfrigérateur est particulièrement homogène présentant une distribution de particule de taille et de dimension presque identiques.
- L'analyse par l'ACP des données des études antérieures, indique que :
Le rendement d'extraction est favorable si :
 - ✓ Le séchage est effectué à l'air libre, à l'abri de la lumière et à température ambiante,
 - ✓ Le bulbe est utilisé sous forme de poudre,
 - ✓ L'extraction est effectuée avec l'éthanol par la méthode de macération pendant un temps cours à température ambiante.

La *Scille maritime* présente une activité de piégeage contre les radicaux DPPH et ABTS, cette capacité est liée à la présence des composés phénoliques notamment les tanins.

Les résultats de la présente étude ne constituent qu'une initiation à la recherche sur les extraits de la *Scille maritime*. Suite à nos modestes résultats il serait intéressant d'approfondir cette étude afin :

- D'évaluer les activités biologiques, anticancéreuses et anti-inflammatoires des différents extraits de la plante.
- D'étudier et identifier les composés responsables de la toxicité.

Références bibliographiques



-A-

- ABAD M.J., Bermejo P., VILLAR A., SANCHEZ S., CARRASCO L. Antiviral activity of medicinal plant extracts. *Phytother Res*, 1997, 11, 198-202.
- AVLESSI F., ALITONOU G.A., DJENONTIN TS., TCHOBO F., YEHOUENOU B., MENUT C., SOHOUNHLOUE D. 2012. Charicate and Biological activities of the Essential oil extractinated from the Fresh leaves of chromola ena odorata (L. Robinson) grouving in Benin. *T_SCA journal of biological sciences*, 1(3), 7-13.
- AUDIGIE C.L., Dupon G., Zonsogain F. 1995. Principes des méthodes d'analyse biochimique. 2éme ED. Pais : Doin.

-B-

- BACCINI A. 2010. Statistique Descriptive Multidimensionnelle. Publication de l'Institut de Mathématique de Toulouse : UMR CNRS.
- BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK D., IDAOMAR M. 2008. Biological effects of essential oils – Areview. *Food and chiminal Toxicologie*, 46, 446-475.
- BEDOYA L.M., SANCHEZ S., ABAD M.J., BERMEJO P., ALCAMI J. 2001. Anti-HIV activity of medicinal plant extracts. *J. Ethnopharmacol*, 77, 113-116.
- BEGO Ph. 2001. Connaitre l'essentiel sur les huiles essentielles, Collection aromathérapie pratique et familiale. Paris : Ed. MDB.
- BELAICHE P. 1979. Traité de phytothérapie ex d'aromathérapie. Tome 1. Paris : Maloine.
- BELLAKHDAR J. 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Editions Le Fennec, Casablanca : Ibis Press.
- BENBRINIS Soumia. 2012 Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de Santolina chamaecyparissus. Mag. : Biochimie et physiologie expérimentale : UNIVERSITE FERHAT Abbas-SETIF.
- BENCHEIKH H. 2005. Contribution à l'étude de la composition de l'activité antimicrobienne et de la cytotoxicité des huiles essentielles de thymus fontanesii et foeniculum vulgare. Mag. Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- BENJILALI B. 2004. Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles de la plante à la commercialisation, 17-59.

- BENKHNIGUE O., ZIDANE L., FADLI M., ELYACOUBI H., ROCHDI A., DOUIRA A. 2010. Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraa Bel Ksiri (Région du Gharb du Maric). *Acta Botanica Barcinonensia*, 53, 191-216.
- BENOUDINA. F, HARIECHE. M. 2018. Investigation phytochimique et potentiel antioxydant d'une plante algérienne du genre *Tuberaria* (Cistaceae). Mag. : Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire : Université des Frères Mentouri Constantine 1.
- BENZI I.F.F., STRAIN J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of « antioxidant power ». *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- BERTON H. 2001. Sorcellerie en Auvergne : Sorciers, guérisseurs, médecine magiques et traditionnelles. France : Éditions de Borée (Clemont Ferraud).
- BOUAL Z. 2014 Caractérisation physicochimique des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinaal récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara Spetentional Est Algérien) : Activité biologique. Doc. : Biochimie : Université Kasdi-Merbah de Ouargla.
- BOUDISSA Farida. 2011 Influence des radiations micro-ondes sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive imprègne de margines. Mag. : Chimie de l'environnement : Université Mouloud MAMMERI , TIZI-OUZOU.
- BRUNETON J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème éditions. Paris : TEC et DOC.
- BURT S. 2004. Essential oils : their anti bacterial properties and potential applications in food s-a review. *International Journal of Food and Microbiology*, 94. 223-253.

-C-

- CASTROVIEJO S., AEDO C., CIRUJANO S., LAINZ M., MONTSERRAT P., MORALES R., MUÑOS CATALAN B., ARROYO S. F., SAURA D., GUILLEN E., FERNANDEZ A., CARRETERO A. S., MICOL V. 2010. Cistaceae aqueous extracts containing ellagitannins show antioxidant and antimicrobial capacity and cytotoxic activity against human cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 4, 8, 2273-2282.
- CAZIN F.J., 1868. *Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigène avec un atlas de 200 planches lithographiées*. 3ème édition. Paris : P. Asselin.
- CHABRIER Jean Yves. 2010 *Médicinales et formes d'utilisation en phytothérapies*. Doc : Pharmacie : Université Henri Poinncare- Nancy 1.

- CHALMERS L.G. 1974. The pharmacology of squill. *Journal of Urban Health*, 50, 6, 747-750.
- CHIRINO R., ROGEZ H., CAMPOS D., PEDRESCHI R., LARONDELLE Y. 2007. Optimisation of extraction conditions of antioxydant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers. *Journal of Separation and Purification Technology*, 55, 217-225.
- CIULEI I. 1982. Methodology for Analysis of Vegetable Drugs. Practical Manual on the industrial Utilisation of Medicinal and Aromatic Plants. *American Journal of Plant Sciences*, 5, 19, 1-62.
- COX P.A., BALICK M.J. 1994. The Ethnobotanical Approach To Drug Discovery. *SCIENTIFIC AMERICAN*, 270, 6, 82-87.
- CRONQUIST A. 1981. An Integrated system of classification of Flowering plants. New York : Columbia University Press.

-D-

- DAOUDI A., BACHIRI L., BAMMOU M., IBIJBIJEN J., NASSIRI L. 2015. Etude Ethnobotanique au moyen atlas centrale. *European Scientific Journal*, 24, 11,17.
- DAOUDI A., BAMMOU M., HALOUI Z., IBIJBIJEN J., NASSIRI L. 2017. Activité Antifongique Des Extraits Aqueux De *Calendula Officinalis* L, *Urginea Maritima* (L.) Baker et *Chenopodium Ambrosioides* L. *European Scientific Journal*, 24, 13, 483.
- DE MAACK F., SABLIER M. 1994. Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. *Technique d'analyse*, 3, 14-26.
- DEEPAK A.T.G., SHIVAKAMES H.M., SALIMATH B.P. 2003. Isolation and characterization of a 29-RD a glycoprotein with antifungal activity from bulbs of *urginea indica*. *Biochemical and Biophysical research communication*, 311, 3, 735-742.
- DESJOBERT J.M., BIANCHINI A., TOMMY P., COSTA J. et BERNADINI A.F. 1997. Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse, valorisation des plantes de la flore corse. *Analisis*, 25, 6, 13-16.
- DONATIEN Koné. 2009 Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : extraction, Identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols : Etude de leur activité antioxydante. Doc. : Biologie végétale : Université de Lorraine.

- DOUHOU N., YANI K., THAHROUCH S., IDRISSE H.L.M., BADOUC A., GMIRA N. 2003. Screening phytochimiques d'une endémique ibéro-Marocaine ; Thynelaea Lythroides. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142, 61-78.
- DURAFFOURD C., HERICOURT L.D., LAPRAZ J.C. 1990. Cahiers de phytothérapie clinique. 2^{ème} éd. Paris : Masson.

-E-

- EISENHUT M. 2007. The toxicity of essential oils, article in presse. International Journal of Infectious Disease, 11, 4, 365-370.
- EL FENNOUNI Meryem. 2009 Les plantes réputées abortives dans les pratiques traditionnelles d'Avortement au MAROC. Doc. : Pharmacie : Faculté de Médecine et de Pharmacie- RABAT.
- EL HAFIAN M., BENLANDINI N., ELYACOUBI H., ZIDANE L., ROCHDI A. 2014. Etude floristique et ethnobotanique des plantes médicinales utilisées au niveau de la préfecture d'Agadir-Ida-Outanane. Journal of Applied Biosciences, 81, 1, 7198- 7213.
- EL KOLLI Meriem. 2008 Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Athemis pedunculata Desp, d'Athemis punctata de Daucus crinitus Desf. Mag. : Microbiologie : Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.

-F-

- FAVIER A. 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. Open Journal of Obstetrics and Gynecology, 8, 6, 108-115.
- FEKNOUS S., SAID F., MOHAMED S.R. 2014. Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L). Revue « Nature & Technologie » A-Sciences fondamentales et Engineering, 11, 07-13.
- FRANCE-IDA J. 1996. Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. Info-essence, 3, 5-6.

-G-

- GHEDADBA N., BOUSSELSA H., HAMBABA L., BENBIAS S., MOULOUD Y. 2014. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de marrubium vulgar L. *Phytothérapie*, 12, 52, 15-24.
- GRIVE M. 2011. Squill, Amodern Herbal. The Medicinal, Culinary.

-H-

- HAGEMAN A.E., RIEDI K.M., JOES G.A., SOVIK K.N., RITCHARD N.T, HARTZFED P.W., RIECHEL T.L. 1998. Hight molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxydants. *J Ager Food chem.* 46, 1887-1892.
- HADJ KACI Karima. 2014 Analyse en composantes principales. Mag. : Statistique : Université Mouloud MAMMERI, TIZI-OUZOU.
- HAMMICHE V., MERAD R., AZZOUZ M. 2013. Plantes toxiques à usages médicinal du pourtour méditerranéen. Berlin : Springer.

• -I-

- Institut européen des substances végétales (2015-2016). Les plantes médicinales. (www.lesv.org)
- ISERIN P. 2001. Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. 2ème édition. London : Larousse.

-J-

- JOLY Arnand. 2010 Intoxication digitalique non médicamenteuse : UN RISQUE NON NEGLIGEABLE. Doc. : Médecine Générale : Faculté de Médecine de NANCY.

-K-

- KALEMBA D., KUNICKA A. 2003. Anti-bactériel and anti-fungal properties of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18, 435-448.

- KIM BARIS A.C., SIATIS N.G., DAFERARA D.J., TARANTULIS P.A., PAPPAS C.S., POLISSIOU M.G. 2006. Comparaison of distillation and ultrasound- assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason Sonochom*, 13, 54-60.

-L-

- Lachèvre Marc. 2010. La théorie des signatures. *Biocontact*, 198, 62-66.
- LAHLOU M. 2004. Méthodes to study phytochemistry and Bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18, 435-448.
- LAHLOU M., BERRADA R. 2003. Composition and niticidal activity of essential oils of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Marocco. *Journal des saveurs et des parfums*, 18, 2, 124-127.
- LARAOUI H. 2016. Métabolites secondaires de *Fumana montana* et *Fumana thymifolia* (Cistaceae). Doc. : en sciences, Département de Chimie : Université Hadj Lakhdar, Batna-1.
- Lecheheb Norhene, Chaabna Chaima. 2017 Valorisation et pouvoir antioxydant des composés phénoliques des feuilles de blé dur (*Triticium durum*) : GTA dur et CIRTA. Mag. : Biochimie moléculaire et santé : Université des frères Mentouri Constantine.
- LOMBARKIA Redhouane. 2012. Etude « Simulation et Expérimentation du comportement mécanique des couvercles des boites d'emballage métalliques pour produits chimiques ».

-M-

- MAMADOU Biaye. 2002 Action Pharmacologique des tanins. Doc. : pharmacie : Université CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR.
- MARTA N., FRANCISCO J.M. 2017. Evaluation of an olive leaf extract as a natural source of antiglycative compounds. *Food research international*, 92, 10, 56-63.
- MEHDIOUI R., KAHOUADJI A. 2007. Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forent d'Amsittène : cas de la commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira). *Bulletin de l'institut scientifique, Rabat, section sciences de la vie*, 29, 11-20.
- MERAD R. 1991. *Scille maritime* L.Baker. Alger : MO Rambourg Schepens. (www.inchem.org)

- MOHANDI Z. 2005. Etude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Doc. : Microbiologie : Université Abou Bekr Belkaïde, Tlemcen.
- MOMO DONGMO Rosine Clemence. 2009 Evaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fonctions d'acalyphamanniance (emphorbiacés et *tristemma hirtum*, mélastomatacées). Doc. : Biochimie clinique et pharmacologie : Université de Dschang.

-N-

- NAJAT BAKLSH F., KAREGAR-BORZI H., AMIN G., ESLAMINEJAD A., HUSSEINI M., BOZORGI M., GHARDABAGHIM A. 2017. Squil Oxymel est une formulation traditionnelle de *Drimia Maritima* (L) Stearns en tant que traitement complémentaires chez les patients atteints d'asthme persistant modéré à sévère : Essai pilote randomisé en triple aveugle. *Journal of Ethnopharmacologie*, 196, 186-192.

-P-

- PARE J. 1997. Procédé assisté par micro-ondes. *Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles*, 4, 4.
- PARIS R.R., MOYSE H. 1976-1981. Matière médicale. 3 tomes. Paris : Masson.
- Pharmacopée Européenne 6ème édition (2008) version Française, Lavoisier.
- PIBIRI P. 2005. Assainissement microbiologique de l'aire et de systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Doc. : en science : faculté Environnement Naturel, Architectural et construit, EPFL, Suisse.
- PICHESKY E., NOEL J.P., DUDAREVA N. 2006. Biosynthesis of plant volatiles : nature diversity and ingenuity. *Science*, 311, 5762, 808-811.
- PINELA J., BARROS L., DUENAS M., CARVALHO A.M., SANTOS-BUELGA C., FERREIRA I.C.F.R. 2012. Antioxidant activity, ascorbic acid, phenolic compounds and sugars of wild and commercial *Tuberaria lignosa* samples : Effects of drying and oral preparation methods. *Food Chemistry*, 135, 1028–1035.
- PLATZER N. 2002. Application de la RMN a la détermination des structures. *Techniques d'analyse*, 1, 1092.

-R-

- RANDRIANARIVO Roger. 2010 Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « *Cinnamosma fragrans* ». Doc. : science de la vie : Université d'Antananarivo, Madagascar.
- REBAYA A., IGUELD-BELGHITH S., BAGHDIKIAN B., MAHIOU-LEDDET V., MABROUKI F., OLIVIER E., CHERIF J.K., TRABELSI-AYADI M. 2014. Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical science*, 5(01), 052-057.

-S-

- SALAMON Kone. 1994. Contribution à la formulation de pommades dermiques à base d'extraits de plantes a propriété antifongiques et antibactériennes. Doc. : Pharmacie : Ecole Nationale de Médecine et Pharmacie du Mali E.N.M.P.
- SANTOYO S., CAVERO S., JAINE L., IBANEZ E., SENORANS F.J., REGLERO G. 2005. Chemical composition activity of *Resmarius officinalis* L. Essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection*, 68, 790-795.
- SCHWEDT G. 1993. Méthodes d'analyse. 11^{ème} éd. Paris : Flammarion Médecine-Science.
- SIPAILIENE A., VENSKUTONIS P.R., BARANAUSKIENE R., SARKINAS A. 2006. Antimicrobial Activity of commercial samples of thyme and majoram oils. *Journal of Essential oil. Recherche*, 18, 698-703.
- SONOGO R., KONIPO A., MAIGA A., ARAMA A., DIALLO D., BOUGOUDOGO F. 2006. Formulation d'une pommade Dermique à base d'extraits de *Mitracarpus scaber* (ZUCC). *Pharm. Méd. Trad. Afr*, 10, 159-177.

-T-

- TREASE G.E., EVANS W.C. 1989. Textbook of pharmacognosy. 13^{ème} éd. London : Balliere Tindall.
- TWENTYMAN L.R., FFHOM M.B. 1984. The liliaceae. *The British Homoeopathic Journal*, 73, 125-131.
- TWIDELL E. K., WAGNER J.J., THIEX N.J. 2002. Use a Microwave oven to determine moisture content of forages. *Extension Extra*, 14, 50, 8077- 8282.

-W-

- WAN J., WILCOCK A., COVENTRY M.J. 1998. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 12, 84, 152-158.
- WANNISSORN B., TARIKASEM S., SIRIWANGACHAI T., THUBTHIMTHED S. 2005. Antibacterial properties of essentials from the medicinal plants. *Fitoterapia*, 76, 4, 233-236.

Angiospermes : sont une division de plantes vasculaires du groupe des Spermatophytes (les plantes à graines). Ces végétaux, qui portent des fleurs puis des fruits, sont couramment appelés plantes à fleurs.

Antifongique : molécule qui agit contre des infections provoquées par des champignons ou des levures et parasites.

Anti inflammatoire : est une substance agissant contre les inflammations.

Aromathérapie : est une thérapeutique qui utilise les extraits aromatiques des plantes (essences ou huiles essentielles), ce sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

Gemmothérapie : est une thérapeutique qui utilise les extraits alcooliques des tissus embryonnaires végétaux en croissance tel que jeunes pousses, bourgeons et les radicales.

Gélose nutritive (GN) :

- Milieu d'isolement non sélectif
- L'isolement est dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne.

Hectoene :

Milieu d'isolement des salmonelles, shigelles et de nombreuses Gram (-) peuvent se développer sur ce milieu.

Contient trois types de glucides : la salicine, saccharose et lactose.

L'orientation de l'identification des colonies isolées est fondée sur l'attaque de ces 3 glucides. Sur ce milieu, la production d' H_2S est suivie à partir du thiosulfate (salmonelle : H_2S^+ , shigelles : H_2S^-).

Chapman :

Milieu sélectif, permettant la croissance des germes halophiles.

On peut suivre la fermentation du mannitol, par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge phénol.

Sabourand : (milieu acide)

Milieu d'isolement des levures et moisissures responsable de mycoses.

Cas d'un prélèvement fortement contaminés, le milieu utilisé est Sabourand + chloramphénicol.

Gélose au sang cuit :

Milieu d'isolement enrichi, préconisé pour l'étude des neisseria notamment le méningocoque est aussi pour la culture de haemophilus influenza.

Gélose chromagar :

Milieu d'isolement, d'identification directe et de différenciation des bactéries sans avoir à effectuer des tests de confirmation.

Phylogénétique : branche de la génétique traitant des modifications génétiques au sein des espèces animales ou végétales.

Résumé

L'objectif de cette étude est porté sur l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle de « *la Scille Maritime* » et l'évaluation bactériologique de l'extrait de la plante. Une corrélation de variables influençant le rendement d'extraction de substances bioactives a été réalisé en utilisant l'analyse en composantes principales (ACP).

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle et le taux d'humidité de la plante sont respectivement égal à 1,26% et 71,37%. Les résultats de l'analyse bactériologique de l'huile essentielle ont révélé l'absence de germe. Par ailleurs, l'étude statistique donnée par l'ACP a montré que le séchage, la période de récolte, le solvant, et la $[C]_{\text{flav}}$ sont significatifs et sont positivement corrélés avec le rendement. Pour la partie bulbe de la plante ; la température d'extraction est corrélée positivement avec le temps d'extraction ce qui influe négativement sur le rendement d'extraction (c.-à-d. plus le temps d'extraction est long et la température élevée, un faible rendement est observé). Par contre, pour la partie verte (le feuillage) ; la température d'extraction est négativement corrélée avec le temps d'extraction (c.-à-d. plus le temps d'extraction est réduit et la température élevée, un meilleur rendement est enregistré). En conclusion, la température d'extraction joue un rôle positif sur l'extraction, ce qui suggère que le choix de la partie de la plante dépend de l'espèce utilisée notamment, de l'effet escompté.

Mots clés : *Scille maritime*, huile essentielle, hydrodistillation, activité bactériologique, approche statistique, ACP.

Abstract

The aim of this study is the "*Scille maritime*" the essential oil extraction of using industrial hydrodistillation as well as the physicochemical characteristics including its bacteriological activity. A correlation of variables influencing the extraction was carried out using principal component analysis (PCA). The experimental results showed that this extraction gives respectively the yield and the moisture equal to 1.26% and 71.37%. In addition, bacteriological analysis of the essential oil revealed the absence of germs i.e. that the sample is sterile. Moreover, the statistical study through ACP showed that the variables Viz. the drying, the harvest period, the solvent, and the $[C]_{\text{flav}}$ are significant and positively correlated with the yield. For the bulb-part, the extraction temperature is positively correlated with the extraction time that negatively influences the extraction yield (i.e. more the extraction time with higher temperature a low yield is observed). On the other hand, the green part (leaves), the extraction temperature is negatively correlated with the extraction time (i.e. less the extraction time with high temperature, a good yield is recorded). In conclusion, the extraction temperature plays a positive vital role on the extraction which means that the choice of the plant-part depends on the species used especially on the expected effect.

Keywords : *Scille maritime*, essential oil, hydrodistillation, bacteriological activity, statistical approach PCA.