



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCEN



MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Par :

M^{elle} BELKACEM Zoulikha

Sur le thème :

Etude de l'activité antioxydante et antifongique de l'huile essentielle de *Ammoïdes verticillata* en combinaison avec d'autres huiles essentielles aromatiques thérapeutiques

Soutenu publiquement le 26 juin 2019 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mme ASSIA KENICHE	Dr	Université deTlemcen	Présidente
Mme AMEL AYACHI-BENDIABDALLAH	Dr	Université deTlemcen	Examinatrice
Mme ESMA CHOUKCHOU-BRAHAM	Pr	Université de Tlemcen	Examinatrice
Mr DIB Mohammed El-Amine	Pr	Université deTlemcen	Promoteur

Laboratoire de chimie organique et substances naturelles
(COSNA) Tlemcen – Algérie

Remerciements

Je remercie Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de m'avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de m'avoir permis de finaliser ce travail dans de meilleures conditions.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses (COSNA) de l'Université Abou Baker Belkaïd, Tlemcen, sous la direction de Monsieur ARRAR Zoheir Professeur à l'Université de Tlemcen, à qui j'exprime mes vifs remerciements pour ses encouragements, sa bonne humeur, et tous les moyens qu'il les a mis à notre disposition.

J'exprime également ma profonde gratitude à mon encadrant monsieur DIB Mohammed El-AMINE, Professeur à l'université de Tlemcen, pour m'avoir guidé le long de ce travail, pour sa disponibilité et pour l'aide qu'il m'a apportée pour la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à remercier madame KENICHE Assia docteur au centre universitaire de AinTemouchent pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance.

Je tiens à remercier également madame AYACHI-BENDIABDALLAH Amel docteur à l'université de Tlemcen et Madame CHOUKCHOU-BRHAM Esma professeur à l'université de Tlemcen pour avoir accepté de participer à mon jury.

Je remercie très sincèrement Melle MAMI Imene, doctorante à l'Université de Tlemcen, pour leurs conseils, soutien et leurs disponibilités tout au long de mon cursus.

Je n'oublie pas de remercier tous les enseignants qui ont déployé tant d'effort pour assurer ma formation.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents.

A ma très chère grand-mère pour ses prières qui m'ont accompagnée le long de mon parcours.

Mon très cher frère BELKACEM Nassreddine.

Mes très chères sœurs BELKACEM Manel et BELKACEM nacira

A mon fiancé HEDEILI Rachid

Ames meilleures amies, ZIZI Ikram, BELBACHIR Fatima Zohra, BADI Amina, BENHAROUAL Kheira Hanane et BELBACHIR Zineb

A toute ma famille

A tous mes ami(e)s

A tous ceux qui me sont chère

Sommaire

Chapitre I : Partie bibliographique

INTRODUCTION GENERALE.	1
I.1. Définition des huiles essentielles.	2
I.2. La composition chimique des huiles essentielles.	2
I.2.1. Les monoterpènes.	2
I.2.2. Les sesquiterpènes.	3
I.2.3. Phénols et phényles propanoïdes.	3
I.2.4. Molécules aliphatiques non terpénoïdes.	3
I.3. Activité antioxydantes des huiles essentielles.	3
I.4. Activité antifongique des huiles essentielles.	4
I.5. Effets synergiques, additifs et antagonistes des mélanges alimentaires sur les capacités antioxydantes totales.	4
I.6. Analyse des huiles essentielles.	6
I.6.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).	6
I.6.2. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG-SM).	7
I.7. Les plantes étudiées.	8
I.7.1. <i>Ammoidesverticillata</i> .	8
I.7.1.1. Présentation de la plante.	8
I.7.1.2. Le nom scientifique.	8
I.7.1.3. Les compositions chimiques.	8
I.7.1.4. L'utilisation thérapeutique.	8
I.7.2. <i>Curcuma longa</i> , Linn	9
I.7.2.1. Présentation de la plante.	9
I.7.2.2. Le nom scientifique.	9
I.7.2.3. Les compositions chimiques.	10
I.7.2.4. L'utilisation thérapeutique.	10
I.7.3. <i>Allium sativum</i> .	10
I.7.3.1. Présentation de la plante.	10
I.7.3.2. Le nom scientifique.	10
I.7.3.3. Les compositions chimiques.	11
I.7.3.4. L'utilisation thérapeutique.	11

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel végétal	12
II.1.1. Choix des plantes	12
II.1.2. Collecte du matériel végétal	12
II.1.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles	12
II.1.4. Conservation des huiles essentielles	12
II.1.5. Détermination du rendement en huiles essentielles	13
II.2. Analyse des huiles essentielles	13
II.2.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	13
II.2.2. Conditions CPG-SM	13
II.2.3. Identification des composés	14
II.3. Evaluation de l'activité antioxydante	14

II.3.1. Piégeage du radical libre DPPH [•] (2,2-diphuile essentiellenyl-1-picrylhydrazyl)	14
II.3.2. Pouvoir réducteur du fer FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power)	15
II.4. Souches fongiques pathogènes	16
II.5. Activité antifongique in-vitro	17

Chapitre III : Résultats et discussions

III.1. Introduction	18
III.2. Propriétés des huiles essentielles extraites	18
III.3. Rendement des huiles essentielles des plantes étudiées	18
III.4. Composition chimique des parties aériennes des huiles essentielles	19
III.4.1. L'huile essentielle d' <i>Ammoidesverticillata</i>	19
III.4.2. Huile essentielle de <i>Curcuma longa</i>	20
III.4.3. Huile essentielle d' <i>A. sativum</i>	21
III. 5. Activité antioxydante et antifongique	21
III.5.1. Evaluation des propriétés antioxydantes des trois huiles essentielles	21
III.5.1.1. Piégeage du radical libre DPPH [•]	22
III.5.1.2. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)	23
III.5.2. Evaluation des propriétés antifongiques des trois huiles essentielles	25
CONCLUSION GENERALE	29
Références bibliographiques	30

Abréviations

HUILE ESSENTIELLE : Huile essentielle.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

IRp : Indice de rétention sur colonne polaire.

IRa : Indice de rétention sur colonne apolaire.

CPG-SM : Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse.

DPPH' : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

FRAP: Ferric Reducing-Antioxidant Power.

TPTZ:tripyridyltriazine.

DO: densité optique.

A. verticillata: *Ammonoïdesverticilla*

C. longa: *Curcuma longa*

A. sativum: *Allium sativum*

Liste des figures

Figure 1. Le monoterpène alpha-myrcène.

Figure 2. Le sesquiterpène (E) -bêta-farnésène.

Figure 3.A. *verticillata*.

Figure 4. Poudres et rhizome de *C. longa*

Figure 5. *A. sativum*.

Figure 6. Montage d'hydrodistillation type Clevenger.

Figure 7. Réaction entre le radical libre DPPH'et l'antioxydant.

Figure 8. Réduction du radical DPPH' du violet au jaune.

Figure 9. Réaction FRAP entre Fe^{3+} -TPTZ et l'antioxydant.

Figure 10. Méthode Frap.

Figures 11. Capacité antifongique des trois huiles étudiées.

Figure 12.Montages d'hydrodistillationdes trois plantes.

Figure 13. CI_{50} des huiles essentielles déterminées par la méthode DPPH'.

Figure 14. Pouvoir réducteur des huiles essentielles des plantes.

Figure 15. Pouvoir réducteur des mélanges des huiles essentielles.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Paramètres géographiques des sites de collecte des plantes.

Tableau 2 : Propriétés des huiles essentielles extraites

Tableau 3 : les rendements en huiles essentielles.

Tableau 4. Composition chimique de l'huile essentielle de *A. verticillata*.

Tableau 5. Composition chimique de l'huile essentielle de *C. longa*.

Tableau 6. Composition chimique de l'huile essentielle de *A. sativum*.

Tableau 7. Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH' en fonction des concentrations des huiles essentielles de *A. verticillata*, *C. longa* et *A. sativum*.

Tableau 8. Résultats des combinaisons doubles et triples entre les trois huiles essentielles.

Tableau 9. Activité antifongique de l'huile essentielle de *A. verticillata*

Tableau 10. Activité antifongique de l'huile essentielle de *A. sativum*

Tableau 11. Activité antifongique de l'huile essentielle de *C. longa*

Tableau 12. Activité antifongique du mélange des huiles de *A. verticillata*, *A. sativum* et *C. longa*

Tableau 13. Activité antifongique du mélange des huiles de *A. verticillata*, et *C. longa*

Tableau 14. Activité antifongique du mélange des huiles de *A. verticillata* et *A. sativum*

Tableau 15. Activité antifongique du mélange des huiles de *A. sativum* et *C. Longa*

INTRODUCTION GENERALE:

Depuis les temps anciens, les huiles essentielles sont reconnues pour leur valeur médicinale et sont des produits naturels importants et puissants. Ils continuent d'être d'une importance primordiale jusqu'à nos jours. Les huiles essentielles constituent un groupe important de produits agro-industriels et trouvent des applications dans divers types d'industries, tels que les produits alimentaires, les produits pharmaceutiques et les cosmétiques [1]. Les antioxydants sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres, les neutralisants en empêchant ou réduisant ainsi leurs effets nocifs sur la santé humaine [2].

L'oxydation des lipides est également responsable de la détérioration des graisses et des huiles, entraînant un changement de saveur, de couleur, et de valeur nutritive, tandis que le stress oxydatif est impliqué dans la pathogénie de plusieurs maladies [3]. Afin d'éviter l'oxydation, l'ajout d'antioxydants naturels ou synthétiques aux matières grasses, aux aliments gras et aux cosmétiques est une pratique courante. En raison de sa cancérogénicité, les antioxydants synthétiques utilisés dans les produits à usage humain sont restreints, ce qui accroît considérablement l'importance pour les antioxydants d'origine naturelle [4].

Les plantes aromatiques et médicinales, telles que le myrte, sont une source d'antioxydants naturels en raison de l'activité des métabolites secondaires, tels que les huiles essentielles et les phénylpropanoïdes [5].

Les huiles essentielles ne sont pas seulement utilisées en monothérapie, mais aussi en combinaison depuis de nombreuses années [6]. Ils sont utilisés pour agir en synergie afin d'améliorer ces effets. L'effet synergique possible produit par la combinaison des huiles essentielles de plantes a été qualifié de stratégie très efficace pour inhiber ou réduire le processus naturel d'oxydation des aliments [7].

Les huiles essentielles de *Ammoides verticillata*, *Curcuma longa* et *Allium sativum* possèdent d'importantes propriétés biologiques telles que des activités antibactériennes et antioxydantes [8, 9, 10, 11]. À notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée pour évaluer les propriétés antioxydantes des mélanges des huiles essentielles des trois plantes. Le but de la présente étude est de déterminer :

- (i) La composition chimique des huiles essentielles de chaque plante par CPG et CPG-SM,
- (ii) Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles par les tests de DPPH et FRAP,
- (iii) L'activité antifongique des huiles essentielles sur trois champignons responsables de la pourriture des fruits.
- (iv) Les possibles effets synergiques des combinaisons doubles et triples des huiles essentielles.

Chapitre I :
Partie bibliographique

I.1. Définition des huiles essentielles :

Une huile essentielle ou parfois essence végétale est un corps gras volatil et odorant obtenu par la distillation de plantes aromatiques. L'huile essentielle est présente dans les feuilles, les fleurs, l'écorce et les racines de certains végétaux. Parmi les huit cent mille espèces du monde végétal, seulement dix pour cent sont capables de synthétiser une essence [12].

I.2. La composition chimique des huiles essentielles :

Les molécules terpénoïde dans les HEs ont deux ou trois unités isoprène. La dénomination «terpène» vient de «térébenthine», un solvant liquide dérivé de la résine de l'espèce **Pinaceae**. Lorsque la structure des molécules des terpénoïdes a été découverte, les HEs les chercheurs ont pensé que la molécule la plus simple était une molécule contenant dix atomes de carbone (C_{10}) et ont alors lancé le système de dénomination, appelant ces molécules des monoterpènes (du latin mono, "one"). La découverte récente d'unités isoprène (une molécule d'isoprène ayant cinq atomes de carbone) n'a pas modifié l'utilisation du système de dénomination antérieur, le terme "monoterpène" signifie toujours deux unités isoprènes reliées. Les molécules terpénoïde à trois unités d'isoprène sont appelées sesquiterpènes (du latin sesqui, «un et demi»). Il y a parfois des traces de diterpènes dans les huiles essentielles à quatre unités d'isoprène, mais les triterpènes (six unités d'isoprène) sont des cires et ne se retrouvent pas dans les huiles essentielles distillées à la vapeur, car elles ne sont pas assez volatiles [13].

I.2.1. Les monoterpènes :

Les monoterpènes contiennent deux unités d'isoprène (C_{10}), la figure 1 montre un exemple de myrcène, un monoterpène commun dans les huiles essentielles. La molécule de myrcène suit la règle de l'isoprène qui stipule que les unités isoprènes sont généralement jointes «tête à queue» pour constituer les squelettes carbonés des molécules de terpénoïde [13].

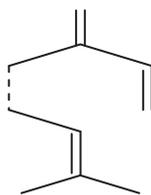


Figure 1. Le monoterpène alpha-myrcène.

Les pointillés représentent les liaisons formées entre deux unités isoprène.

Le nombre de doubles liaisons ($C = C$) dans les terpènes varie par rapport au nombre exact dans chaque molécule d'isoprène, car des réarrangements se produisent lors de la formation des liaisons entre les unités isoprène

I.2.2. Les sesquiterpènes :

Les sesquiterpènes contiennent trois unités d'isoprène (C_{15}). La figure 2 montre le sesquiterpène (E)-bêta-farnésène, un sesquiterpène à chaîne ouverte. L'une des caractéristiques des sesquiterpènes est qu'ils subissent facilement des réactions créant des structures moléculaires à anneaux fermés, les formes moléculaires formées par les anneaux fermés peuvent être classées en sous-groupes de sesquiterpènes [13].

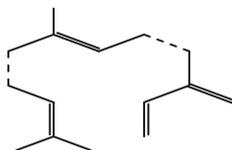


Figure 2. Le sesquiterpène : (E)-bêta-farnésène.

Les pointillés représentent les liaisons formées entre trois unités isoprène.

I.2.3. Phénols et phényles propanoïdes :

Les phénols et les propylates de phényle sont fabriqués par la voie de l'acide shikimique, dans des plantes qui fabriquent aussi des composés tels que les tanins présents dans le thé, ils ont un cycle benzénique ou aromatique distinct. Les phénols ont un groupe hydroxyle (-OH) lié au cycle et généralement une queue isopropyle. Les propanoïdes phényliques ont généralement un groupe fonctionnel méthyl éther attaché au cycle, et une queue propényle (chaîne à 3 atomes de carbone avec un C = C lié au cycle par une extrémité) [13].

I.2.4. Molécules aliphatiques non terpénoïdes :

Le mot « aliphatique » décrit des molécules constituées de chaînes carbonées en ligne droite et n'ayant pas de cycle fermé ou aromatique. Des exemples de molécules aliphatiques sont les aldéhydes C_8 , C_9 et C_{10} à odeur âcre que l'on trouve en petites quantités dans les huiles d'agrumes et les composés C_6 à odeur de feuilles vertes que l'on trouve dans certaines huiles florales telles que Jasmine et Rose. Les molécules aliphatiques ne se trouvent généralement qu'en quantités infimes dans les huiles essentielles, mais s'ils ont des groupes fonctionnels oxygénés, leurs odeurs sont néanmoins perceptibles [13].

I.3. Activité antioxydantes des huiles essentielles :

Les antioxydants ont été largement utilisés pour la conservation des aliments, des antioxydants synthétiques tels que l'hydroxy anisole butylé (BHA), l'hydroxy toluène butylé (BHT), ont été couramment utilisés comme antioxydants dans divers produits.

Les préoccupations des consommateurs au sujet des effets néfastes potentiels des antioxydants synthétiques sur la santé [14,15] ont incité l'industrie à rechercher des solutions naturelles à l'oxydation et à prolonger la durée de conservation des produits alimentaires.

Les épices et les herbes sont utilisés traditionnellement depuis l'antiquité par de nombreuses cultures, non seulement comme agents aromatisants, mais également comme agents de conservation des aliments. Ils sont reconnus comme étant sûrs en raison de leur utilisation traditionnelle sans impact négatif documenté et ils sont également peu coûteux, montrent une meilleure tolérance du patient et sont facilement disponibles pour une population à faible niveau socio-économique [16,17]. Les huiles essentielles, en tant que sources naturelles de composants phénoliques, incitent les chercheurs à évaluer leur activité en tant qu'**antioxydants** ou agents **anti-radicaux libres**.

Par exemple, l'huile essentielle de *Thymus mastichina*, *Thymus camphoratus* et *Thymus caespititius* ont montré une activité antioxydante qui, dans certains cas, était égale à celle de l' α -tocophérol [18, 19].

I.4. Activité antifongique des huiles essentielles :

Les HEs peuvent représenter l'un des produits naturels les plus prometteurs pour l'inhibition fongique, les fongicides chimiques sont largement adoptés dans les pratiques agricoles pour protéger les cultures contre les maladies. Cependant, leur utilisation a récemment suscité de plus en plus d'attention, car les fongicides chimiques sont hautement toxiques. Ils peuvent provoquer une contamination de l'environnement et/ou la présence des résidus de fongicides dans les produits alimentaires, induisent un agent pathogène résistance [20].

Les HEs sont utilisées comme agents de protection dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire [21].

L'activité antimicrobienne ou antifongique de l'huile essentielle pourrait être due aux propriétés des terpènes/terpénoïdes, qui, en raison de leur nature fortement lipophile et de leur faible poids moléculaire, sont capables de perturber la membrane cellulaire, provoquant la mort des cellules ou inhibant la sporulation et la germination des cellules [22].

I.5. Effets synergiques, additifs et antagonistes des mélanges alimentaires sur les capacités antioxydantes et antifongiques totaux:

Les extraits de plantes en tant que huiles essentielles et leurs composants ont fait l'objet de nombreuses recherches en tant que source potentielle de molécules bioactives. De nombreux chercheurs se sont intéressés à leur activité antioxydante pour une utilisation éventuelle comme alternative aux additifs synthétiques moins souhaitables pour la protection des produits cosmétiques

et alimentaires contre l'oxydation. De nombreux aliments à base de plantes sont de bonnes sources d'antioxydants phytochimiques uniques, susceptibles d'exercer des effets bénéfiques pour la santé [23]. Une combinaison de différents aliments à base de plantes peut présenter des effets **additifs**, **synergiques** ou **antagonistes**. Un effet additif fait référence à une combinaison d'aliments qui fournit la somme des effets des composants individuels, un effet synergique se produit lorsque l'effet est supérieur à la somme de composants individuels et un antagonisme se produit lorsque la somme des effets est inférieure à la somme des composants individuels [24].

De nombreuses propriétés naturelles des huiles essentielles en font des agents conservateurs très prometteurs pour l'industrie alimentaire. Il est bien établi que les composés phénoliques et les métabolites secondaires à doubles liaisons conjuguées présentent des propriétés antioxydantes importantes [25]. La plupart des huiles essentielles sont dominées par des monoterpènes oxygénés tels que les alcools (*Achilleafili pendulina*), les aldéhydes (*Galagania fragrantissima*), les cétones (*Anethum graveolens*). *Artemisia scoparia* et *Artemisia absinthium* contiennent principalement des hydrocarbures monoterpènes, alors que les terpénoïdes phénoliques, tels que le thymol ou le carvacrol, caractérisent *Origanum tyttanthum* et *Mentha longifolia*, ce qui expliquerait pourquoi les deux plantes manifestaient généralement l'activité antioxydante la plus forte. Le thymol et le carvacrol, qui sont prédominants dans *Origanum tyttanthum*, sont également responsables de l'activité antioxydante de plusieurs autres huiles essentielles, telles que *Mentha longifolia* [26].

Le travail sur des agents de protection naturels en tant qu'alternative aux fongicides chimiques est en cours de développement alors que très peu d'études sur les activités antifongiques des mélanges des huiles essentielles ont été étudiées [27]. L'huile essentielle de thym et le surnageant dépourvu de cellules de *Lactobacillus plantarum* (LCFS) ont montré une activité antifongique remarquable contre *Penicillium spp* [28], ainsi que la combinaison de l'estragole avec l'huile essentielle de *A. rugosa* exerçait une activité inhibitrice synergique sur la croissance de *Penicillium* presque identique à la référence, le kétoconazole [29].

Les combinaisons les plus efficaces, y compris thym/romarin et thym/cannelle ont montré un effet synergique contre *B. cinerea*, alors que les combinaisons de thym/marjolaine et cannelle/marjolaine ont montré des effets additifs. La combinaison de cannelle avec le thym et le romarin, a eu des effets synergiques contre *P. expansum*. La triple combinaison de cannelle, de romarin et de thym a montré un effet synergique sur *B. cinerea* et *P. expansum*, alors que la combinaison de cannelle, la marjolaine et le thym ont montré un effet additif et synergique contre *P. expansum* et *B. cinerea* respectivement [27].

I.6. Analyse des huiles essentielles :

I.6.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode analytique efficace, qui fournit d'excellentes séparations de mélanges quelque peu complexes dans un laps de temps raisonnable. Son principal inconvénient est qu'elle ne convient pas à tous les mélanges, car l'analyse dépend toujours de la stabilité thermique et de la volatilité des molécules étudiées. Cela dit, CG est définitivement l'outil de choix pour l'étude et le contrôle de la qualité des huiles essentielles et des extraits des hydrolats.

Le principe de séparation CPG est basé sur la température, la plus grande partie du volume de l'appareil est en fait un four de haute précision, dans lequel la colonne capillaire est placée. Lorsqu'un échantillon est injecté, il est vaporisé par un dispositif de chauffage et entraîné par le gaz au début du capillaire, qui est typiquement maintenu à une température initiale relativement basse (40 °C par exemple). Les molécules ayant un point d'ébullition élevé interagissent alors fortement avec la phase stationnaire et progressent à basse vitesse dans le tube capillaire, tandis que celles qui sont plus volatiles restent en phase gazeuse et sont transportées rapidement par le gaz porteur vers la sortie de la colonne [30].

Dans le cas des HEs, une augmentation progressive de la température du four, les molécules moins volatiles perdent progressivement leur affinité avec la phase stationnaire pour s'éluer hors de la colonne. Ainsi, l'ordre d'éluion typique obtenu est le suivant : monoterpènes, monoterpènes oxygénés, après les sesquiterpènes, sesquiterpènes oxygénés, et les diterpènes. Cela correspond à la tendance des points d'ébullition pour ces classes de molécules [30].

D'autre part, la CPG permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme, C'est une technique d'analyse quantitative qui fournit, le pourcentage relatif de chaque signal par rapport à l'ensemble des signaux du mélange analysé et qualitative sur la base des temps de rétention.

Pour une colonne donnée, chaque constituant est caractérisé par des indices calculés à partir d'une gamme d'alcanes ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, en programmation de température (indices de rétention) ou à température constante (indice de Kovats). Ces derniers demeurent constants dans la mesure où la programmation de température reste identique, ils sont calculés sur colonne polaire (IRp) et apolaire (IRa) et sont comparés à ceux d'échantillons authentiques contenus dans une bibliothèque de référence propre au laboratoire, ou encore reportés dans la littérature [31].

I.6.2. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG-SM).

Depuis les années 1950, cette méthode de couplage CPG-SM n'a cessé d'évoluer et a trouvé de nombreuses applications dans les domaines de l'agroalimentaire, des produits pétroliers, médecine, cosmétique, et parfumerie. Cependant, pour analyser les différents constituants des huiles essentielles ou des hydrolats de manière efficace et précise, il est toujours nécessaire de choisir soigneusement les conditions d'injection, les colonnes et les conditions de température de la colonne, etc.

Voici quelques indications qui devraient être connues lorsque les constituants en traces doivent être identifiés et quantifiés par CPG-SM capillaire [32].

Très souvent, l'empreinte digitale sera assez spécifique pour une molécule. Au fil du temps, de grandes bases de données de composés de référence ont été assemblées, comme la base de données de l'Institut national des normes de la technologie (NIST) et le registre Wiley, ainsi que certaines bibliothèques spécialisées (travail de Robert P. Adams) [33] sur les huiles essentielles ou la bibliothèque de Joulain et König, une référence dans le même domaine [34].

De nombreux laboratoires construisent également leurs propres bases de données au fil du temps (Banque Arôme du laboratoire CPN de Corse), soit à partir de normes ou par comparaison avec la littérature scientifique, qui contient de nombreuses références spectrales. CPG-SM est très efficace pour effectuer des contrôles d'identité, mais il y a quelques exceptions à cela, Tout d'abord, une recherche du spectre de masse produit une liste de hits, dont certains sont incorrects. Par exemple, le linalol correspond souvent au linalyl acétate et l'acétate de citronellyleau 2,6-diméthyl-2,6-octadiène, parmi les identifications possibles, et il existe des cas plus délicats, pour des composés plus rares. Dans certains cas, différents composés donneront des spectres de masse assez similaires. C'est le cas de plusieurs isomères (cis/trans) cycliques et de quelques sesquiterpènes [35]. Dans ces cas, l'utilisation seule du spectre de masse n'est pas suffisante, et il faut inclure la technique de l'indice de rétention, cela peut être facilement implémenté en CPG-SM, et résout ce problème.

I.7.Plantes étudiées :

I.7.1. *Ammoïdes verticillata* :

I.7.1.1. Présentation de la plante :

A. verticillata est une plante odorante qui pousse dans le nord d'Afrique ainsi qu'en Asie. On la trouve généralement dans les pelouses des montagnes et dans les forêts [36]. Il s'agit d'une plante médicinale et aromatique appartenant à la famille des Apiaceae. Espèce annuelle grêle, à tiges très ramifiées de 10 à 40cm de haut, elle connaît un cycle dynamique tardif allant de mai à juillet [37].



Figure 03. *A. verticilla* (Cliché par Daira, Juin 2015)

I.7.1.2. Nom scientifique :

La désignation scientifique est *Ammoïdes verticillata*, en Algérie, elle est appelée Nounkha ou Nûnkha tirée du nom Perse «Nankhah» qui est utilisée comme aromate dans le pain [38].

I.7.1.3. Compositions chimiques :

Les plantes possèdent des métabolites dits 'secondaires' par opposition aux métabolites 'primaires' que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent [39].

Les résultats de screening phytochimique confirment la richesse de cette plante en composés terpeniques (saponosides, stéroïdes, stérols, triterpènes et huiles essentielles), en composés azotés (alcaloïdes), ainsi qu'en antioxydants (caroténoïdes) et en composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, flavonoïdes libres (flavones), coumarines, anthocyanes et quinones libres) [40].

I.7.1.4. Utilisation thérapeutique :

L'enquête réalisée auprès des herboristes a montré que sur cette espèce aide à guérir de nombreuses maladies. Elle est utilisée en décoction ou en infusion pour la fièvre typhoïde, Antipyrétique, Antispasmodique, dépuratif, affections rénales, aussi, avec le citron pour la migraine et la céphalée. Le mélange de la plante broyée avec du miel traite l'Asthme et les douleurs

gastriques. L'inhalation de la vapeur dégagée lors de l'ébullition de la plante avec de l'eau traite la fièvre, rhumes-grippe, et les maladies broncho-pulmonaires.

Des études antérieures ont montré une forte activité antioxydante de l'huile essentielle de cette plante qui est due à leur contenance en composés phénolique comme le thymol et le carvacrol. Pour cela il sert à traiter : Les infections bactériennes, virales, cutanée, les infections ORL (oto-rhino-laryngologie) et le rhumatisme [41].

I.7.2. *Curcuma longa*, Linn :

I.7.2.1. Présentation de la plante :

Le curcuma est une plante à fleurs de la famille du gingembre (Zingiberaceae) dont les racines sont utilisées en cuisine [42]. La plante est une herbacée, vivace et rhizomateuse et vivace, elle est originaire du sous-continent indien et de l'Asie du Sud-Est. Elle a besoin d'une température comprise entre 20 et 30 °C et d'une pluviométrie annuelle considérable pour se développer, les plantes sont cueillies chaque année pour leurs rhizomes, certaines pour la multiplication la saison suivante et d'autres pour la consommation [43].



Figure 04. *Curcuma* poudres et rhizome.

(<https://pixabay.com/fr/curcuma-%C3%A9pices-curry-assaisonnement-3251560/>)

Les rhizomes sont cuits à l'eau pendant environ 45 minutes, puis séchés dans des fours chauds. Ils sont ensuite broyés en une poudre jaune-orange foncée couramment utilisée comme colorant et aromatisant, ainsi que pour la teinture [44]. La poudre de curcuma a une saveur chaude et amère, semblable à celle du poivre noir, et un arôme terreux[45,46], bien qu'utilisé depuis des années dans la médecine ayurvédique, où il est également connu sous le nom de haridra [47], il n'existe aucune preuve clinique concernant l'utilisation du curcuma ou de son constituant, la curcumine, en tant que traitement [48,49].

I.7.2.2. Nom scientifique :

Curcuma longa, Linn en anglais *Turmeric*, en arabe *kourkoum* et appelé parfois en France *safran des indes* [50].

I.7.2.3. Compositions chimiques :

La poudre de curcuma contient environ 60-70% de glucides, 6-13% d'eau, 3-7% de minéraux alimentaires, 6-8% de protéines, 5-10% de matières grasses, 2-7% de fibres alimentaires, 3-7% d'huiles essentielles et 1 à 6% de curcuminoïdes [48]. Les composants phytochimiques du curcuma comprennent les diarylheptanoïdes, une classe comprenant de nombreux curcuminoïdes, tels que la curcumine, la déméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine [48]. La curcumine constitue jusqu'à 3,14% des échantillons commerciaux de poudre de curcuma testés (la moyenne était de 1,51%) [51].

I.7.2.4. Utilisation thérapeutique :

Le curcuma dont la composante majoritaire est la curcumine, connu depuis longtemps en médecine traditionnelle en Inde, en Chine et en Iran, a été utilisée contre plusieurs maladies telles que le diabète, les maladies du foie, les maladies rhumatoïdes, l'athérosclérose, les maladies infectieuses et le cancer [52,53].

L'ar-Turmèrone, est le composé majoritaire de l'huile essentielle de curcuma, il présente une activité anti oxydante et aussi une forte activité d'agrégation antiplaquettaire in vitro, antimutagène, anti-inflammatoire puissant et neuroprotecteur, il possède aussi des activités insectifuges, antihépatotoxique, antiarthritique et il possède également une forte activité antibactérienne et antifongique [54]

I.7.3. *Allium sativum* :

I.7.3.1. Présentation de la plante :

L'ail est une plante médicinale appartenant à la famille des *Amaryllidaceae* [55], la hauteur de la tige de la fleur est en moyenne 40 cm, sa floraison est en mois du juin à août, se caractérise par une odeur particulière forte provient de l'allicineun composé organo-sulfuré. Il est utilisé par les médecins de l'Inde ancienne [56].



Figure 05. L'ail (*A. sativum*)

(<https://pixabay.com/fr/l-ail-cuisine-alimentation-3650958/>)

I.7.3.2. Le nom scientifique :

Ail, en anglais **garlic**, et *A. sativum* comme désignation botanique [55].

I.7.3.3. Les compositions chimiques :

A. sativum est caractérisé par la présence de l'allicine (sulfoxyde) liquide incolore, des composés soufrés, d'eau, des glucides, des minéraux tel que le potassium, soufre, calcium, phosphore, chlore, magnésium, sodium, fer, zinc, sélénium, manganèse, des vitamines et contient aussi des oligo-éléments [56].

I.7.3.4. Utilisation thérapeutique :

Suite à une enquête thérapeutique réalisée dans la région de Tlemcen, on a constaté que l'ail protège contre de nombreuses maladies tel que la maladie redoutée, la pire des maladies, le cancer, **l'ail** minimise les risques du cancer du côlon et du cancer de l'estomac ainsi il réduit les taux du cholestérol et des triglycérides [57].

L'ajoène (extrait de l'ail) remplace un médicament fongique (le terbinafine) pour traiter le tinea pedis une infection qui se trouve dans les lieux humide et chaud [58]. Concernant les propriétés de l'huile essentielle de l'ail elle se caractérise par la présence des composés soufrés comme le disulfure de diallyle, le trisulfure de diallyle qui lui attribue une activité antioxydante puissante. L'ail permet de réguler le taux de cholestérol en luttant contre le risque des maladies cardiovasculaires et serait efficace contre les vers intestinaux du fait de sa composition soufrés contribuent à l'activité antimicrobienne et anti-infectieuse [59].

Chapitre II :

Matériels et méthodes

II.1. Matériel végétal

II.1.1. Choix des plantes :

Les plantes étudiées ont été choisies essentiellement sur la base de leur intérêt thérapeutique et grâce aux activités antioxydantes de ces essences végétales.

II.1.2. Collecte du matériel végétal :

A. verticillata et *A. sativum* ont été collectées au mois de Mai-Juin de l'année 2018. *C. longa* a été acheté auprès d'un herboriste. Les parties des plantes étudiées et les sites de récolte sont représentés dans le **tableau 1**.

Tableau 1 : Paramètres géographiques des sites des espèces récoltées.

Plantes	Sites de Collecte	Période de récolte	Parties Etudiées
<i>A. verticillata</i>	Beni-saf (Ain temouchent)	Mai- Juin (2018)	Parties Aériennes
<i>A. sativum</i>	Beni-Snous (Tlemcen)	Mai-Juin (2018)	Bulbes
<i>C. longa</i>	Commerce (Tlemcen)	Février (2019)	Rhizomes

II.1.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger pendant 5h.



Figure 06. Montage d'hydrodistillation type clevenger (photo originale)

II.1.4. Conservation des huiles essentielles :

Les échantillons ont été conservés au réfrigérateur (4°C) dans des piluliers bruns bien fermés. Pour éviter tout risque de dégradation de l'huile essentielle.

II.1.5. Détermination du rendement en huiles essentielles:

Le rendement des huiles essentielles (R^{mt}) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse végétale sèche traitée [60].

$$R^{mt} = \frac{P_1 * 100}{P_0}$$

R^{mt} : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage (% p/p).

P_1 : poids en (g) d'HE.

P_0 : poids en (g) de la matière végétale sèche traitée.

II.2. Analyse des huiles essentielles :

II.2.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Clarus 600 (Walton, MA, Etats Unis), équipé d'un injecteur split/splitless, de deux colonnes capillaires Rtx-1 (polydiméthyl-siloxane, 60 m x 0,22 mm d.i., épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25 μ m) et Rtx-WAX (polyéthylène glycol, 60 m x 0,22 mm d.i., épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25 μ m) et de deux détecteurs à ionisation de flamme. Le gaz vecteur utilisé est le dihydrogène, la pression en tête de colonne est de 25 psi avec un débit de 1 ml/mn, la température de l'injecteur et des détecteurs est de 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C à 2°C/mn puis en un palier de 35 mn à 230°C. L'injection se fait en mode split 1/50. Le volume injecté des échantillons (huiles essentielles et fractions) est de 0,2 μ l. Pour chacun des composés, les indices de rétention polaire et apolaire sont calculés par extrapolation linéaire à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane.

II.2.2. Conditions CPG-SM

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL (Walton, MA, Etats Unis), doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. ; épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25 μ m) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplées à un détecteur de masse Perkin Elmer Turbo Mass. Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70eV. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80. La quantité injectée est de 0,2 μ L.

Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 35-350 Da. La température de la source est de 150°C. Les conditions chromatographiques (programmation de température, gaz vecteur, etc.) sont identiques à celles décrites précédemment (Cf. IV.5.1).

II.2.3. Identification des composés :

L'identification de chaque composé des mélanges a été réalisée par comparaison :

- (i) des indices de rétention calculés respectivement sur colonne polaire et apolaire avec ceux des composés standards (bibliothèque laboratoire) ou ceux rapportés dans la littérature ;
- (ii) des spectres de masse (impact électronique) avec ceux des composés standards (bibliothèque laboratoire) ou ceux présents dans les banques informatisées.

II.3. Evaluation de l'activité antioxydante :

La capacité antioxydante des HEs extraites (*A. verticillata*, *C. longa*, *Linn* et *A. sativum*) peut être influencée par un grand nombre de facteurs et ne peut pas être complètement évaluée par une seule méthode il est nécessaire de réaliser plus d'un type de capacité antioxydante. Dans ce travail on a choisi deux techniques chimiques que sont : le piégeage du radical libre DPPH[•] [61] et la méthode de réduction du fer (FRAP) [62].

II.3.1. Piégeage du radical libre DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) :

L'un des premiers radicaux libres exploité pour évaluer l'activité antioxydante le radical libre (DPPH[•]) [61].

Principe :

Le radical DPPH[•] possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure 07). A cause de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, mais reste dans sa forme monomère relativement stable à température ambiante. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait par l'observation de l'intensité de la coloration violette du DPPH[•] en solution alcoolique qui vire vers le jaune pâle après sa réduction par une substance donneuse de protons se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm.

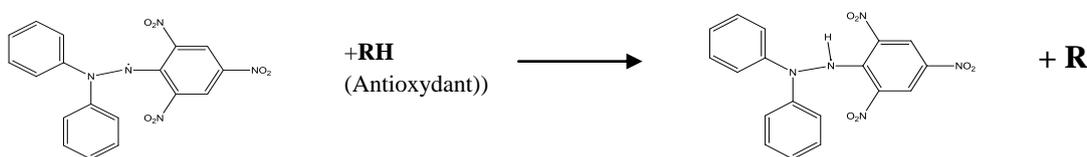


Figure 07. Réaction entre le radical libre DPPH[•] et l'antioxydant.

Procédure :

0,003g de DPPH[•] ont été dissout dans 100 mL d'éthanol 96% (v/v), puis recouvert de papier aluminium et conservé dans le frigo pendant 30 min. Pour chaque huiles de *A. verticillata*, *C. longa* et *A. sativum* on à utiliser des concentrations comprises entre 0,015 et 7,5mg/mL préparer à partir

d'une solution mère (15mg/mL), les différentes solutions ont été ajustées à un volume de 1mL par de l'éthanol en ajoutant 1mL de la solution éthanolique de DPPH^{*}.

Le tout est incubé durant 30min à l'obscurité et à température ambiante, le contrôle négatif été constitué uniquement de 1mL d'éthanol et 1mL de DPPH^{*}. Les absorbances ont été mesurées à une longueur d'onde de 517nm par un spectrophotomètre ultraviolet contre le blanc (l'éthanol).

L'évaluation de l'activité antioxydante permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI₅₀) qui exprime l'efficacité des huiles [62].



Figure 08. Réduction du radical DPPH^{*} du violet au jaune.

Procédure des mélanges croisés :

Pour l'étude des mélanges croisés des trois huiles, nous avons utilisé la méthode du Piégeage du radicale libre DPPH^{*}. Les concentrations utilisées été de 15mg/mL pour les associations double et triple des huiles essentielles. Des ratios de 1 :1 ont été préparés pour la préparation des concentrations de chaque mélange.

Le pourcentage d'inhibition de l'activité antioxydante a été calculé suivant la formule :

$$\% = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

Avec :

%: pourcentage d'inhibition.

A₀ : absorbance du contrôle négatif.

A₁ : absorbance de l'échantillon après 30 min.

II.3.2.Pouvoir réducteur du fer (FRAP) :

Principe :

Dans le test FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant Power), la capacité antioxydante a été mesurée sur la base de la capacité à réduire les ions ferriques (Fe³⁺) en ions ferreux (Fe²⁺) entraînant le complexe Fe₄[Fe(CN)₆]₃ coloré en bleu qui absorbe à 700nm. L'augmentation de l'absorbance à cette longueur d'onde indique l'augmentation de l'effet réducteur et par conséquent l'augmentation de l'activité antioxydante [63].

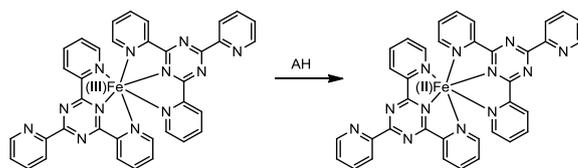


Figure 09. Réaction FRAP entre Fe^{3+} -TPTZ et l'antioxydant.

Procédure :

Le pouvoir réducteur a été déterminé via la méthode décrite par Oyaizu [64]. Pour les trois huiles on a utilisé des concentrations initiales comprises entre 0,075 et 15mg/mL. 1 mL de différentes concentrations des huiles essentielles a été mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M à pH 6,6 et 2,5mL d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%). L'ensemble du mélange obtenu a été incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min, ensuite 2.5 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction, le tout a été centrifugés à 3000 rpm (10min). 2.5mL de surnageant a été mélangé avec 2,5mL d'éthanol et 0,5mL d'une solution de Chlorure ferrique (FeCl_3) à 0,1%.



Figure 10. Méthode FRAP

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été faite avec une longueur d'onde de 700 nm contre un blanc, en remplaçant l'extrait par de l'éthanol afin de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS).

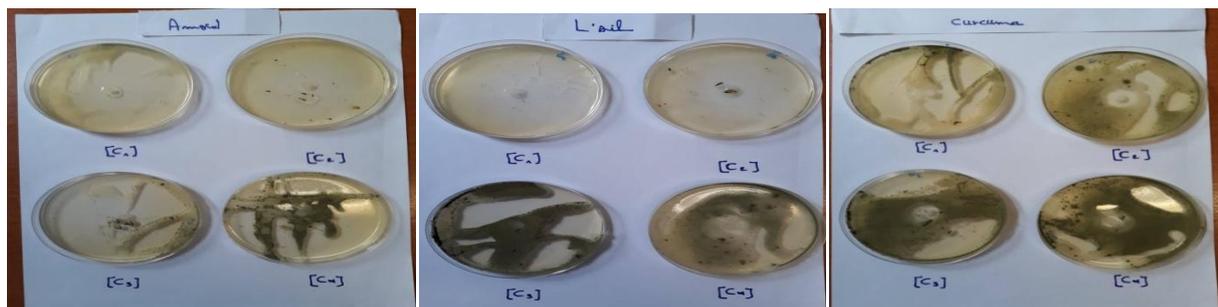
L'acide ascorbique a été utilisé autant que contrôle positif dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons afin de faire une étude comparative [65].

II.4. Souches fongiques pathogènes :

Les isolats fongiques *Aspergillus flavi*, *Fusarium solani* et *Penicillium expansum*, responsables de la pourriture de nombreux fruits et légumes, ont été isolés directement des fruits dans les vergers et maintenus dans de la gélose au dextrose (PDA, Sigma – Aldrich, USA) dans une chambre de croissance à 23 °C pendant 14 jours dans l'obscurité. Chaque isolat a été purifié par une technique d'isolement de spores unique et identifié sur la base de caractéristiques culturelles et morphologiques [66,67].

II.5. Activité antifongique in-vitro:

La méthode utilisée était une modification de Tian et al [68] qui était basé sur une méthode publiée par Singh et al [69]. Des aliquotes d'huiles essentielles dissoutes séparément dans 0,5 ml de DMSO à 10% (v/v) ont été pipetées de manière aseptique dans des boîtes de Pétri en verre de 9 cm contenant 9,5 ml de PDA en fusion à une température comprise entre 45 et 50 °C, afin d'obtenir 04 concentrations requises en huiles essentielles. (75, 150, 300 et 600µL/mL). Après homogénéisation à l'aide d'un vortex, le contenu des tubes a été versé dans des boîtes de Pétri. Les boîtes ont été laissées sécher pendant 15 à 20 minutes. Une boîte de Pétri contenant 10 ml de milieu PDA sans extrait a été utilisée comme contrôle négatif.



Figures 11. Capacité antifongique des trois huiles étudiées.

Un disque mycélien de 9 mm de diamètre, découpé à la périphérie de la préculture de 5 jours, a été inoculé de manière aseptique au centre de chaque boîte de Pétri. Toutes les boîtes de Pétri ont été scellées avec du para film stérile et incubées à 28 °C pendant 9 jours. L'efficacité du traitement a été évaluée quotidiennement en mesurant la moyenne des deux diamètres perpendiculaires de chaque colonie. Le pourcentage d'inhibition de la croissance des deux champignons testés, par rapport au contrôle, a été calculé au 9ème jour en utilisant la formule suivante [70].

$$I\% = (DC - DT / DC) \times 100$$

Où DC et DT sont les diamètres moyens des colonies fongiques de contrôle et de traitement, respectivement.

Chapitre III :

Résultats et

discussions

III.1. Introduction

Les HEs sont très utilisées en cosmétique, parfumerie et dans les industries agroalimentaires. Elles sont également connues pour leurs propriétés biologiques comme dépurative et régénérantes. Elles sont recommandées pour stimuler et régénérer l'organisme [1].

Dans cette première partie de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de trois plantes très utilisées en Algérie pour leurs vertus sur la santé. Il s'agit dans ce travail d'examiner la composition chimique des HEs des parties aériennes des 3 plantes, l'activité antioxydante, et antifongique et de les comparer à ceux reportées dans la littérature d'autre part.

III.2. Propriétés des huiles essentielles extraites :

Les propriétés des trois huiles sont représentées dans le **tableau 2**. De nombreuses différences et similitudes liées à leurs propriétés organoleptiques ont été observées.

Tableau 2 : Propriétés des huiles essentielles extraites

Huiles essentielles	Couleur	Aspect	Odeur
<i>A. verticillata</i>	Jaune	Liquide huileux	Aromatique Forte et épicée
<i>A. sativum</i>	Jaune foncé	Liquide huileux	Forte et piquante
<i>C. longa</i>	Jaune pale	Liquide huileux	Aromatique acre, Forte et piquante

III.3. Rendement des huiles essentielles des plantes étudiées :

Les rendements (en %) des différentes plantes étudiées sont présentés dans le Tableau 3.



Figure 12. Montages d'hydrodistillation des trois plantes (photos originales)

Les plantes	Rendements %
<i>A. verticillata</i>	2,6%
<i>C. longa</i>	1,15
<i>A. sativum</i>	0,18

Tableau 3: Rendements en huiles essentielles des plantes étudiées

Le rendement en huile essentielle, extrait de la partie aérienne de *A. verticillata* été de 2,6%, suivi de l'huile essentielle de *C. longa* (1,15%). Alors que, le plus faible rendement a été observé pour l'huile essentielle de *A. sativum* (0,18%).

A titre comparative, le rendement de notre huile essentielle de *A. verticillata* été sept fois supérieur à celui rapporté par Laouer (2003) [71] dans la région de Sétif. D'autre part, le rendement en huile essentielle de *C. longa* obtenu dans notre étude été deux fois inférieure à celui trouvé par Singh et al. (2010a) [72]. Alors que pour *A. sativum* un rendement identique a été trouvé par Prabodh Satyal (2017) [73] en Etats-Unis.

III.4. Composition chimique des parties aériennes des huiles essentielles

III.4.1. L'huile essentielle de *Ammoides verticillata* :

L'huile essentielle de *A. verticillata* obtenue à partir des parties aériennes a été étudiée par CPG et CPG/SM. L'analyse de l'huile représentait 98,5% de l'huile totale et a permis l'identification de 12 composés (Tableau 4).

Tableau 4:Composition chimique de l'huile essentielle de *A. verticillata*

No. ^a	Composés	RI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	S1	Identification ^e
1	α -Thujène	932	925	1012	0,1	RI, MS
2	α -Pinène	931	932	1023	0,6	RI, MS
3	Sabinène	964	966	1118	0,1	RI, MS
4	Myrcène	976	982	1159	0,5	RI, MS
5	p-Cymène	1010	1012	1259	25,2	RI, MS
6	Limonène	1020	1021	1195	28,1	RI, MS
7	γ -Terpinène	1047	1049	1237	9,6	RI, MS
8	Terpinène-4-ol	1161	1162	1583	0,8	RI, MS
9	Thymol	1266	1269	2189	Tr	RI, MS
10	Carvacrol	1282	1278	2220	33,2	RI, MS
11	α -Humulène	1456	1456	1665	0,1	RI, MS
12	γ -Muuroène	1471	1469	1679	0,2	RI, MS
Identification %					98,5	
Monoterpènes hydrocarbonés					64,2	
Monoterpènes oxygénés					34,0	
Sesquiterpènes hydrocarbonés					0,3	

Le profil chromatographique a montré que l'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes été constituée majoritairement par des monoterpènes hydrocarbonés (64,2%) et des monoterpènes oxygénés (34,0%).

Les sesquiterpènes hydrocarbonés ne représentaient que 0,3% de la composition totale (Tableau 4). Les principaux composants de l'huile était le carvacrol (33,2%), p-cymène (25,2%) et le limonène (28,1%) suivi par le γ -terpinène (9,63%).

La recherche bibliographique menée sur la composition des HEs de *A. verticillata* à montrer une variation significative dans les pourcentages des constituants majoritaires. En Algérie

(Tlemcen) [74], Inde [75], Egypte [76] et la Turquie [77], l'huile de *A. verticillata* a été caractérisée par la présence d'un pourcentage élevé en thymol (10,8-61,3%), suivi par le p-cymène (18,1-37,4%) et le γ -terpinène (6,8-25,5%), respectivement. En revanche, l'huile provenant du Maroc [78] a été caractérisé par le carvacrol avec un pourcentage de 44,6%, suivi du limonène (18,4%) et le p-cymène (9,4%).

III.4.2. Huile essentielle de *Curcuma longa*:

Tous les composants ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (IR) et les spectres de masse avec ceux de la bibliothèque «Arômes» réalisée en laboratoire de Corse. L'huile essentielle été caractérisé uniquement par des composés sesquiterpéniques, représentée majoritairement par des composés oxygénés.

Un total de 13 composés a été identifié dans l'huile essentielle de *C. longa* obtenu à partir des rhizomes représentant 93,1% de l'huile (Voir le **Tableau 5**).

Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle de *C. longa*

No. ^a	Composés	IRI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	%	Identification ^e
1	β -Sesquiphellandrène	1516	1517	2037	10,5	RI, MS
2	tans-Caryophyllène	1521	1518	2156	0,3	RI, MS
3	(E)- α -Bisabolène	1532	1536	2015	0,3	RI, MS
4	cis-Hydrate sesquisabinène	1565	1564	2078	2,1	RI, MS
5	Germacrène-B	1553	1559	1830	1,1	RI, MS
6	trans-Sabinène hydrate	1565	1562	2076	0,4	RI, MS
7	Caryopllène oxyde	1576	1578	1982	2,1	RI, MS
8	Zingiberènol 1	1599	1599	2110	0,9	RI, MS
9	Zingiberènol 2	1613	1614	2192	2,8	RI, MS
10	Ar-turmèrone	1639	1642	2256	32,1	RI, MS
11	α -Turmèrone	1649	1656	2178	24,5	RI, MS
12	β -Bisabolol	1653	1660	2141	0,4	RI, MS
13	β -Turmèrone	1680	1685	2244	15,6	RI, MS
% d'identification					93,1	
Sesquiterpènes hydrocarbonés					12,2	
Sesquiterpènes oxygénés					80,9	

Les sesquiterpéniques oxygénés étaient caractérisés par l'Ar-turmèrone (32,1%), α -turmèrone (24,5%), β -turmèrone (15,6%). Les sesquiterpènes hydrocarbonés étaient représentés par le β -sesquiphellandrène (10,5%), cis-hydrate sesquisabinène (2,1%), caryophellène oxyde (2,1%) et le Zingiberènol 2 (2,8%). D'après la littérature, l'huile essentielle de *C. longa* est constituée d'environ 34 composantes, parmi lesquelles la turmèrone, le zingibérène, l'atlantone, et la germacrone sont des constituants majeurs [79]. Les différents travaux menés sur cette espèce montrent que l'huile à montrer une variation dans les pourcentages de ces constituants majoritaires. L'huile provenant de

l'inde a été caractérisée par la présence d'un pourcentage élevé en ar-turmèrone avec un pourcentage de 51,7% en Gorakhpur, 31,1% en Calicute, 38,6% en Pakistan et de 49,3% en Brésil, suivi d'un pourcentage en β -turmèrone 12,9% en Pakistan, en suite un pourcentage appréciable en α -turmèrone en Inde (11,9%) et en Pakistan (8,90%) [54].

III.4.3. Huile essentielle de *A. sativum*

L'échantillon de l'huile de *A. sativum* a été analysé par CPG et CPG/SM et la composition chimique est présentée dans le **Tableau 6**. Au total, 09 composants, couvrant plus de 91,5% de la composition totale, ont été identifiés (Tableau 6). L'huile été représentée majoritairement par des composants soufrés et était dominé par le trisulfure de diallyle (31,5%), le disulfure de diallyle (29,8%) et le trisulfure de méthyle allyle (16,8%), suivie par des quantités appréciables de sulfure de diallyle (3,9%), méthyle allyle disulfure (4,4%) et de trisulfure de diméthyle (2,2%).

Tableau 6 : Composition chimique de l'huile essentielle de *A. sativum*

No. ^a	Composés	IRI _a ^b	RI _a ^c	%	Identification ^e
1	Sulfure de diallyle	846	847	3,9	RI, MS
2	Méthyl allyl disulfure	908	906	4,4	RI, MS
3	trans-Propenylmethylsulfide	926	1536	0,8	RI, MS
4	Trisulfure de diméthyle	948	953	2,2	RI, MS
5	Disulfure de diallyle	1079	1070	29,8	RI, MS
6	Trisulfure de méthyle allyle	1126	1119	16,8	RI, MS
7	Tétrarsulfure de 1,4-diméthyle	1238	1240	0,5	RI, MS
8	Trisulfure de diallyle	1288	1278	31,5	RI, MS
9	Tétrarsulfure de diallyle	1482	1509	1,6	RI, MS
% d'identification				91,5	

L'HE de cette espèce *A. sativum* à montrer que le trisulfure de diallyle est le composé majoritaire en France (49,8%), en Cameroun (49,6%) et en USA (33,40%) suivi du disulfure de diallyle avec respectivement des pourcentages de 37,2%, 29,8% et 20,80% [80, 59, 73], en Algérie, le composé majoritaire été le trisulfure de l'allyle (45%) suivi du disulfure de diallyle (22 %) [81].

III. 5. Activité antioxydante et antifongique

III.5.1. Evaluation des propriétés antioxydantes des trois huiles essentielles :

Les plantes aromatiques sont utilisées depuis plusieurs années dans le processus du stress oxydatif (déséquilibre entre la génération des Espèces Réactives dérivées de l'Oxygène (ERO)) et la lutte contre les maladies infectieuses.

L'étude de l'activité d'une huile est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants et non seulement à ses composés majoritaires [82].

Les HEs ne sont pas seulement utilisées en monothérapie mais sont utilisées en association depuis de nombreuses années [83]. Elles sont utilisées pour agir en synergie afin d'améliorer encore leurs effets. L'effet synergique possible produit par la combinaison d'huiles essentielles de plantes a été considéré comme une stratégie efficace pour inhiber ou réduire le processus naturel d'oxydation des aliments.

III.5.1.1. Piégeage du radical libre DPPH[•] :

Matrice individuelle :

Les résultats du pouvoir antioxydant obtenus lors du test de mesure du piégeage du radical DPPH[•] sont représentés dans le **Tableau 7**.

Tableau 7 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH[•] en fonction des concentrations des huiles essentielles de *A. verticillata*, *C. longa* et *A. sativum*.

Huiles essentielles	Concentration (mg/mL)	Activité antioxydante				
		2,5	2,0	0,42	0,24	0,1
<i>A. verticillata</i>	Effet du balayage sur le DPPH [•] (%)	98,2	86,7	50,0	44,8	43,3
		11,5	4,67	2,3	1,15	/
<i>C. longa</i>	Effet du balayage sur le DPPH [•] (%)	91,5	50	36,9	27,4	/
		10,9	6,8	1,1	0,54	0,26
<i>A. sativum</i>	Effet du balayage sur le DPPH [•] (%)	79,8	50	8,2	4,7	2,7
		0,08	0,06	0,05	0,04	/
Acide ascorbique	Effet du balayage sur le DPPH [•] (%)	97,8	68,5	50,0	39,04	/

Les résultats de l'activité indiquaient que le pourcentage de l'inhibition été proportionnelle à la concentration des échantillons dans le milieu réactionnel. D'après les valeurs du tableau 7, nous constatons que l'huile de *A. verticillata* avait une meilleure activité inhibitrice du radical DPPH[•] avec un pourcentage de 98,2% d'inhibition à une dose de 2,5mg/mL. Alors que celles de *C. longa* et *A. sativum* ont respectivement enregistrées des pourcentages de 91,5% et 79,8% à la même concentration.

La CI₅₀ (Concentration inhibitrice) est inversement liée à l'activité antioxydante, car cette valeur exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur de la CI₅₀ est grande, plus l'activité antioxydante d'un composé est faible.

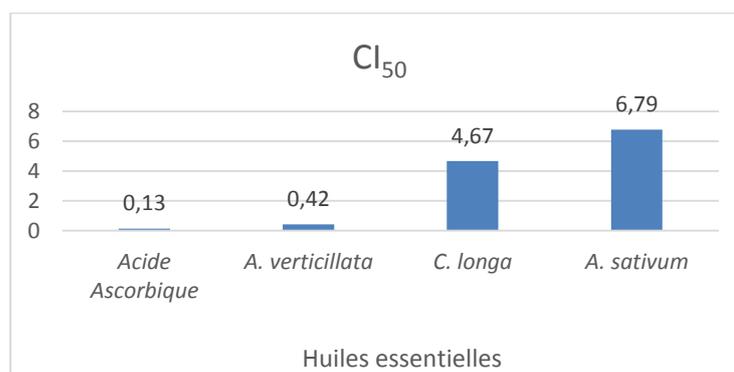


Figure 13: CI₅₀ des huiles essentielles déterminées par la méthode DPPH*

D'après les résultats du pouvoir antioxydant par la méthode du DPPH*, l'HE possédait le plus fort pouvoir antioxydant été celle de *A. verticillata* avec une concentration de l'ordre de 0,42 mg/mL, suivi par celle du *C. longa* (4,7 mg/mL) et *A. sativum* (6,8mg/mL).

Dans l'étude réalisée par Kedia et al. (2015) [84], l'huile essentielle de *A. verticillata* a enregistré une CI₅₀ de l'ordre de 0,47 µL/mL. En étudiant l'activité antioxydante de *C. longa*, Priya et al. (2012) [85], ont obtenu une CI₅₀ de 3,2mg/mL, et pour l'HE de l'ail, Lawrence et al. [86] ont obtenus une CI₅₀ de 0,5 mg/mL.

Matrice croisée :

Les interactions entre les agents biologiquement actifs sont un sujet important dans le domaine thérapeutique. Dans cette partie, nous avons étudiés l'activité antioxydant des mélanges des huiles essentielles par la méthode de piégeage du radical libre DPPH•, afin d'évaluer leur effet synergétique, additifs ou antagoniste (**Tableau 8**).

Tableau 8 : Résultats des combinaisons doubles et triples entre les trois huiles essentielles.

Plante / mélanges			CI ₅₀
<i>A. verticillata</i>	<i>C. longa</i>	<i>A. sativum</i>	mg/mL
mg/mL	mg/mL	mg/mL	
5	5	5	4,35
7,5	7,5	-	3,54
7,5	-	7,5	3,35
-	7,5	7,5	8,99
0,42	4,7	6,8	CI₅₀
Individuelles			

La combinaison des mélanges croisés des huiles essentielles avec différents ratios à montrer que le mélange des huiles essentielles présentait des effets antagonistes et additifs sur l'activité antioxydante. En effet, la combinaison des huiles essentielles augmente considérablement les CI₅₀, par rapport aux huiles individuelles.

Il est à noter que la combinaison de l'HE de *A. verticillata* avec celle de *C. longa* et *A. sativum* ($CI_{50} = 4,35$ mg/mL) présentait un effet antagoniste par rapport à l'huile de *A. verticillata* ($CI_{50} = 0,42$ mg/mL) et un effet synergique par rapport à l'huile de *C. longa* ($CI_{50} = 4,7$ mg/mL) et *A. sativum* ($CI_{50} = 6,8$ mg/mL).

La combinaison de l'HE de *A. verticillata* avec celle de *C. longa* ($CI_{50} = 3,54$ mg/mL) présentait un effet antagoniste par rapport à l'huile de *A. verticillata* ($CI_{50} = 0,42$ mg/mL) et un effet synergique par rapport à l'huile de *C. longa* ($CI_{50} = 4,7$ mg/mL).

De même, la combinaison de l'huile de *A. verticillata* avec celle de *A. sativum* ($CI_{50} = 3,54$ mg/mL) présentait un effet antagoniste par rapport à l'huile de *A. verticillata* ($CI_{50} = 0,42$ mg/mL) et un effet synergique par rapport à l'huile de *A. sativum* ($CI_{50} = 6,8$ mg/mL). Alors que, la combinaison de l'HE de *C. longa* et *A. sativum* présentait un effet antagoniste ($CI_{50} = 8,99$ mg/mL).

III.5.1.2. Pouvoir réducteur du fer (FRAP) :

L'évaluation de la capacité antioxydante par la méthode FRAP des huiles a été déterminée par rapport à l'acide ascorbique. Les résultats de l'activité réductrice des huiles individuelles et les mélanges sont regroupés dans les figures 14 et 15.

Matrice individuelle :

Le pouvoir réducteur des huiles essentielles s'est avéré proportionnel à la concentration à laquelle chaque huile essentielle a été testée.

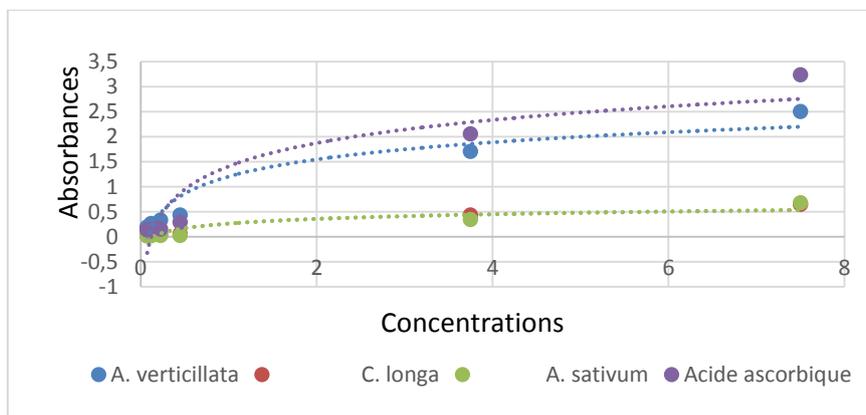


Figure 14. Pouvoir réducteur des huiles essentielles des plantes.

Nous remarquons que le pouvoir réducteur est dose dépendante, ainsi à la concentration de 7,5 mg/mL, les pouvoirs réducteurs de l'acide ascorbique et l'huile de *A. verticillata* sont largement supérieurs ($DO > 2,5$) à ceux des HEs de *C. longa* ($DO = 0,643$) et *A. sativum* ($DO = 0,675$) (figure 14).

Matrice croisée :

La combinaison des HEs à la concentration de 7,5 mg/mL des plantes a montré des effets synergiques importants. Les pouvoirs réducteurs des mélanges croisés des HEs sont largement supérieurs (DO >2,6) à ceux des huiles essentielles individuelles de *A. verticillata* (DO= 2,5), *C. longa* (DO =0,643) et *A. sativum* (DO =0,675). Il est noté que cette activité reste inférieure à celle du témoin l'acide ascorbique (DO = 3,2) (Figure 15).

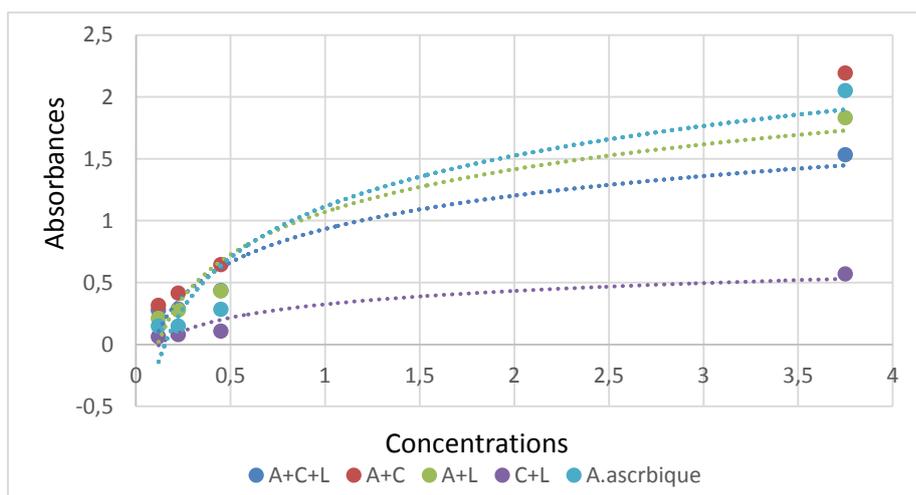


Figure 15. Pouvoir réducteur des mélanges des huiles essentielles

A : *A. verticillata* __ C : *C. longa* __ L : L'ail (*A. sativum*)

III.5.2. Evaluation des propriétés antifongiques des trois huiles essentielles :

Matrice individuelle :

L'effet inhibiteur des HEs a été évalué contre trois champignons phytopathogènes, *Penicillium expansum*, *Fusarium solani* et *Aspergillus flavi*. Les données indiquent que les huiles essentielles inhibaient de manière significative la croissance fongique et présentaient des effets antifongiques contre les champignons testés.

Les huiles essentielles exercée une activité antifongique dose dépendante. A la concentration de 600 $\mu\text{L/mL}$, l'huile de *A. verticillata* présentait une sensibilité significative, avec respectivement, des pourcentages d'inhibitions de 100%, 97,4% et 71,5% sur la croissance de *Penicillium expansum*, *Fusarium solani* et *Aspergillus flavi*. (**Tableau 9**).

Tableau 9 : Activité antifongique de l'huile essentielle de *A. verticillata*

Microorganismes	Pourcentages d'inhibitions (%)			
	75	150	300	600
<i>Penicillium expansum</i>	46,3	69,3	90,7	100
<i>Fusarium solani</i>	20,3	35,9	45,9	97,4
<i>Aspergillus flavi</i>	13,3	24,1	36,3	71,5

A la même concentration (600 µL/mL), l'huile essentielle de *A. sativum* a montré une inhibition importante sur la croissance de *Penicillium expansum* (97,4%), *Fusarium solani* (79,2%) et *Aspergillus flavi* (73,3%) (Tableau 10).

Tableau 10 : Activité antifongique de l'huile essentielle de *A. sativum*

Microorganismes (µL/mL)	Pourcentages d'inhibitions			
	75	150	300	600
<i>Penicillium expansum</i>	24,1	46,3	60,3	97,4
<i>Fusarium solani</i>	6,3	10,4	30,0	79,2
<i>Aspergillus flavi</i>	10,4	23,3	45,5	73,3

Cependant, l'HE de *C. longa* présentait l'activité antifongique la moins importante sur les souches testées. A la concentration de 600 µL/mL, l'huile de *C. longa* inhiber respectivement la croissance de *Penicillium expansum*, *Fusarium solani* et *Aspergillus flavi*, avec des pourcentages d'inhibitions de 59,2%, 32,6% et 17,7% (tableau 11).

Tableau 11 : Activité antifongique de l'huile essentielle de *C. longa*

Microorganismes (µL/mL)	Pourcentages d'inhibitions			
	75	150	300	600
<i>Penicillium expansum</i>	10,4	24,1	35,2	59,2
<i>Fusarium solani</i>	4,8	11,1	21,5	32,6
<i>Aspergillus flavi</i>	1,5	6,3	10,0	17,7

Matrices croisées:

L'activité antifongique des mélanges des HEs avec un ratio de 1 :1 :1 examinées dans ce travail est présentée dans les tableaux 12 à 15. Le mélange des huiles de *A. verticillata*, *A. sativum* et *C. Longa* présentait respectivement des pourcentages d'inhibitions de 100%, 50,7% et 28,5% contre le développement des trois champignons de *Penicillium expansum*, *Fusarium solani* et *Aspergillus flavi* à la concentration de 600 µl/mL (Tableau 12).

Tableau 12 : Activité antifongique du mélange des huiles d'*A. verticillata*, *A. sativum* et *C. longa*

Microorganismes (µL/mL)	Pourcentages d'inhibitions			
	75	150	300	600
<i>Penicillium expansum</i>	00	23,3	45,5	100
<i>Fusarium solani</i>	00	27,1	34,1	50,7
<i>Aspergillus flavi</i>	1,5	3,7	23,3	28,5

Le tableau 13 montre les taux d'inhibition du mélange de *A. verticillata* et *C. longa* avec des pourcentages de 99,2% pour *Penicillium expansum*, 40,0% pour *Fusarium solani* et 24,1% pour *Aspergillus flavi*.

Tableau 13 : Activité antifongique du mélange des huiles de *A. verticillata*, et *C. longa*

Microorganismes ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Pourcentages d'inhibitions			
	75	150	300	600
<i>Penicillium expansum</i>	11,1	45,5	69,2	99,2
<i>Fusarium solani</i>	4,8	17,7	23,3	40,0
<i>Aspergillus flavi</i>	10,0	13,7	17,7	24,1

A la concentration de 600 $\mu\text{l}/\text{mL}$, le mélange de *A. verticillata* et *A. sativum* enregistre une meilleure inhibition sur les champignons de *Penicillium expansum* (99,2%), *Fusarium solani* (90,37%) et *Aspergillus flavi* (84,4%) (Tableau 14).

Tableau 14 : Activité antifongique du mélange des huiles de *A. verticillata* et *A. sativum*

Microorganismes ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Pourcentages d'inhibitions			
	75	150	300	600
<i>Penicillium expansum</i>	23,3	56,3	71,8	99,3
<i>Fusarium solani</i>	10,0	28,9	45,5	90,3
<i>Aspergillus flavi</i>	5,2	11,8	38,5	84,4

D'autre part, le mélange des huiles essentielles de *A. sativum* et *C. Longa* présentait une meilleure activité antifongique avec un taux d'inhibition de 100% pour la souche de *Penicillium expansum*, 95,2%, pour *Fusarium solani* et 95,1% pour *Aspergillus flavi* (Tableau 15).

Tableau 15 : Activité antifongique du mélange des huiles de *A. sativum* et *C. longa*

Microorganismes ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Pourcentages d'inhibitions			
	75	150	300	600
<i>Penicillium expansum</i>	17,7	34,8	78,8	100
<i>Fusarium solani</i>	5,9	10,4	34,2	95,2
<i>Aspergillus flavi</i>	10,3	17,4	23,3	95,1

Le mélange des HEs présentait un effet synergique important sur les deux souches de *Fusarium solani* et *Aspergillus flavi* par rapport aux huiles essentielles individuelles. L'effet synergique le plus élevé a été observé pour le mélange de *A. sativum* et de *C. longa*, suivi du mélange de *A. verticillata* et *A. sativum*. Cependant, les mélanges des huiles de *A. verticillata*, *A. sativum* et *C. longa*, et de *A. verticillata* et *C. Longa* présentaient un effet antagoniste pour les souches de *Fusarium solani* et *Aspergillus flavi*, comparativement aux huiles individuelles.

La plupart des propriétés antifongiques des huiles essentielles sont dues à la présence de terpénoïdes, en particulier de terpènes phénoliques, de phénylpropanoïdes et d'alcools. Une corrélation entre l'efficacité des antifongiques obtenus dans les huiles essentielles et leur composition chimique suggère que cette activité peut être attribuée à la présence de forte concentration relativement élevée de composés bioactives.

Plusieurs rapports ont montré que le carvacrol, limonène, p-cymène, ar-turmèrone, trisulfure de diallyle et le disulfure de diallyle présents dans de nombreuses HEs exercent des effets antifongiques [87-92].

D'après les résultats obtenus, il est évident que toutes les interactions synergiques observées peuvent être liées à l'association respective des curcuminoïdes/composés soufrés et carvacrol/composés soufrés présents dans les HEs de *A. sativum*, *C. longa* et *A. verticillata* qui semblent être responsables de l'activité antifongique sur les souches de *Fusarium solani* et *Aspergillus flavi*. En outre, l'association de ces 03 groupes chimiques, curcuminoïdes/composés soufrés/carvacrol présentait un effet antagoniste sur les 03 souches en diminuant considérablement l'activité antifongique.

De plus, l'étendue de l'activité antifongique peut être liée à un effet synergique avec d'autres composants mineurs ou majeurs présents dans les huiles essentielles.

CONCLUSION GENERALE :

Cette étude axée à la connaissance de l'activité antioxydante et antifongique des HEs de *A. verticillata* (Apiécieae) en combinaison avec des HEs thérapeutiques comme celle de *C. longa* (Zingiberaceae) et *A. sativum* (Amaryllidaceae).

L'HE de *A. verticillata* été riche en alcools monoterpéniques, comme le carvacrol. Quant à l'HE de *C. longa*, elle s'est avérée particulièrement intéressante d'un point de vue analytique par la présence d'une série de composés aromatiques le ar-turmèrone (32,1%), α -turmèrone (24,5%), β -turmèrone (15,6%) comme constituant majoritaire. L'HE de *A. sativum* était dominé par le trisulfure de diallyle (31,5%), le disulfure de diallyle (29,8%) et le trisulfure de méthyle allyle (16,8%).

L'activité antioxydante des trois plantes a été étudiés par deux méthodes DPPH[•] et FRAP. Les résultats du test effectué par le DPPH[•] montrent que l'huile de *A. verticillata* avait une meilleure activité inhibitrice du radical DPPH[•] avec un pourcentage de 98,2% d'inhibition à une dose de 2,5mg/mL. Alors que celles de *C. longa* et *A. sativum* ont respectivement enregistrés des pourcentages de 91,5% et 79,8% à la même concentration.

Avec la méthode FRAP, Nous avons constaté que le pouvoir réducteur été dose dépendante, ainsi à la concentration de 7,5 mg/mL, les pouvoirs réducteurs de l'acide ascorbique et l'huile de *A. verticillata* étaient largement supérieurs (DO >2,5) à ceux des huiles essentielles de *C. longa* (DO =0,643) et *A. sativum* (DO =0,675).

Les mélanges croisés des HEs ont enregistré des effets additifs et antagonistes avec la méthode DPPH[•]. Alors que la méthode FRAP a montré des effets synergiques importants.

L'étude de l'activité antifongiques sur les isolats fongiques *Aspergillus flavi*, *Fusarium solani* et *Penicillium expansum*, à montrer que l'HE de *A. verticillata* exercé une activité antifongique à une concentration de 600 μ L/mL, avec respectivement, des pourcentages d'inhibitions de 100%, 97,4% et 71,5% sur la croissance de *Penicillium expansum*, *Fusarium solani* et *Aspergillus flavi*.

L'huile essentielle de *A. sativum* a montré une inhibition importante sur la croissance de *Penicillium expansum* (97,4%), *Fusarium solani* (79,2%) et *Aspergillus flavi* (73,3%) à la même concentration. L'huile essentielle de *Curcuma longa* présentait l'activité antifongique la moins importante sur les souches testées.

L'étude des mélanges croisés a enregistré des effets synergiques plus importants sur les deux souches de *Fusarium solani* et *Aspergillus flavi* par rapport aux HEs individuelles.

Le développement des agents antioxydants et antifongique naturels peuvent constituer une alternative intéressante en vue de les employées dans des applications thérapeutiques ou cosmétiques.

Références bibliographiques:

1. Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int J Food Microbiol.* **2004**, 94, 223–253.
2. Pereira, P.; Cebola, M. J.; Bernardo-Gil, M. G. Comparison of antioxidant activity in extracts of *Myrtus communis* L., obtained by SFE vs. solvent extraction. *J Environ Sci Eng.* **2012**, 1, 115–120.
3. Young, I. S.; Woodside, J. V. Antioxidants in Health and Disease. *J Clin Pathol.* **2001**, 54, 176-186.
4. Sasaki, Y. F.; Kawaguchi, S.; Kamaya, A.; Ohshita, M.; Kabasawa, K.; Iwama, K.; Taniguchi, K.; Tsuda, S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *J Mutat Res.* **2002**, 519, 103–109.
5. Lis-Balchin, M. Essential oils and ‘aromatherapy’: their modern role in healing. *J R Soc Promo Health.* **1997**, 117, 324–9.
6. Blumenthal, M.; Goldberg, A.; Brinckmann, J. Herbal medicines: expanded commission E monographs. *Boston: J. Integr Med.* **2000**, 419-423.
7. Bozin, B.; Mimica-Dukic, N.; Simin, N.; Anacko, G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some *Lamiaceae* spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils’, *J Agric Food Chem.* **2006**, 54, 1822–1828.
8. Robak, J.; Gryglewsky, R.J. Flavonoïdes are scavengers of superoxide anions. *J Bioc hem Pharmacol.* **1988**, 37, 837-841. doi: 10.1016/0006-2952(88)90169-4.
9. Zhang, L.; Yang, Z.; Chen, F.; Su, P.; Chen, D.; Pan, W.; Du, Z. Composition and bioactivity assessment of essential oils of *Curcuma longa*, L. collected in China. *Ind Crops Prod.* **2017**, 109, 60–73.
10. Dosoky, N. S.; Setzer, W. N. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of *Curcuma* Species. *Nutrients.* **2018**, 10, E1196. doi: 10.3390/nu10091196.
11. Block, E.; Iyer, R.; Grisoni, S.; Saha, C.; Belman, S.; Lossing, F. P. Lipoxygenase inhibitors from the essential oil of garlic. Markovnikov addition of the allyldithio radical to olefins. *J Am Chem Soc.* **1988**, 110, 7813–7827.
12. Adlercreutz, H. Phytoestrogens and breast cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2003**, 83, 113-118.
13. Bowles, E.J. The Chemistry of Aromatherapeutic Oils; 3rd Edition Griffin Press. **2003**.
14. Kahl, R.; Kappus, H. Toxicology of the synthetic antioxidants BHA and BHT in comparison with the natural antioxidant vitamin E. *Z Lebensm Unters Forsch.* **1993**, 196, 329-338.
15. Pokorn, J. Are natural antioxidants better-and safer-than synthetic antioxidants? *European J Lipid Sci Tech.* **2007**, 109, 629-642.
16. Ravit, H.; Shlomo, G.; Margalit, B.; Mordehai, D.; Naomi, Z. Synergistic activity between a Spanish-derived natural antioxidant (NAO) and commercial antioxidants in a variety of oxidation systems. *Food Res. Int.* **2009**, 42, 246-253.
17. Heo, H. J.; Kim, Y. J.; Chung, D.; Kim, D. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chem.* **2007**, 104, 87-92.
18. Miguel, G.; Simones, M.; Figueiredo, A.; Barroso, J.; Pedro, L.; Carvalho, L. Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespititius*, *Thymus camphoratus* and *Thymus mastichina*. *Food Chem.* **2004**, 86, 183–188.
19. Mimica-Dukic, N.; Bozin, B.; Sokovic, M.; Simin, N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (*Lamiaceae*) essential oil. *J Agric Food Chem.* **2004**, 52, 2485–2489.
20. Moenne-Loccoz, Y.; Powell, J.; Higgins, P.; McCarthy, J.; O’Gara, F. An investigation of the impact of biocontrol *Pseudomonas fluorescens* F113 on the growth of sugar beet and the performance of subsequent clover-Rhizobium symbiosis. *Appl. Soil Ecol.* **1998**, 7, 225– 237.
21. Lis-Balchin, M. Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis, London. **2002**. 37, 40,50, 155-200.

22. Nazzaro, F.; Fratianni, F.; Coppola, R.; Feo, V. D. *Essential Oils and Antifungal Activity. Pharmaceuticals*, **2017**, *10*(4), 86. doi:10.3390/ph10040086.
23. Adlercreutz, H. Phytoestrogens and breast cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2003**, *83*, 113-118.
24. Lila, M. A. Interactions Between Flavonoids that Benefit Human Health. In: Winefield C., Davies K., Gould K. (eds) *Anthocyanins*. Springer, New York, NY. **2009**, *10*, 305-320.
25. Lee, B. H.; Choi, W. S.; Lee, S. E.; Park, B. S. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protect.* **2001**, *20*, 317-320.
26. Koh, K. J.; Pearce, A. L.; Marshman, G.; Finlay-Jones, J.J.; Hart, P.H. Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *Br. J Dermatol.* **2002**, *147*, 1212–1217.
27. Sriwattanachai, S.; Sadiq, M. B.; Anal, A. K. Synergistic antifungal effects of thyme essential oil and *Lactobacillus plantarum* cell-free supernatant against *Penicillium* spp and in situ effects. *J. Food Process. Preserv.* **2017**, *42*(1), e13400. doi:10.1111/jfpp.13400.
28. Shin, S.; Kang, C.-A. Antifungal activity of the essential oil of *Agastache rugosa* Kuntze and its synergism with ketoconazole. *Letters in Applied Microbiology.* **2003**, *36*(2), 111–115. doi:10.1046/j.1472-765x.2003.01271.x.
29. Nikkhah, M.; Hashemi, M.; B, M.; Najafi, H.; Farhoosh, R. Synergistic effects of some essential oils against fungal spoilage on pear fruit, *Int. J. Food Microbiol.* **2016**, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.021.
30. Brattoli, M.; Cisternino, E.; Dambruoso, P. R.; de Gennaro, G.; Giungato, P.; Mazzone, A.; Palmisani, J.; Tutino, M. « Gas chromatography analysis with olfactometric detection (GC-O) as a useful methodology for chemical characterization of odorous compounds », *Sensors (Basel)*. **2013**, *13*, 16759-16800.
31. Giudicelli, F. « Caractérisation de nouvelles molécules et variabilité chimique de trois plantes du continuum corse Sardaigne: *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum*. », thèse de doctorat, Pascal Paoli, Corse. France, **2011**.
32. « Essential oils -Analysis by gas chromatography on capillary columns -- General method », p. 7, **2015**.
33. Adams, R. Identification of essential oil components by gaz chromatography /mass spectroscopy, 4th éd. Illinois: Allured Publishing, Carol Stream, **2007**.
34. Joulain, D.; König, W. The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons. Hambourg. *E.B. Verlag*, **1998**.
35. Schmaus, G.; Kubeczka, K. The influence of isolation conditions on the composition of essential oils containing linalool and linalyl acetate. *Baerheim Svendsen A, Scheffer. JJC*, **1985**.
36. Quezel, P.; Santa, S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Edition du centre national de la recherche scientifique. Paris France, **1963**, 603.
37. Felidj, M.; Bouazza, M.; Ferouani, T. Note sur le cortège floristique et l'intérêt de la plante médicinale *Ammoides pussila* (*verticillata*) dans le Parc national des Monts de Tlemcen (Algérie occidentale). *Geo-Eco-Trop.* **2010**, *34*, 147–154.
38. Baytop, T.; Sütülpinar, N. Characteristics of « Nanahan» cultivated in Anatolia and its volatile oil. *J. Fac. Pharm. Istanbul.* **1986**, *22*, 73-76.
39. Krief, S. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Sciences du Vivant [q-bio]. *Museum national d'histoire naturelle - MNHN PARIS*. **2003**. Français.
40. Daira, N.; Maazi, M.; Chefroura, A. Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* Desf. Briq.) de l'Est Algérien. *Bull. Soc. r. sci. Liège.* **2016**, *85*, 2016, 276 – 290.

41. Knobloch, K. A.; Pauli, B.; Iberl, H.; Weigand, N.; Weis, N. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *J Essen Oil Res.* **1989**, 1, 119-123.
42. Loap, S. *Curcuma* (partie I). *Phytothérapie.* **2008**, 6: 22–28. doi : 10.1007/s10298-008-0281-7.
43. Priyadarsini, K. I. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent". *Molecules.* **2014**, 19, 20091–20112.
44. "Turmeric processing". Kerala Agricultural University, Kerala, India. **2013**. Retrieved 10 October 2015.
45. Brennan, J. "Turmeric". Lifestyle. *The National.* **2008**. Retrieved 13 May 2012.
46. "Turmeric". Drugs.com. **2009**. Retrieved 24 August 2017.
47. Peter, K. V. Underutilized and Underexploited Horticultural Crops, *NIJS* .**2008**, 2, 341. Retrieved 6 November 2018.
48. Nelson, K. M.; Dahlin, J. L.; Bisson, J.; et al. "The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin: Miniperspective". *J Med Chem.* **2017**, 60, 1620–1637.
49. Hong, S. L.; Lee, G. S.; Syed Abdul Rahman, S. N.; Ahmed Hamdi, O. A.; Awang, K.; Aznam Nugroho, N.; Abd Malek, S.N. Essential Oil Content of the Rhizome of *Curcuma purpurascens* Bl. (Temu Tis) and Its Antiproliferative Effect on Selected Human Carcinoma Cell Lines. *Sci World J.* **2014**, 1–7.
50. Negi, P. S.; Jayaprakasha, G. K.; Jagan Mohan Rao, L.; Sakariah, K. K. Antibacterial Activity of Turmeric Oil: A Product from Curcumin Manufacture. *J Agric Food Chem.* **1999**, 47, 10, 4297–4300.
51. Hu, Y.; Kong, W.; Yang, X.; Xie, L.; Wen, J.; Yang, M. GC-MS combined with chemometric techniques for the quality control and original discrimination of *Curcuma longae* rhizome: Analysis of essential oils". *J SepSci.* **2014**, 37, 404–11.
52. Noorafshan, A.; Esfahani, S. A. A Review of Therapeutic Effects of Curcumin. *Curr Pharm Des.* **2013**, 19, 2032-2046.
53. Ammon, H.; Wahl M. A. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Med.* **1991**, 57, 1-7.
54. Dosoky, N. S.; Setzer, W. N. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Curcuma Species. *Nutrients.* **2018**, 10, 1196.
55. Block, E. Garlic and Other Alliums: The Lore and the Science; Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, **2010**.
56. Colin, L. « L'ail et son intérêt en phytothérapie ». Thèse de doctorat en pharmacie, sous la direction de Mme Dominique LAURAIN-MATTAR, Nancy, Université de Lorraine, **2016**, 131p.
57. Steinmetz, K. A. Vegetables, fruit, and colon cancer in the Iowa Women's Health Study. *Am J Epidemiol.* **1994**, 139, 1-15.
58. Ledezma, E.; Marcano, K.; Jorquera, A.; De Sousa, L.; Padilla, M.; Pulgar, M.; Apitz-Castro, R. Efficacy of ajoene in the treatment of tinea pedis: A double-blind and comparative study with terbinafine. *J Am Acta Dermatol.* **2000**, 43, 829–832.
59. Dieumou, F. E.; Tegua, A.; Kuate, J. R.; Tamokou, J. D.; Fonge, N. B.; Dongmo, M. C. Effects of ginger (*Zingiber officinale*) and garlic (*Allium sativum*) essential oils on growth performance and gut microbial population of broiler chickens. *Livest Res Rural Dev.* **2009**, 21, 2009
60. Carrée, P. Précis de technologie et de chimie industrielle. Tome II. Ed. Ballière J. B. et fils. **1953**, 432 pages.
61. Blois, M. S. Antioxydant determination by the use of stable free radical, *Nature.* **1958**, 181.
62. Takao, T.; Kitatani, F.; Watanabe, N.; Yagi, A.; Sakat, K. A. Simple Screening Method for Antioxidants and Isolation of Several Antioxidants Produced by Marine Bacteria from Fish and Shellfish. *Biosci, Biotechnol. biochem.* **1994**, 58 1780-1783
63. Alam, M. d. N.; Bristi, N. J.; Rafiquzzaman, M. d. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal.* **2013**, 21:143–152.

64. Oyaizu, M. Studies on products of browning reaction Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *J. Nutr.* **1986**, 44, 307–315.
65. Singleton, V. L.; Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enology Vitic.* **1965**, 16, 144-153.
66. Barnett, H. L.; Hunter, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi, 4th Ed., The American Phytopathological Society: St. Paul Minnesota, **2006**.
67. Samson. R. A.; Hoekstra. E. S.; Frisvad, J. C. Introduction to Food and Airborne Fungi. 7th Ed., Utrecht: Centraal bureau voor Schimmel cultures, **2001**.
68. Tian, j.; Ban, x.; Zeng, x.; He, j.; Huang, B.; Wang, Y. Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oil from *Cicutavivrosa* L. var. *Latisecta* Celak. *Int J Food Microbiol.* **2011**, 145: 464-70.
69. Singh, P.; Srivastava, B.; Kumar, A.; Kumar, R.; Dubey, N. K.; Gupta, R. Assessment of Pelargonium graveolens oil as plant-based antimicrobial and aflatoxin suppressor in food preservation. *J Sci Food Agric.* **2008**, 88: 2421-25.
70. De Lucca, A. J.; Pauli, A.; Schilcher, H.; Sien, T.; Bhatnagar, D.; Walsh, T. J. Fungicidal and Bactericidal Properties of Bisabolol and Dragosantol. *J Essent Oil Res.* **2011**, 23: 47-54.
71. Laouer, H.; Zerroug, M. M.; Sahli, F.; Chaker, A. N.; Valentini, G.; Ferretti, G.; Grande, M.; Anaya, J. Composition and Antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr Essential oil. *JEOR.* **2003**.15: 135-138.
72. Singh, G.; Kapoor, I. P. S.; Singh, P.; de Heluani, C. S.; de Lampasona, M. P.; Catalan, C. A. N. Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.). *Food Chem. Toxicol.* **2010a**, 48: 1026-1031.
73. Satyal, P.; Craft, J. D.; Dosoky, N.S.; Setzer, W. N. The Chemical Compositions of the Volatile Oils of Garlic (*Allium sativum*) and Wild Garlic (*Allium vineale*). *Foods.* **2017**, 5, 6. E63. doi: 10.3390/foods6080063.
74. Tefiani, C.; Riazi, A.; Youcefi, F.; Aazza, S.; Gagoc, C.; Faleirod, M. L.; Pedroe, L. G.; Barrosoe, J. G.; Figueiredoe, A. C.; Megías, C.; Cortés-Giraldo, J.; Vioquef, J.; Miguelc, M. G. *Ammoides pusilla* (Apiaceae) and *Thymus munbyanus* (Lamiaceae) from Algeria essential oils: Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antiproliferative activities. *J Essen Oil Res.* **2015**, <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2015.1006739>.
75. Bhargava, P. P.; Hakasas, C. N. Examination of essential oil from *ajowan seeds*. *Perfum Essent Oil Res.* **1959**, 50, 204–206.
76. Balbaa, S. I.; Hilal, S. H.; Haggag, M. Y. The volatile oil from the herb and fruits of *Carumcopticum* at different stages of growth. *Planta Medica.* **1973**, 23, 312–9.
77. Chialva, F.; Monguzzi, F.; Manitto, P. Essential oil constituents of *Trachyspermum copticum* L. Link fruits. *J Essen Oil Res.* **1993**, 5, 105–106.
78. El Ouariachi, E.; Tomi, P.; Bouyanzer, A.; Hammouti, B.; Desjobert, J. M.; Costa, J.; Paolini, J. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and solvent extracts of *Ptychotisverticillata* from Morocco. *Food Chem Toxicol.* **2011**, 49, 533-6. doi: 10.1016/j.fct.2010.11.019.
79. Braga, M. E.; Leal, P. F.; Carvalho, J. E.; Meireles, M. A. Comparison of yield, composition, and antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts obtained using various techniques". *J Agric Food Chem.* **2003**, 51, 6604–6611.
80. Bhargava, P. P.; Hakasas, C. N. Examination of essential oil from *ajowan seeds*. *Perfum Essent Oil Res.* **1959**, 50, 204–206.
81. Moumene, F.; Benali-Toumi, M.; Benabderrahman, A.; Benyamina, H.; Selem, M. M. Dif. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of *Allium vineale* and *Allium sativum* of west Algerian. *Lavoisier.* **2016**, doi: 10.1007/s10298-016-1038-3.

82. Valnet, M. Antibacterial Activity of 11 Essential Oils against *Bacillus cereus* In Tyndallized carrot Broth. *Int J Food Microbiol*, **2005**, 85, 73-81.
83. Miladinović, D. L.; et al. In vitro interactions of *Peucedanum officinale* essential oil with antibiotics. *Nat. Prod. Res.* **2015**, 29(10): p. 972-975.
84. Kedia, A.; Prakash, B.; Mishra, P. K.; Dwivedy, A. K.; Dubey N. K. *Trachyspermu mammi* L. Essential oil as plant-based preservative in food system. *Ind. Crop. Prod.* **2015**, **69**:104– 109.
85. Priya, R.; Prathapan, A.; Raghu, K. G.; Menon, A. N. Chemical composition and *in vitro* antioxidative potential of essential oil isolated from *Curcuma longa* L. leaves. *Asian Pac J Trop Biomed.* **2012**, S695-S699.
86. Lawrence, R., Lawrence, K. Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium Sativum*) grown in north Indian plains. *Asian Pac J Trop Biomed.* **2011**, 1(1), S51–S54. doi:10.1016/s2221-1691(11)60122-6.
87. Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., & Mete, E. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresour. Technol.* **2008**, 99(18), 8788–8795. doi:10.1016/j.biortech.2008.04.048.
88. Braun, L.; Cohen, M. Herbes & natural supplements, an evidence-based guide, vol 2, 4th ed. Elsevier Australia.
89. Hcc, Y.; Chee, H. M. M.; Min, H. L. *In vitro* Antifungal Activity of Limonene against *Trichophyton rubrum*, *Mycobiol.* **2009**, 37:3, 243-246.
90. Lee, H. S.; Choi, K. J.; Cho, K. Y.; Ahn, Y. J. Fungicidal Activity of α -Turmerone Identified in *Curcuma longa* Rhizome against Six Phytopathogenic Fungi. *J. Biol. Chem., JBC.* 2003. 46:1, 25-28.
91. Lang, Y. J.; Zhang, K. Y. Studies on the effective components of garlic (*Allium sativum* L). *CHM. (Zhong Cao Yao)*, **1981**, 4, 4-6.
92. Lemar, K. M.; Aon, M. A.; Cortassa, S.; O'Rourke, B.; Müller, C. T.; Lloyd, D. Diallyl disulphide depletes glutathione in *Candida albicans*: oxidative stress-mediated cell death studied by two-photon microscopy. *Yeast.* **2007**. 24(8), 695–706. doi:10.1002/yea.1503.