



Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

« Biotechnologie et Valorisation des plantes »

THÈME

Mesure de l'activité antibactérienne, antifongique et
étude de quelques paramètres physicochimiques de
l'hydrolat de Coriandre

Soutenu le : 26/06/2023

Présenté Par : Amrouci Mouhamed Yakoub et Mebarek Azzem Souhaib

Devant le jury composé de :

Dr Mokrani Karima	MCB	Présidente	UCBET
Dr Hacini Nesrine	MCA	Examinatrice	UCBET
Dr Azizi Nadia Nawel	MCB	Promotrice	UCBET

Année universitaire 2022 - 2023

REMERCIEMENTS

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

On remercie Mme Mokrani Karima MCB à l'université d'El Tarf de bien vouloir accepter de présider ce jury et pour son aide tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous remercions également Mme Hacini Nesrine MCA à l'université d'El Tarf de bien vouloir examiner notre travail.

Aussi, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mme AZIZI Nadia Nawel MCB à l'université d'El Tarf, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos vifs remerciements s'adressent à Mlle Djelloul Radia directrice du laboratoire de recherche Ecologie fonctionnelle et Evolutive ainsi que le duo de choc Mr et Mme Toumi pour leur présence et leur aide inestimable dans la réalisation de ce projet.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leur générosité et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leur charge académique et professionnelle.

Dédicace

Tous D'abord, je tiens à Remercier Dieu

De m'avoir donné la force et le courage de mener

À bien ce modeste travail

Je tiens à dédier cet humble travail à :

Ma Mère, mon Père, Mon frère et Mes sœurs

A mon binôme : Mebarek Azzem Souhaib

et A mes amis



Amrouci Mouhamed Yakoub

Dédicace

Tous D'abord, je tiens à Remercier Dieu

De m'avoir donné la force et le courage de mener

À bien ce modeste travail

Je tiens à dédier cet humble travail à :

Ma Mère, mon Père et Mon frère

A mon binôme : Amrouci Yakoub

et A mes amis



Mébarek Azzem Souhaib

Résumé

Notre travail s'est basé sur l'étude de l'activité Antimicrobienne {Antibactérienne et antifongique} des huiles essentielles de coriandre.

La coriandre est une plante méditerranéenne largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés biologiques attribuées essentiellement à sa richesse en huiles essentielles. Dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques et médicinales, l'effet de la provenance sur le rendement, la composition chimique et l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Coriandrum sativum* L. ont été étudiés. Les huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation des graines de coriandre. L'étude de l'hydrolat des graines de coriandre a montré une ph acide un indice de réfraction de 1,33. De même, l'évaluation de l'activité antibactérienne des différents huiles essentielles a montré leur efficacité envers cinq souches testées parmi lesquelles des Gram (+) et Gram (-)

Les Mots Clés : Coriandre ; Hydrolat ; plante Aromatique et Médicinale ; Activité Antibactérienne ; Hydrodistillation

ملخص

للزيوت الأساسية { Antibactérien et antifongique } يركز عملنا على دراسة نشاط مضادات الميكروبات للكمزبرة. الكمزبرة نبات متوسطي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لخصائصه البيولوجية التي تُعزى بشكل أساسي إلى غناه بالزيوت الأساسية. كجزء من تطوير النباتات العطرية والطبية ، تمت دراسة تأثير *Coriandrum sativum* L. المصدر على المحصول والتركيب الكيميائي والنشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية من. تم تحليل الزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها عن طريق التقطير المائي لبذور الكمزبرة *Coriandrum sativum* L. أظهرت دراسة الزيت العطري لبذور الكمزبرة تركيبة غنية باللينالول بنسبة % للزيوت. وبالمثل ، أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية المختلفة فعاليتها ضد خمس سلالات تم اختبارها ، بما في ذلك الجرام (+) والجرام (-).

كسبرة؛ زيت أساسي ؛ نباتات عطرية وطبية. نشاط مضاد للجراثيم؛ التقطير الكالماتي المفتاحي

Abstract

Our work focuses on the study of the Antimicrobial {Antibacterial and antifungal} activity of coriander essential oils. Coriander is a Mediterranean plant widely used in traditional medicine for its biological properties attributed mainly to its richness in essential oils. The valorization of aromatic and medicinal plants, the effect of provenance on the yield, the chemical composition and the antibacterial activity of the essential oils of *Coriandrum sativum* L. have been studied. The essential oils, obtained by hydro distillation of coriander seeds. The study of the essential oil of coriander seeds showed a . Similarly, the evaluation of the antibacterial activity of the different essential oils showed their effectiveness against five strains tested, including Gram (+) and Gram (-) .

Key Words: Coriander; Essential oil; aromatic and medicinal plant; Antibacterial activity; Hydro distillation

Liste des figures
Liste des tableaux

Sommaire

Introduction.....	14
Partie Bibliographique	
Chapitre I : généralités	
I.1- Définition de coriandre.....	15
I.2- Historique de coriandre.....	15
I.3- Répartition géographique de coriandre.....	17
I.4- Utilisation de coriandre.....	17
Chapitre II : Huile Essentielle	
II.1- Définition des HE.....	18
II.2- Historique.....	18
II.3- Caractéristique Physique.....	19
II.4- Les Méthodes d'extraction.....	19
II.4.1- Distillation.....	
II.4.2- Hydrodistillation.....	
II.5- effet antimicrobien des HE.....	20
II.5.1- Activité Antibactérienne.....	
II.5.2- Activité Antifongique.....	
II.6- Les Intérêts Des HE.....	21
II.6.1- En agriculture.....	
II.6.2- En industrie agroalimentaire.....	
Chapitre III : Activité Antimicrobienne	
III.1- Définition.....	22

III.2- Bactérie.....	22
III.2.1- Définition.....	
III.2.2- Activité Antibactérienne des HE.....	
III.3- Champignon.....	23
III.3.1- Définition.....	
III.3.2- Activité Antifongique des HE.....	
Partie Expérimentale	
Chapitre I : Matériel et Méthode	
I.1-Matériel Végétale et HE.....	26
I.2-Extraction par Hydro distillation	26
I.3- Caractéristique Organoleptique.....	27
I.4- Caractéristique Physico-chimique.....	28
I.4.1- Détermination de PH.....	
I.4.2- Indice de Réfraction.....	
I.4.3-la Spectrophotométrie.....	
I.4.4- La colorimétrie de l'extrait.....	
I.5- Activité Antioxydant.....	31
I.6 - Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	31
I.6.1- Choix des souches.....	31
I.6.2-Technique de l'aromatogramme en milieu Solide.....	.
Chapitre II : Résultats et Discussion	
II.1- Propriété Organoleptique.....	
II.2- Caractéristique Physique.....	36
II.2.1- Rendement.....	
II.2.2- pH.....	
II.2.3- Indice de Réfraction.....	
II.2.4- Résultat de la spectrophotométrie.....	
II.2.5- Résultat de la colorimétrie.....	

II.3-Résultat de l'activité antioxydant.....	38
II.5- Résultat de l'activité Antimicrobienne..... II.5.1- Evaluation qualitative de l'activité antimicrobienne..... II.5.2- Sensibilité des souches microbienne.....	40
Conclusion.....	44
Références bibliographiques.....	46

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Morphologie de Coriandre	
Figure 2	Les huiles essentielles de coriandre	
Figure 3	Schéma de l'Hydrodistillation	
Figure 4	Schéma de l'extraction par solvant	
Figure 5	Structure Schématique d'une Bactérie	
Figure 6	Graine de Coriandre	
Figure 7	HE des graines de coriandre	
Figure 8	Extraction des HE par l'Hydrodistillation	
Figure 9	pH Mètre	
Figure 10	Refractomètre	
Figure 11	Spectrophotomètre	
Figure 12	Colorimètre	
Figure 13	Les Dilutions de L'activité	
Figure 14	Ensemencement par écouvillon	
Figure 15	Méthode d'application des Papiers Buvard	
Figure 16	Etuve d'incubation	
Figure 17	Résultat de l'extrait par la spectrophotomètre	
Figure 18	Courbe de l'activité Antioxydant	

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Souches microbiennes	
Tableau 2	Propriété organoleptique des graines de coriandre	
Tableau 3	Les caractéristiques physiques des HE des graines de coriandre	
Tableau 4	Teneur des constituants des HE de <i>Coriandrum sativum</i> L	
Tableau 5	Activité antimicrobienne des HE des graines de coriandre exprimée par diamètre d'inhibition	
Tableau 6	Résultats de l'aromatogramme antifongique	
Tableau 7	Sensibilité des souches bactériennes	
Tableau 8	Sensibilité des souches fongiques	

Liste des Abréviations

HE : Huile Essentielle

PAM : plante Aromatique et Médicinale

CS : Coriandre Sativum

Anti-B : Antibactérienne

Anti-F : Antifongique

MPV : Matière Première Végétale

HD : Hydro-Distillation

PA : Produit Aromatique

Rdt : Rendement

E. coli : Escherichia coli

Mic Lut : Micrococcus Luteus

DR : Densité Relative

IR : Indice de Réfraction

PH : Potentiel d'Hydrogène

G+ : Gram positive

G- : Gram négative

FS : Fusarium Solani

Abs : Absorbance

Introduction

L'utilisation des Plantes Aromatiques et Médicinales (PAM) dans différents domaines (pharmaceutique, parfumerie, cosmétique et agroalimentaire) est due principalement à leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes.

Ainsi, ces plantes renferment un nombre très élevé de composés chimiques (huile essentielle, flavonoïdes, quinone, vitamine, saponines, caroténoïdes, terpènes, polyphénols, alcaloïdes, etc.) Qui possèdent des propriétés physico-chimiques très variées et ont des activités biologiques différentes (antimicrobienne, antioxydante, antivirale, ...). Ces propriétés, sont dues souvent aux huiles essentielles (HE).

L'usage des HE en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui est irremplaçable.

L'huile essentielle de coriandre est un trésor méconnu de la nature, regorgeant de bienfaits pour notre santé et notre bien-être. Extraite des graines de la plante de coriandre, cette huile essentielle possède une longue histoire d'utilisation dans différentes cultures à travers le monde, que ce soit en médecine traditionnelle ou en cuisine. Grâce à ses nombreuses propriétés thérapeutiques, l'huile essentielle de coriandre offre une multitude d'avantages pour le corps, l'esprit et même pour notre environnement.

Notre travail a pour but de mettre en évidence l'activité antibactérienne et antifongique ainsi que l'activité anti-oxydante de l'huile essentielle de coriandre.



CHAPITRE 1 :
Partie Bibliographique

Chapitre I. Généralités

I.1-Définition de la coriandre : le nom coriandre vient du mot grec ‘‘ Koris ’’ qui au moyen âge signifié « punition » en raison de l’odeur acre de ses feuilles (**Avry et Galloiu**). Il est à noter que la coriandre fraîche est également connue sous le nom de coriandre (un terme espagnol d’origine). Persil chinois (figure1).

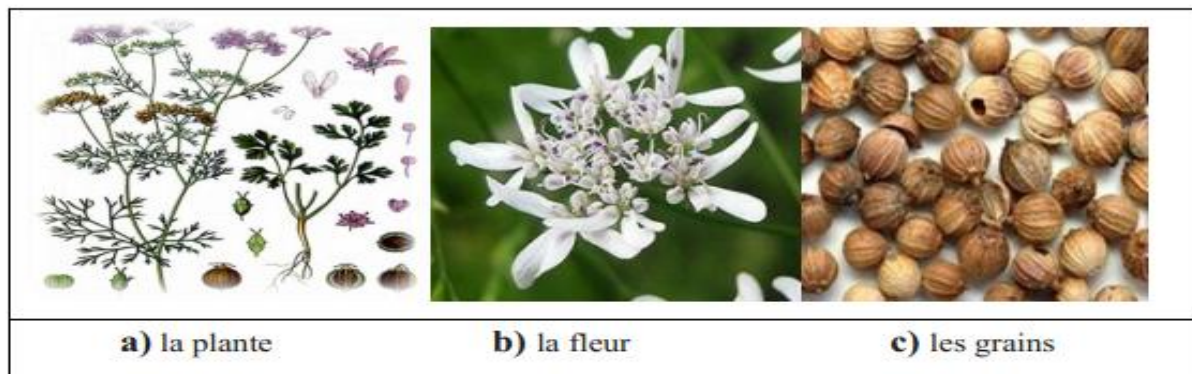


Figure 1 : Morphologie de la coriandre.

La coriandre a pour nom scientifique *Coriandrum sativum* L. et a plusieurs synonymes punaise male, mari de la punaise, persil arabe, persil chinois, coriandre (**Baba Aïssa ,1999**), elle a également pour nom vernaculaire : kesbour, Qesbar ou kesber, h’chich, m’qetfa, Bahurej-jenun.

C’est une petite plante herbacée annuelle atteignant 60 cm de hauteur, à rameaux élancés portant des feuilles brillantes et lustrées divisées en divisions ovales, cunéiformes, dentées pour les feuilles inférieures et bi- ou tri pennatiséquées pour les feuilles supérieures (**Wichtl et Anton, 2003 ; Bruneton, 2009**).

I.2- Historique de Coriandre :

La coriandre semble avoir été cultivée dans la Grèce antique au moins depuis le IIe millénaire av. J.-C. Des tablettes en linéaire B provenant de la civilisation mycénienne mentionnent la coriandre, en quantité importante, comme offrande rituelle ou comme matière première pour la confection d’onguents et de produits aromatiques à l’usage des temples-palais (**Dodinet et al., 2001**).

Une des tablettes retrouvées à Pylos fait référence à la coriandre comme étant cultivée pour la fabrication de parfums, et elle aurait été utilisée sous deux formes : comme épice pour ses graines, et pour la saveur de ses feuilles (**John Chadwick, 1976**).

Une grande quantité de coriandre a été retrouvée dans une couche de l'Age du bronze ancien à sitagroi en Macedonia, renforce l'hypothèse de la culture de la plante à cette période (**Fragiska, 2005**).

I.3- Répartition géographique :

La coriandre est une plante originaire de la méditerranée et cultivée depuis longtemps en Europe, en Asie, dans certains pays d'Afrique et en Amérique (**Boskabady et al., 2001**). Les principaux exportateurs de la coriandre sont la Turquie, la Tunisie et le Maroc (**Wichtel et al., 1999**).

I.4- Utilisation de la coriandre :

La coriandre est utilisée comme stomachique, spasmolytique et carminatif en raison de son huile essentielle, qui exerce de plus une action bactéricide et fongicide, est utilisée dans le traitement des gastrites sub-acides, des diarrhées et des dyspepsies d'origine divers. L'ajout de coriandre aux préparations médicamenteuses à base d'antraquinone semble éviter les coliques qui accompagnent parfois l'utilisation de ces puissants laxatifs. En outre, dans les essais menés chez l'animal, la coriandre a démontré exercer des effets hypoglycémiant ainsi qu'une action stimulante sur la sécrétion d'insuline, des effets connus depuis bien longtemps dans le cadre de la médecine populaire. Elle est en outre utilisée comme vermifuge et comme ingrédient de liniments contre les rhumatismes et les arthralgies (**Wichtl, 2006**).

1.5. Les huiles essentielles

1.5.1- Définition :

Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16^{ième} siècle par le médecin suisse ***Parascelsus Von Hohenheim*** pour désigner le composé actif d'un remède naturel (**Burt, 2004**). De très nombreux auteurs ont tenté de donner une définition des huiles essentielles. D'après ***William Naves*** [1874-1936], aucune des définitions des huiles essentielles n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision.

Cet auteur définit les huiles essentielles comme {des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passent avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courants de vapeur d'eau} (**Garnéro, 1996**) (Figure2).



Figure 2 : huile essentielle de coriandre

1.5.2- Historique :

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (**Baser et Buchbauer**). Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles.

Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation, etc.

1.5.3- caractéristique physique :

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (**Degryse *et al.*, 2008**). Elles sont très inflammables, liquides à température ambiante et très odorantes.

- Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent ;
- Elles ne sont que très rarement colorées ;
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les huiles essentielles.

1.5.4- Méthodes d'extraction :

Parmi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles, nous distinguons les méthodes conventionnelles et celles non conventionnelles.

Méthodes conventionnelles : parmi les méthodes d'extraction conventionnelles des huiles essentielles, nous citons : l'hydrodistillation, l'extraction par solvant organique ...etc.

- ❖ **l'Hydrodistillation** : est une autre technique conventionnelle (figure3) qui n'utilise pas de solvants organiques et utilise de l'eau ou de la vapeur pour l'extraction des flavonoïdes et d'autres composés bioactifs (**Silva *et al.*, 2005**)

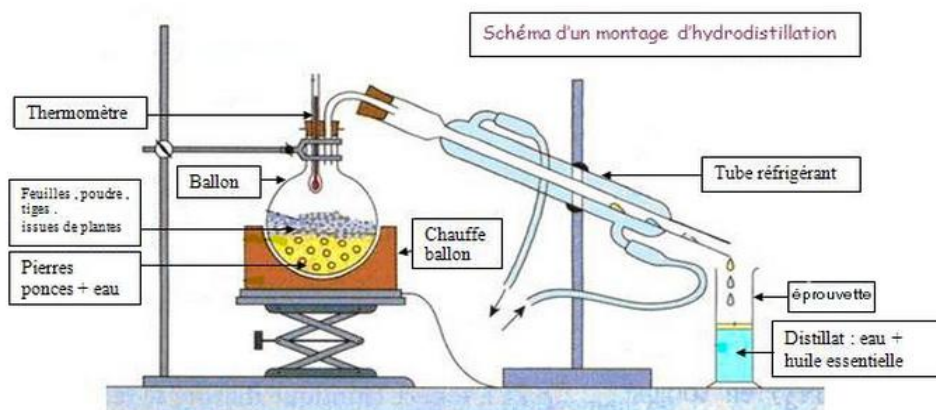


Figure 3 : Schéma de l'hydro distillation.

- ❖ **Extraction aux solvants volatiles** : Ce procédé consiste à insérer la matière première aromatique naturelle dans une cuve avec un solvant. Les matières fragiles sont placées en couche sur des grilles tandis que les autres plantes sont tassées à l'intérieur de l'extracteur (figure4).

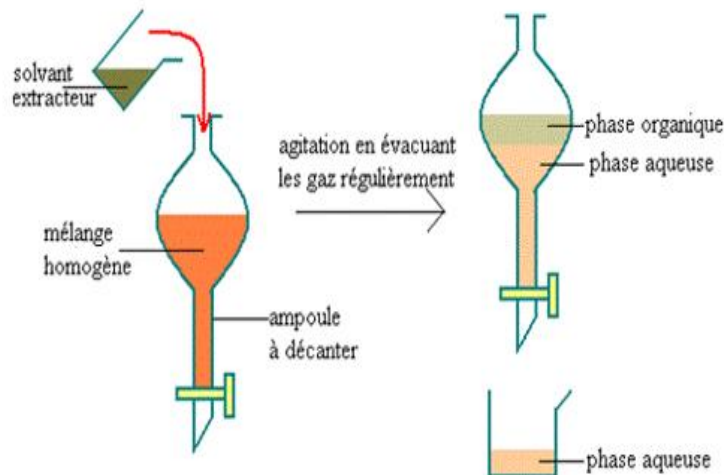


Figure 4 : Schéma d'extraction par solvants.

1.5.5- Effet antimicrobien des huiles essentielles :

Le contenu des plantes en essence et la nature chimique des constituants leurs confèrent de grandes perspectives d'application, ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médicale et pharmaceutique.

En effet, les huiles essentielles ont un champ d'activité très large, elles inhibent la croissance des bactéries, et des levures (**Duarte et al., 2005**) et également des moisissures (**koba et al., 2004**), de plus elles sont très efficaces sur les microorganismes résistants aux antibiotiques.

A- Activité antibactérienne : Les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leurs propriétés antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large gamme de microorganisme, ces propriétés sont utiles pour les infections chez les humains (**Remmal, 1993 ; Chami, 2005 ; Caillet et al., 2009**).

B- Activité antifongique : Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes médicinales a été mis en évidence par de nombreux chercheurs contre les champignons pathogènes et opportunistes (**De Bellerbeck, 2002**).

1.5.6- Intérêts des HE :

En raison de leurs diverses propriétés, les HE sont devenus une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance.

En effet, elles présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leur pouvoir antiseptique (cité en dessus), antispasmodique, apéritif...etc., en alimentaire, pour leur activité anti-oxydante et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétologie par leur propriétés odorante.

En agriculture : Les pesticides naturels basés, notamment, sur les huiles essentielles représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (**Isman, 2000 ; Dayan et al., 2009**).

En industrie alimentaire : Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées dans la conservation des denrées alimentaires et cela grâce à leur activité antimicrobienne à large spectre sans pour autant en dénaturer le goût car ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires (**Kurita et Koike, 1982**).

1.6. Activité antibactérienne et antifongique des HE

1.6.1- Définition :

Un antimicrobien représente une molécule ou un produit en général capable d'éliminer ou d'inhiber la croissance des microbes (micro-organismes). Lorsque l'antimicrobien tue les microbes, on utilise le suffixe « cide » comme pour 'bactéricide' dans le cas des bactéries ; et lorsqu'il ne fait qu'inhiber leur croissance, on utilise le suffixe « statique » comme pour 'bactériostatique'.

Il existe quatre catégories principales de micro-organismes : le virus, la bactérie, le champignon microscopique (micromycètes) et le parasite unicellulaire. La plupart de ceux-ci font partie intégrante des écosystèmes. Leur présence est parfois indispensable au renouvellement ou à l'entretien de l'environnement. En revanche, l'Homme est en lutte permanente contre de nombreux microbes pathogènes, susceptibles de provoquer des maladies, voire des épidémies au sein des populations.

1.6.2- Bactéries

Définition : Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classées parmi les procaryotes. Elles ont un diamètre généralement inférieur à $1\mu\text{m}$, on peut les voir au microscope optique à l'état frais ou après coloration ; mais le détail de leur structure n'est visible qu'en microscopie électronique (Figure5). Certaines sont pathogènes pour l'homme, d'autres interviennent dans divers cycles biologiques (par exemple le cycle de l'azote).

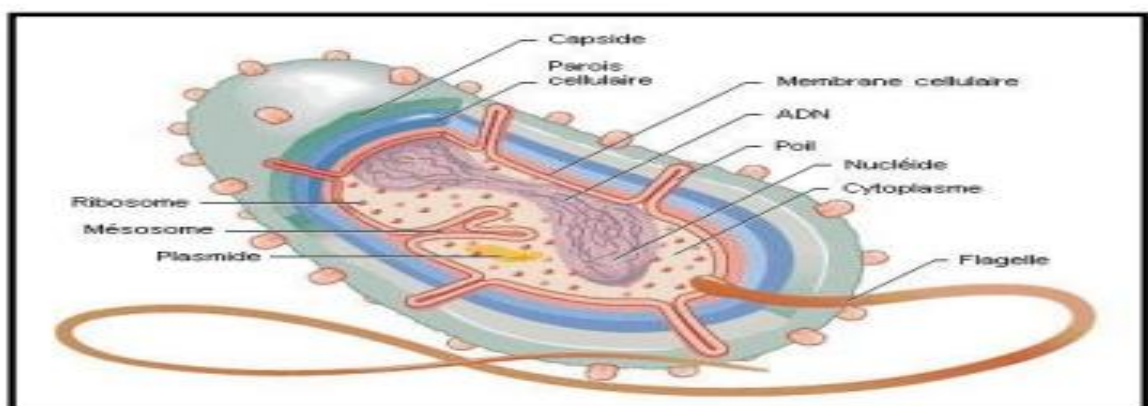


Figure 5 : Structure Schématique d'une Bactérie.

1.6.3- Activité Antibactérienne des huiles essentielles :

La structure chimique des constituants des huiles essentielles conditionne leur mode précis d'action antibactérienne. Compte tenu du nombre de différents groupes de composés chimiques présents dans les huiles essentielles, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuée à un mécanisme spécifique mais qu'il y ait plusieurs cibles dans la cellule. En effet, les principaux mécanismes et sites d'action des différents constituants des HE sont :

- L'altération de la paroi cellulaire ;
- La dégradation de la membrane cytoplasmique ;
- L'altération des protéines membranaire ;
- La fuite du contenu cellulaire ;
- La coagulation du cytoplasme ;
- L'épuisement de la force de mouvement des protons.

1.6.4- Les Champignons

1.6.4.1- Définition : Les mycètes (champignons), véritables eucaryotes, constituent un règne (fungi) distinct de celui des plantes et du règne animal. Ils assurent leur nutrition uniquement par absorption à partir du mycélium (réseau de filaments). Les mycètes vivent en commensaux (à l'exemple du *Candida albicans*) chez l'homme sans occasionner de lésions ; parfois en parasites d'où le terme « mycoses » pour les lésions qu'ils occasionnent. Selon l'état immunitaire du patient, ils peuvent passer du commensalisme au parasitisme. On distingue trois types : les champignons filamenteux, les levuriformes et les dimorphiques.

1.6.4.2- l'Activité Antifongique des huiles essentielles : Les antifongiques agissent à différents niveaux :

- ✚ Sur la membrane ;
- ✚ Sur la paroi ;
- ✚ Sur la synthèse des acides nucléiques ;
- ✚ Sur la synthèse des stérols.

Certaines huiles essentielles altèrent la perméabilité cellulaire en s'incorporant entre les chaînes grasses acyles constitutives des bicouches lipidiques membranaires et en inhibant la synthèse d'ergostérol, perturbant ainsi la fluidité de la membrane plasmique et conduisant à des altérations et des déformations empêchant l'adhésion des champignons aux muqueuses réduisant ainsi leur virulence et leur contagiosité. Ici, les groupes moléculaires cités en priorité pour leur action antibactérienne se révèlent également actifs sur les fongis. Néanmoins, le traitement sera ici de plus longue durée. Doivent être cités également les alcools et les lactones sesquiterpéniques, dont l'activité antifongique a été révélée lors d'études fondamentales. Par exemple, les huiles essentielles de Cannelle, du Clou de girofle ou de Niaouli sont des antifongiques.

Chapitre 2 :

Matériels et Méthodes

Chapitre2 : Matériels et méthodes

2.1- Matériel Végétal :

Notre travail s'est déroulé au laboratoire de recherche d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive de l'Université Chadli Ben Djedid. La matière végétale utilisée pour l'extraction des huiles essentielles est : les graines de Coriandre provenant d'une épicerie de la ville d'El tarf.

2.1.1. Classification botanique

La coriandre se classe selon Cronquist, 1981 comme suit :

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Apiales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>
Genre	<i>Coriandrum</i>
Espèce	<i>Coriandrum sativum</i>

2.2. Méthodologie de travail :

La première étape consiste à extraire les HE de coriandre par hydro distillation, ensuite plusieurs paramètres sont mesurés dont : le calcul du rendement, les caractéristiques organoleptiques, mesure de l'activité antibactérienne, antifongique et Anti-oxydante des HE de graines de Coriandre.

2.2.1 Extraction des HE de graines de coriandre

On pèse 300g de graines de coriandre ; cette quantité sera divisée en deux (150g) puis placée simultanément dans deux ballons en verre pyrex, additionnés de 300 ml d'eau distillée. Ensuite, l'ensemble est porté à ébullition, pour une durée de 02h30. Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule à décanter. Le mélange est laissé au repos quelques minutes, ce qui nous donne deux phases, une organique (huile essentielle) et l'autre aqueuse (distillat).

En fin, on récupère à l'aide d'une seringue l'huile essentielle dans un tube à eppendorf qui sera recouvert avec un papier d'Aluminium et conservé à la température de 4°C (photo1).

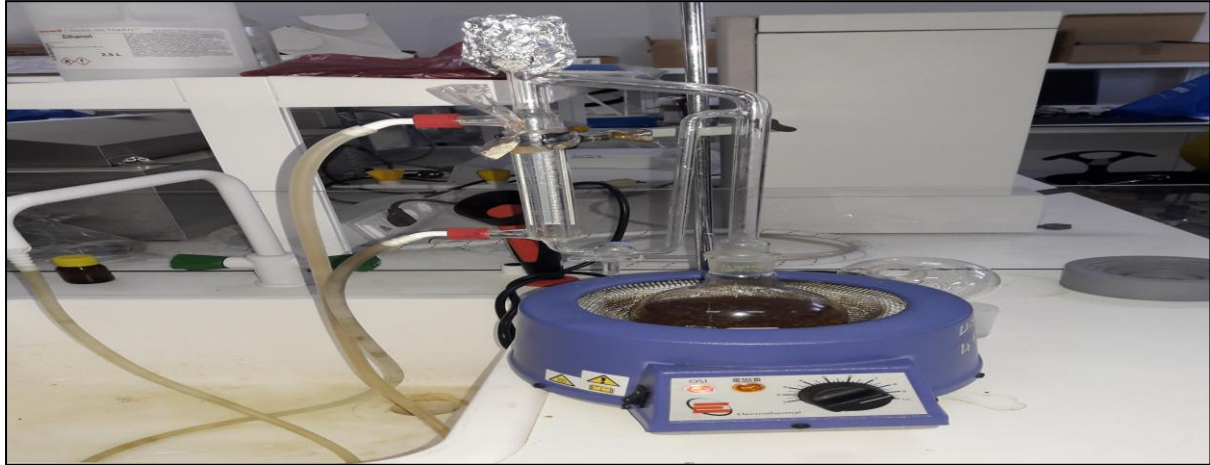


Photo1 : Dispositif expérimental (Hydrodistillation).

2.2.2. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle (R) est le rapport entre le poids de l'huile extraite (P') et le poids de la plante traitée (P)(Baïod, 2016). Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R = (P_h / P_{mv}) \times 100$$

R : Rendement de l'HE en (%) ;

P_h : Poids de l'huile essentielle en gramme ;

P_{mv} : Poids de la matière végétale en gramme.

2.3- Caractéristiques Organoleptiques : les huiles essentielles sont caractérisées par des propriétés organoleptiques Telle que l'odeur, l'aspect et la couleur.

A. L'odeur : l'odorat est un sens chimique très sensible à l'habileté des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parviennent à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'au dix millièmes de grammes par litre d'air

B. 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.

C. L'aspect : L'aspect d'un extrait dépend des produits qui la constituent, qui peuvent nous apparaître sous forme solide, liquide ou Bien solide-liquide.

I.4- Caractéristique Physico-chimique :

Quelques paramètres physicochimiques sont mesurés : le pH, l'indice de réfraction, la colorimétrie,

I.4.1- Détermination de pH : le PH est l'abréviation de Potentiel d'Hydrogène qui mesure l'activité chimique des ions d'hydrogène (H^+) en Solution. Plus couramment, le PH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution d'une solution. Il S'agit d'un coefficient permettant de Savoir si une solution est acide, basique ou neutre : elle est acide si son PH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7 et basique s'il est Supérieur à 7 (Hamadou et Touki ,2017).

Mode opératoire : La mesure du pH consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans l'échantillon après réglage de la température d'étalonnage. La lecture se fait directement sur le pH-mètre (Benamara, 2017).



Figure 9 : pH-mètre

I.4.2- Indice de Réfraction : l'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un

rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante (**Dridi, 2005**).

L'indice de Réfraction n'a pas d'unité car c'est le rapport de deux vitesses. Plus la lumière ralentie, plus la matière à un indice de réfraction élevé.

Mode Opérateur : La mesure de l'indice de réfraction de nos HES a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre.

- Mettre une goutte de l'huile essentielle dans le réfractomètre
- Cliquer sur load
- Obtenir le résultat de l'indice de réfraction



Figure 10 : Réfractomètre

I.5.2- La Spectrophotométrie : Dans une étude spectrophotométrique UV-Visible, il est d'usage de tracer le graphe de l'absorbance A en fonction de la longueur d'onde λ . On remarque le spectre est constitué de bandes larges, et non de pics. De nombreuses transitions énergétiquement proches sont donc réalisées.



Figure 11 : Spectrophotomètre

I.5.3- La Colorimétrie

Principe : Pour mesurer la couleur, un dispositif de colorimétrie éclaire un échantillon, capture la quantité de lumière transmise ou réfléctée dans la plage de longueurs d'onde de 430 à 710 nm et la quantifie en mesure spectrale.

Mode Opérateur :

- Nous mettons l'extrait dans un quartz et l'eau distillée dans un quartz
- Nous mettons l'eau distillée dans la colorimètre pour régler les paramètres de la longueur d'onde en 0.00
- Après nous mettons l'extrait dans chaque longueur d'onde
- Obtenir les résultats de l'extrait



Figure 12 : Colorimètre

I.5- Activité Antioxydant : le test DPPH mesure l'activité antioxydant des composés capables de transférer des atomes d'hydrogène.

Protocole :

a) Préparation de la Solution Méthanoïque :

- + Mettre la poudre aromatique dans le Méthanol
- + Après on à la macération (laisser la solution méthanolique 24h)

b) Préparation des dilutions :

- + Concentration (1/1) → solution (1ml Echantillon + 1ml Méthanol)
- + Concentration (1/2) → solution (1ml Echantillon + 2ml Méthanol)
- + Concentration (1/4) → solution (0.5ml Echantillon + 2ml Méthanol)
- + Concentration (1/8) → solution (0.25ml Echantillon + 2ml Méthanol)
- + Concentration (1/16) → solution (0.125ml + 2ml Méthanol)

I.6- Evaluation de l'Activité Antimicrobienne :

I.6.1- Choix des souches : Notre choix s'est porté sur des souches bactériennes et fongiques fréquemment isolées en milieu hospitalier, souvent incriminés dans des infections chez l'homme. Ainsi l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle testée sur des souches bactériennes et fongique collectées en milieu hospitalier a été effectuée au niveau du laboratoire central de microbiologie, EPSP d'AYOUSS

Bactérie : Escherichia coli et Staphylococcus aureus

Champignon : Condidia Albicans

I.6.2- Technique de l'aromatogramme en milieu solide

Deux méthodes différentes ont été utilisées pour la détermination de l'activité antimicrobienne, in vitro : une méthode de diffusion en disque dans un milieu gélosé et les méthodes de dilution

1- préparation des dilutions par l'huile essentielle de coriandre

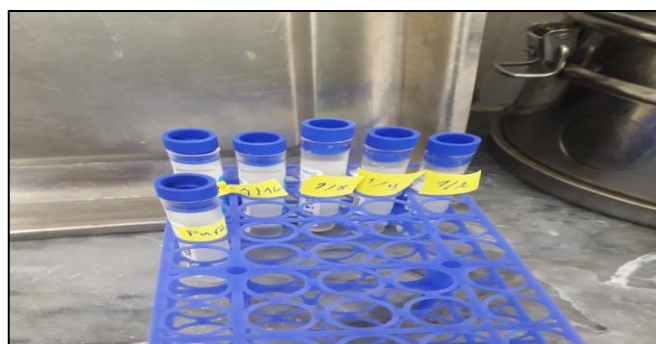


Figure 13 : les Dilutions de l'activité

2- méthode de diffusion en disque en milieu solide

- ❖ **Milieu :** Gélose Mueller Hinton, colée en boîte de pétri sur une épaisseur de 4mm.les gélose sont séchées avant l'emploi. A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine les colonies choisies.
- ❖ **Méthode :** On prépare les disques avec des papiers buvard destinée à les mettre en évidence une l'extrait du l'huile essentielle de coriandre entant que antimicrobienne vis-à-vis de la souche microbienne isolée
- ❖ **L'ensemencement :** Un écouvillon stérile est trempé et assuré sur les parois internes du tube de la suspension bactérienne. On ensemence selon des stries très serrés à la surface de la gélose.la même action est répétée deux fois en pivotant la boîte de pétri d'un angle de 60°C

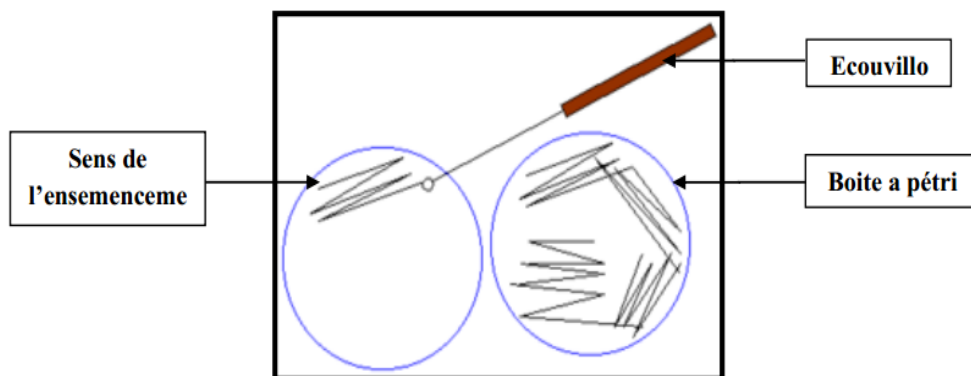


Figure 14 : Ensemencement par écouvillon

Distribution du Disque : Un disque de papier buvard de 6 mm de diamètre imprégné d'une faible quantité d'huile essentielle, est déposé sur une gélose inoculée. La diffusion de l'extrait entraîne de la formation d'une zone d'inhibition d'autant plus souche est sensible

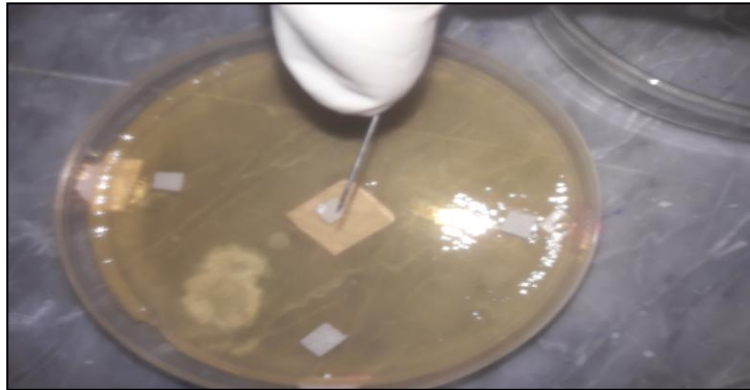


Figure 15 : méthode d'application des papiers buvard

❖ **Incubation :** A l'étuve 37°C Pendant 24h



Figure 16 : étuve d'incubation

❖ **Lecture :** Après 24 h d'incubation, les boîtes sont retirées et la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre, en millimètre, de la zone d'inhibition éventuelle autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur des boîtes.

CHAPITRE II

RÉSULTAT ET DISCUSSION



II.1- Propriété Organoleptique

Les propriétés de hydrolat de coriandre a porté sur 3 volets dans ce tableau 2 :

Aspect	Couleur	Odeur
Hydrolat	Transparent	Caractéristique et semblables à celles de graine de coriandre

Tableau 2 : Propriété Organoleptique des HE des graines de coriandre

II.2- Caractéristique physique

Les caractéristiques physiques sont regroupées dans le tableau 2 :

Rendement {%	PH	Indice de Réfraction
1.231	6	1.3325

Tableau 3 : les caractéristiques physiques des HE des graines de coriandre

1-Rendement : mesurer le rendement des huiles essentielles de coriandre par la relation suivante :

$$\mathbf{Rdt (\%)} = (m_{HE}/m_v) * 100$$

$$M(he) = 1g \quad \text{Et} \quad M(v) = 70g$$

$$\mathbf{Rdt (\%)} = (1/70) * 100$$

$$\mathbf{Rdt} = 1.231$$

2-pH : Le pH ou {ce qu'on appelle potentiel d'Hydrogène} mesure l'activité des ions H^+ en solution. Le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Cette méthode décrit l'acidité ionique du produit à analyser.

L'huile essentielle des graines de coriandre est égale 6 (PH acide < 7). Notre résultat est concordance avec les résultats rapportée par **Ouis, 2015**. Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et biochimique et peut influencer les propriétés stabilisatrices de l'huile essentielle.

3-Indice de réfraction :

L'indice de réfraction est un paramètre d'identification qualitative et une manière de vérifier le degré de pureté des huiles essentielles (**Hellal, 2011**). Chaque substance à son indice de réfraction spécifique. Plus l'indice de réfraction d'un produit est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande.

Mesurer l'indice de réfraction par la Réfractomètre.

4- Résultat de la Spectrophotomètre

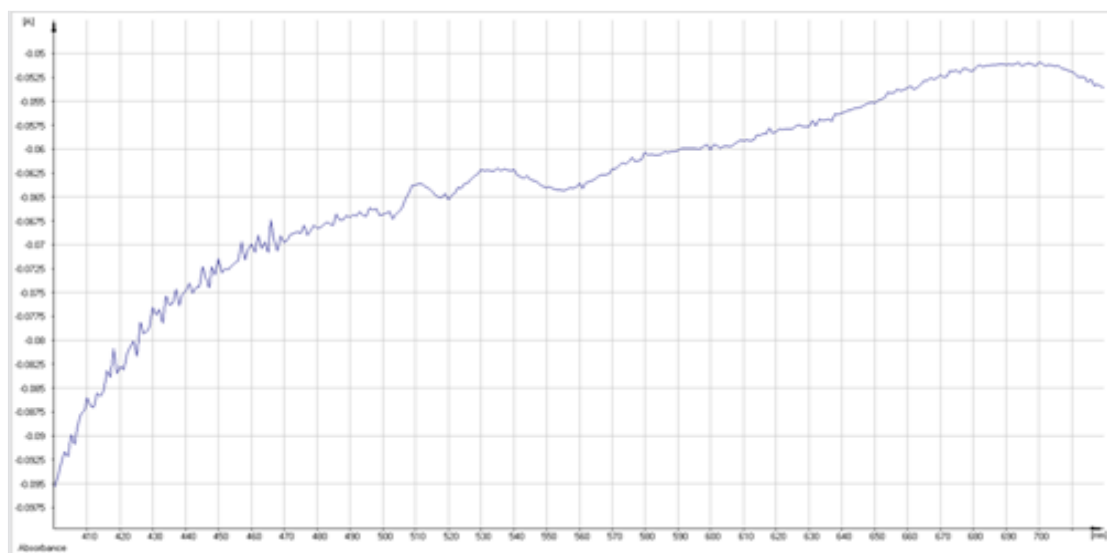


Figure 17 : Résultat de l'extrait par la Spectrophotomètre

5- Résultat du colorimètre : un colorimètre simplifié la quantification des couleurs de l'extrait (coriandre) a partir de la longueur d'onde en visible

Mettre les résultats de l'extrait dans ce tableau

Longueur d'onde	Extrait
430	0.27
480	0.26
520	0.03
540	0.04
600	0.02
710	0.01

Tableau 4 : Résultat de l'extrait par la colorimètre

II.3- Résultat de l'activité antioxydant

Concentration	Absorbance	Ratio D'inhibition %
1/1	3.002	1.702
1/2	3.001	1.735
1/4	2.904	4.911
1/8	2.758	9.692
1/16	2.649	13.261

Calcule de ratio d'inhibition par la formule suivante :

$$R .Inh = (A1-A2)*100/A1$$

A1 : blanc positif / A1 = 3.054 {l'absorbance de blanc positif}

A2 : les absorbances des dilutions

$$C1 = 1.702 \%$$

$$C2 = 1.735 \%$$

$$C3 = 4.911 \%$$

$$C4 = 9.692 \%$$

$$C5 = 13.261 \%$$

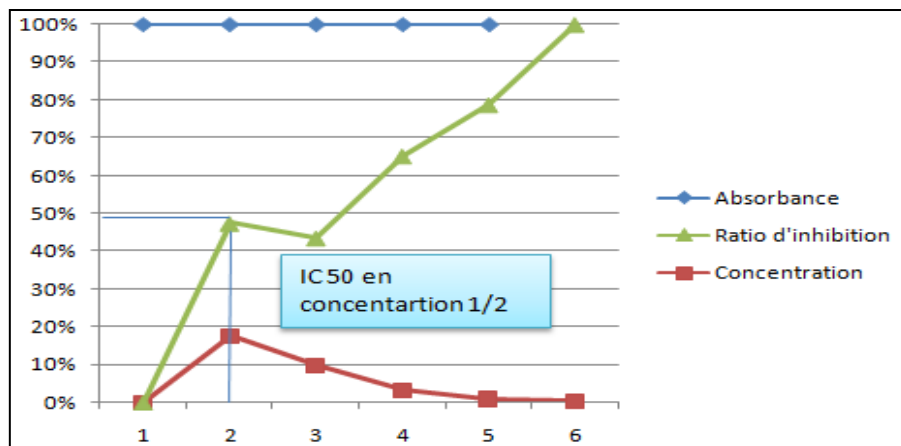


Figure 18 : Courbe de l'activité antioxydant

II.4- Résultat de l'Activité Antimicrobienne

II.4.1- Evaluation qualitative de l'activité antimicrobienne des HE de coriandre

Les résultats de l'aromatogramme se sont manifestés sous forme d'halos d'inhibition dont les diamètres ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse, les moyennes des deux diamètres sont présentées dans les tableaux.

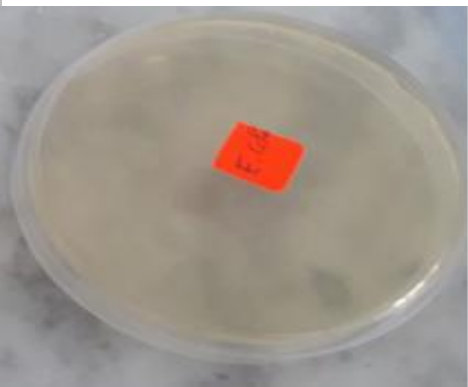
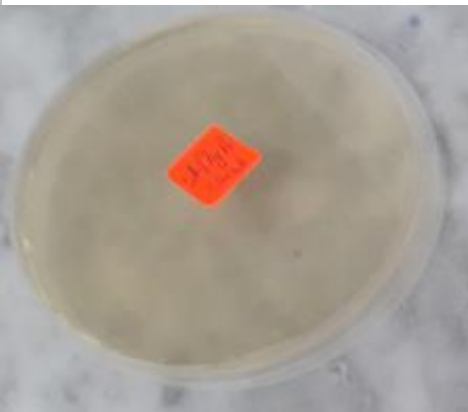
Souche Bactérienne	Diamètre d'inhibition	Image
<i>Escherichia coli</i>	12	
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	

Tableau 6 : Activité antimicrobienne des HE des graines de coriandre Exprimée par diamètre d'inhibition

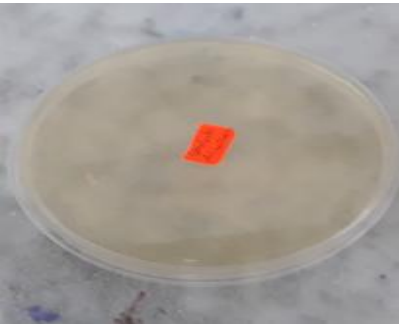
Champignon	Diamètre d'inhibition	Image
<i>Conidida Albicans</i>	9	

Tableau 7 : Résultats de l'aromatogramme antifongique

II.4.2- Sensibilité des souches microbiennes

L'activité antimicrobienne est révélée par l'absence ou la présence d'une zone d'inhibition autour du disque identique à la gélose stérile.

Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité :

Non sensible : $D < 8 \text{ mm}$;

Résistant : $D = 9$;

Sensible : $9\text{mm} < D < 14\text{mm}$;

Très sensible : $15\text{mm} < D < 19\text{mm}$;

Extrêmement sensible : $D > 20\text{mm}$;

Bactérie	Diamètre d'inhibition	Sensibilité des souches
<i>Escherichia coli</i>	12	sensible
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	Non sensible

Tableau 8 : Sensibilité des souches bactérienne

Champignon	Diamètre d'inhibition	Sensibilité des souches
<i>Candida Albicans</i>	9	Résistant

Tableau 9 : Sensibilité des souches fongiques



CONCLUSION

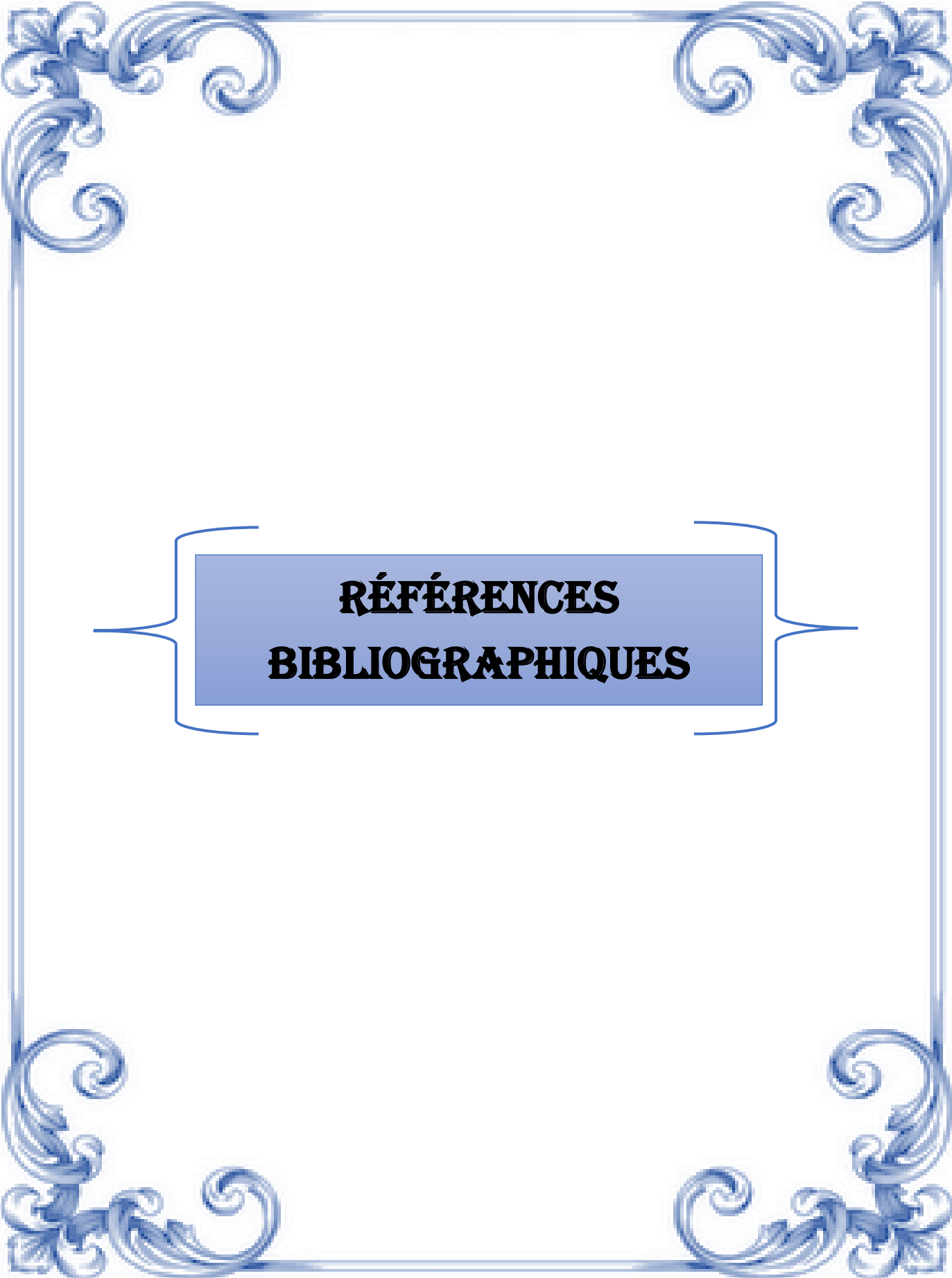
Les Huiles essentielles sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe, leur conférant des propriétés antimicrobiennes très intéressantes à mettre à profit en thérapeutique médicale face aux germes qui deviennent de plus en plus résistants aux traitements conventionnels.

L'intérêt a porté sur l'huile essentielle de *coriandrum sativum L.* issue des fruits de coriandre qui est une plante locale, dont une monographie et une étude anatomobotanique ont été élaborées.

Les huiles essentielles des graines de coriandres ont été obtenues par l'hydrodistillation avec un rendement de 0.518 %. La détermination des propriétés organoleptique {aspect ; couleur et l'odeur} et les caractéristiques physiques {pH ; Rendement ; Indice de Réfraction ; Densité Relative}.

Une GC/MS des huiles essentielles des graines de coriandre a également été afin de mettre en évidence les groupements constitutifs, elle a révélé que le linalol était le composant majoritaire.

Les résultats obtenus pour les activités antimicrobiennes par la technique de l'aromatogramme pour les souches bactériennes (E. Coli ; Staphylococcus aureus ; pseudomonas aeruginosa) et pour les souches fongique (Candida Albicans ; Rhodotorula sp).



**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

- 1- Avry et Galloiuin {définition de coriandre}
- 2- Baba Aissa ,1999 {synonyme de coriandre}
- 3- Bruneton,2009 ; Wichtl et Anton ,2003 {nom vernaculaire}
- 4- Dodinet et al 2001 {historique de coriandre}
- 5- John Chadwick, 1976 {historique}
- 6- Fragiska, 2005 {historique}
- 7- Boskabady et al, 2001 et Wichtelet al 1999 {Répartition géographique}
- 8- Wichtl, 2006 {utilisation de coriandre}
- 9- Burt,2004 et Garnéro, 1996 {Définition des HE}
- 10- Baser et Buchbauer {Historique des HE}
- 11- Degryse et al, 2008 {Caractéristique physique des HE}
- 12- Silva et al., 2005 {Hydrodistillation}
- 13- Duarte et al., 2005 et Koba et al., 2004 {effet antimicrobien des huiles essentielles}
- 14- Remmal, 1993 ; Chami, 2005 ; Caillet et al., 2009 {Activité antibactérienne}
- 15- De Bellerbeck, 2002 {Activité antifongique}
- 16- Isman, 2000 ; Davan et al., 2009 {les intérêts des HE en agriculture}
- 17- Kurita et Koike, 1982 {les intérêts des HE en industrie alimentaire}
- 18- European-Pharmacopoeia, 2005 {Extraction des HE}
- 19- Hamadou et touki ,2017 {détermination de pH}
- 20- Benamara, 2017 {Mode opératoire pour mesurer le pH}
- 21- Dridi, 2005 {indice de réfraction} et {Densité Relative}
- 22- Ouis, 2015 {mode opératoire pour mesurer la densité relative} et {L'incubation}

23- Mayachiew P. et Devahastin S., 2008 . Activités antimicrobiennes et antioxydantes des extraits de groseille indienne et de galanga. LWT-Food Science and Technology, 41, 1153-1159.

24- Bougerra, 2012 {Préparation des souches fongiques}

25- Hellal, 2011 {la vérification de degré de pureté des HE pour mesurer l'indice de réfraction}

26- Gandovaet ;2020 {le résultatsupérieur de la densité relative}