



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



**Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'univers

**Département de Biologie**

Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives « **LASNABIO** »

## **Mémoire de Master En Biologie**

Spécialité : Microbiologie et contrôle de qualité

Sur le thème

---

### **Etude chimique et biologique de trois plantes médicinales**

---

**Présenté par :**

**MERIAH Nebia**

**BELKACEM Farah**

**Soutenu le (22 /09/2020) devant le jury composé de :**

<b>Mme BENDIMERAD Nahida</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Tlemcen</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme BELLIFA Samia</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Tlemcen</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Mme AYACHI Amel née BENDIABDELLAH</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Tlemcen</b>	<b>Encadrante</b>

**Année Universitaire : 2019/2020**

# Remerciements

*En premier lieu, nous remercions « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.*

*On exprime d'abord nos profonds remerciements, nôtre immense gratitude et notre grand respect, à notre encadreur Mme **AYACHI Amel née BENDIABDELLAH**, maitre de conférence au Département de Chimie, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, sa disponibilité, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*On adresse nos sincères remerciements à Mme **BENDIMERAD Nahida** maitre de conférence au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.*

*Nous tenons à remercier aussi Mme **BELLIFA Samia**, maitre de conférence au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen et responsable du master microbiologie et contrôle de qualité, de nous avoir fait l'honneur d'être Examinatrice et de participer au jury de ce mémoire.*

*Nos remerciements vont également à **Monsieur le Professeur GHALEM Saïd**, Directeur du laboratoire de Substances Naturelles et Bioactives « LASNABIO » pour nous avoir accueillis au sein de son laboratoire, sans oublier l'ingénieur du laboratoire **Khéra**, nous la remercions pour son aide et sa gentillesse.*

*Nous tenons aussi à remercier Mme **MALEK Fadila**, maitre de conférence au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen pour ses cours, ses efforts et ses conseils au cours du cycle master.*

*Enfin, nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements à toutes nos familles, nos collègues, à ceux et celles qui nous ont aidés d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin pour la réalisation de notre travail.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à :*

*Mes chers parents que dieu les garde, Je leurs exprime ma profonde reconnaissance pour leur amour, leur confiance, leur soutien ainsi que pour leurs efforts, sacrifices et encouragements tout au long de ma vie, jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.*

*Mon mari **Mohamed-Ali** pour son aide, son soutien et ses encouragements et à sa famille.*

*Ma chère sœur **Fouzia** et mon frère **Mohamed** qui ont toujours été à mes côtés.*

*Mes nièces **Zakia, Meriem, Imane***

*Ma tante **Fatima** qui m'a soutenu durant tout mon parcours*

*A mon binôme **Nebia***

*Mes chères amies : **Rahima, Nebia, Sara, Fatima** avec qui j'ai partagé les bons et les mauvais moments.*

*A tous mes amis de la promotion*

*A toute ma famille*

*Farah*

*Je dédie ce travail :*

*À ma très chère mère MERIAH Djamila*

*Quoi que je fasse ou je dise ; je ne saurais point te remercier comme il se doit .ton affection me couvre ; ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

*À la mémoire de mon père MERIAH Mohammed*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai pour toi. Je ne saurais exprimer mon chagrin en ton absence. J'espère, que du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance. Puisse dieu le tout puissant et miséricordieux t'accorder sa sainte miséricorde et t'accueillir en son vaste paradis.*

*À mes très chères sœurs : Rahma ; Leila ; Sabira ; Safia*

*Pour leurs soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études*

*À mes chers beaux-frères : Sofiane, Ibrahim, Azzedine*

*À mes chers petits neveu et nièces Ishak, Israa et Nihel*

*Vos joies et gaieté me comblent de bonheur. Puisse Dieu, le tout puissant, vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.*

*À mon binôme Farah*

*Pour son entente et sa sympathie*

*À mes chères amies : Nadera ; Fatima ; Sarra*

*Nebia*

# Liste des figures

## CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique

<b>Figure I.1 :</b> <i>Ammoides verticillata</i> .....	06
<b>Figure I.2 :</b> <i>Calamintha nepeta ssp nepeta</i> .....	08
<b>Figure I.3:</b> <i>Lippia citriodora</i> .....	11
<b>Figure I.4 :</b> Montage d'entraînement à la vapeur d'eau .....	15
<b>Figure I.5 :</b> Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyl-1-Picryl Hydrazyl) .....	21

## CHAPITRE II : Matériels et Méthodes

<b>Figure II.1 :</b> Situation géographique de la région étudiée.....	26
<b>Figure II.2 :</b> Montage d'hydrodistillation .....	27
<b>Figure II.3 :</b> Système d'extraction au Soxhlet. ....	28
<b>Figure II.4 :</b> Récupération d'extrait après macération .....	28
<b>Figure II.5 :</b> Évaporateur rotatif .....	29
<b>Figure II.6 :</b> Montage à reflux.....	29
<b>Figure II.7 :</b> Réaction d'un donneur d'hydrogène avec le radical DPPH.....	32
<b>Figure II. 8 :</b> Réduction du radical DPPH du violet au jaune .....	33
<b>Figure II.9 :</b> La méthode de puits .....	36

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

<b>Figure III.1:</b> Rendements en huiles essentielles (%) des trois plantes.....	37
<b>Figure III.2 :</b> Extrait aqueux.....	39
<b>Figure III.3 :</b> Extrait méthanolique .....	39
<b>Figure III.4 :</b> Résultats des tests phytochimiques des plantes étudiées. ....	43
<b>Figure III.5 :</b> Evolution d'activité antioxydante en fonction de différentes concentrations des trois extraits étudiées.....	45
<b>Figure III.6 :</b> Capacité des antioxydants standards.....	46
<b>Figure III.7:</b> CI50 des différents extraits déterminés par la méthode DPPH..	48

# Liste des tableaux

## CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique

<b>Tableau I.1</b> : Classification systématique d' <i>Ammoides verticillata</i> .....	06
<b>Tableau I.2</b> : Classification systématique de <i>Satureja calamintha nepeta</i> .....	08
<b>Tableau I.3</b> : Classification systématique de <i>Lippia citriodo</i> .....	10
<b>Tableau I.4</b> : Liste des principaux radicaux libres.....	19
<b>Tableau I.5</b> : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées et leur rôle contre les maladies.....	20

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

<b>Tableau III.1</b> : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles.....	36
<b>Tableau III.2</b> : Le rendement des huiles essentielles.....	36
<b>Tableau III.3</b> : La couleur et l'aspect des deux extraits méthanolique et aqueux.....	39
<b>Tableau III.4</b> : Rendements des extraits aqueux et méthanolique des trois plantes étudiées.....	40
<b>Tableau III.5</b> : Résultats expérimentaux des tests phytochimiques effectués sur les différentes plantes étudiées.....	41
<b>Tableau III.6</b> : Résultats du pouvoir antioxydant des trois extraits et des témoins par le test DPPH.....	47
<b>Tableau III.7</b> : Activité inhibitrice de l'huile essentielle de <i>Satureja calamintha</i> contre les souches testées .....	53
<b>Tableau III.8</b> : Activité inhibitrice des doses décroissantes de pulegone contre les trois espèces de <i>salmonella</i> .....	53

# Liste des abréviations

<i>A .verticillata</i>	: <i>Ammoïdes verticillata</i> .
<b>BHT</b>	: Butylhydroxytoluène.
<b>CG/SM</b>	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
<b>CMI</b>	: Concentration minimale inhibitrice.
<i>C.nepeta</i>	: <i>Calamintha nepeta</i> .
<b>DPPH•</b>	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
<b>FeCl3</b>	: chlorure ferrique.
<b>FRAP</b>	: Ferric Reducing Antioxidant Power.
<b>g</b>	: Gramme.
<b>GN</b>	: Gélose nutritive
<b>Hcl</b>	: Acide chlorhydrique.
<b>HE</b>	: Huile essentielle.
<b>IC50</b>	: Concentration inhibitrice de 50 % d'une activité.
<i>L.citriodora</i>	: <i>Lippia citriodora</i> .
<b>µg</b>	: Microgramme
<b>mg</b>	: Milligramme.
<b>M-H</b>	: <b>Mueller Hinton</b>
<b>ml</b>	: Millilitre.
<b>NaOH</b>	: Hydroxyde de sodium.
<b>NH4OH</b>	: Ammoniaque.
<b>O.M.S</b>	: Organisation Mondiale de la Santé.
<b>PDA</b>	: Pomme de terre Dextrose Agar
<b>Rdt</b>	: Rendement.

## ***Résumé***

Les plantes médicinales constituent une source intéressante de composés bioactifs. Ces dernières années, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des extraits des plantes et leurs huiles essentielles.

Le but de notre travail est l'étude de trois espèces médicinales et aromatiques *Ammoides verticillata*, *calamintha nepeta*, et *Lippia citriodora* appartenant à trois familles différentes : Apiacées, Lamiacées et Verbénacées, respectivement . Ce sont des espèces très utilisées par la population locale, caractérisées par leurs propriétés thérapeutiques diverses.

Notre travail vise à réaliser une étude phytochimique, basée sur des extractions et des tests phytochimiques de ces trois espèces, récoltées dans la région de Ghazaouet, et une étude biologique basée sur l'étude de l'activité antioxydante des extraits préparés.

Les tests phytochimiques effectués sur les différents extraits ont révélé la présence, des tannins, des flavonoïdes, des quinones et des terpénoïdes. L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH (2,2 diphenyle-1-Picrylhydrazyle), a montré que les extraits aqueux des trois plantes possèdent des pouvoirs antioxydants intéressants, supérieurs à la référence BHT, mais inférieurs à l'acide ascorbique.

**Mots clés :** *Ammoides verticillata*, *calamintha nepeta*, *Lippia citriodora*, tests phytochimiques, activité antioxydante, DPPH.

## ***Abstract***

Medicinal plants constituting an interesting source of bio-active compounds. In recent years, modern medicine has used the therapeutic virtues of plant extracts and their essential oils.

The goal of our work is the study of three medicinal and aromatic species *Ammoides verticillata*, *calamintha nepeta*, et *Lippia citriodora* belonging to three different families: Apiaceae, Lamiaceae and Verbenaceae. These are species very used by the local population, characterized by their various therapeutic properties.

Our work is to carry out a phytochemical study, based on extractions and phytochemical tests of these three species, collected in the region of Ghazaouet, and a biological study based on the study of the antioxidant activity of the prepared extracts.

The phytochemical tests performed on the various extracts revealed the presence of tannins, flavonoids, quinones and terpenoids. The evaluation of the antioxidant activity by the method of DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), showed that the aqueous extracts of the three plants have interesting antioxidants, higher than the BHT reference, but lower than the ascorbic acid.

**Key words:** *Ammoides verticillata*, *calamintha nepeta*, *Lippia citriodora*, phytochemical tests, antioxidant activity, DPPH.

## ملخص

النباتات الطبية هي مصدر مثير للاهتمام للمركبات النشطة بيولوجيا. في السنوات الأخيرة، استخدم الطب الحديث المزايا العلاجية للمستخلصات النباتية وزيتها الأساسية. الهدف من عملنا هو دراسة ثلاثة أنواع نباتات طبية وعطرية *Ammoides verticillata* و *Lippia citriodora* و *calamintha nepeta* تنتمي إلى ثلاث عائلات مختلفة: *Apiaceae* و *Lamiaceae* و *Verbenaceae* على التوالي. تستخدم هذه الأنواع على نطاق واسع من قبل السكان المحليين، وتتميز بخصائصها العلاجية المختلفة.

يهدف عملنا إلى إجراء دراسة كيميائية نباتية، بناءً على عمليات الاستخراج والاختبارات الكيميائية النباتية لهذه الأنواع الثلاثة، التي تم جمعها في منطقة الغزوات، ودراسة بيولوجية تعتمد على دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المحضرة.

كشفت الاختبارات الكيميائية النباتية التي أجريت على المستخلصات المختلفة عن وجود التانينات والفلافونويد والكينون والتربينويدات. أظهر تقييم نشاط مضادات الأكسدة بواسطة طريقة (DPPH) (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) أن المستخلصات المائية للنباتات الثلاثة لها قوة مثيرة للاهتمام من مضادات الأكسدة، أعلى من المرجع BHT، ولكنها أقل من حمض الاسكوربيك.

**الكلمات المفتاحية:** *Ammoides verticillata*، *calamintha nepeta*، *Lippia citriodora*، الاختبارات الكيميائية النباتية، نشاط مضادات الأكسدة DPPH.

# Sommaire

<b>Liste des figures</b> .....	
<b>Liste des tableaux</b> .....	
<b>Résumé</b> .....	
<b>Introduction générale</b> .....	<b>01</b>
<b>CHAPITRE I : Synthèse bibliographique</b>	
<b>I. Présentation des plantes</b> .....	<b>04</b>
<i>I.1. Ammoïdes verticillata</i> .....	
I.1.1. Présentation de la plante .....	05
I.1.2. Nomenclature .....	05
I.1.3. Classification systématique .....	06
I.1.4. Description botanique .....	06
I.1.5. Habitats et culture .....	06
I.1.6. Usage traditionnel .....	07
I.1.7. Travaux antérieurs .....	07
<i>I.2. Satureja calamintha nepeta</i> .....	
I.2.1. Présentation de la plante .....	07
I.2.2. Nomenclature .....	08
I.2.3. Classification systématique .....	08
I.2.4. Description botanique .....	08
I.2.5. Habitats et culture .....	09
I.2.6. Usage traditionnel .....	09
I.1.7. Travaux antérieurs .....	09
<i>I.3. Lippia citriodora</i> .....	
I.3.1. Présentation de la plante .....	10
I.3.2. Nomenclature .....	10
I.3.3. Classification systématique .....	10
I.3.4. Description botanique .....	10
I.3.5. Habitats et culture .....	11
I.3.6. Usage traditionnel .....	11

I.3.7. Travaux antérieurs .....	12
<b>II. Les huiles essentielles .....</b>	<b>13</b>
II .1.Définition.....	14
II .2 .Composition chimique .....	14
II.2.1.Les composés terpéniques .....	14
II.2.2. Les composés aromatiques .....	14
II.3.Les méthodes d'extraction .....	14
II.3.1.Hydrodistillation simple .....	14
II.3.2 Entraînement à la vapeur d'eau .....	14
II.4.Méthodes d'analyses des huiles essentielles .....	15
II.4.1.La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	15
II.4.2.Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Mass (CPG/SM)	
II.5.Propriétés biologiques des huiles essentielles .....	16
II.5.1. Propriétés antimicrobiennes .....	16
II.5.2. Propriétés antioxydantes.....	16
<b>III .Le pouvoir antioxydant et antimicrobien des huiles essentielles.....</b>	<b>17</b>
<b>III.1 l'activité antioxydante .....</b>	<b>18</b>
III.1.1. Introduction .....	18
III.1.2 .Le stress oxydatif .....	18
III.1.3. les radicaux libres .....	18
III.1.4.Les antioxydants .....	19
III.1.4.1 Les antioxydants endogènes (enzymatiques).....	19
III.1.4.2 .Les antioxydants exogènes (non enzymatiques).....	19
III.1.5.Mode d'action des HEs .....	20
III.1.6.Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes in vitro .....	21
<b>III.2 L'activité antimicrobienne .....</b>	<b>22</b>
III.2.1. Introduction .....	22
III.2.2. Activité antibactérienne .....	22
III.2.3. Activité antifongique.....	23
III.2.4 Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne (Aromatogramme) .....	23
III.2.4.1. Méthode de diffusion sur gélose .....	23
III.2.4.2 .Méthode de dilution .....	24
III.2.4.3.Micro-atmosphères .....	24

## **CHAPITRE II : *Matériel et Méthodes***

II.1. Provenance et identification du matériel végétal .....	26
II.2 .Conservation du matériel végétal .....	26
II.3. Extraction des huiles essentielles .....	27
II.4. Préparation des extraits .....	27
II.4.1 Préparation des extraits méthanoliques .....	28
II.4.2 préparation des extraits aqueux .....	29
II.5.Extraction d'hydrolat .....	29
II.6 Détermination des rendements en huiles essentielles et des extraits .....	30
II.7 Tests phytochimiques .....	30
II.8. Évaluation de l'activité anti-oxydante .....	32
II .9.Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	34

## **CHAPITRE III : *Résultats et discussion***

### **III.1.Partie chimique :**

III.1.1 Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles .....	36
III.1.2 Rendement en huiles essentielles .....	36
III.1.3. Extraction aqueuse et méthanolique .....	38
III.1.3.1 .Détermination du rendement d'extraction .....	39
III.1.4. Tests phytochimiques .....	41

### **III.2.Partie biologique :**

III.2.1.Étude de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage du radical libre DPPH...44	
III.2.2.Evaluation de l'activité antimicrobienne .....	51
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>56</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>59</b>

# *Introduction*

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al., 2001**). De nos jours la majorité des habitants utilisent de nombreuses plantes, pour leurs propriétés aromatiques comme l'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle (**Millago et al., 2005**). Selon l'organisation mondiale de la santé près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (**O.M.S, 2002**).

L'usage excessif et répété de produits pharmaceutique dans la médecine moderne a entraîné des résistances aux antibiotiques ; par conséquent, l'utilisation de plantes médicinales et aromatiques comme source de nouveaux agents thérapeutiques continue d'être essentielle dans le système de soins de santé traditionnelle. En effet, les métabolites secondaires des plantes font l'objet de nombreuses recherches ; notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques (tanins, flavonoïdes,...), les saponosides, les alcaloïdes, les huiles essentielles,... (**Bahrn.,1997**).

L'Algérie possède une flore abondante, riche et variée, parmi laquelle on trouve des plantes aromatiques susceptibles de fournir des huiles essentielles (**Scimeca.,2007**). L'étude de ces dernières est toujours d'actualité malgré son ancienneté. Avec les progrès de la science, de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques ont permis de faire des plantes aromatiques et médicinales d'authentiques médicaments (**Bruneton.,1999 ;Franz et Novak.,2010**)

Depuis quelques années, les chercheurs dans les domaines des sciences biologiques, chimiques et médicinales portent un intérêt accru pour les antioxydants naturels en raison de leurs propriétés thérapeutiques extraordinaire, en référence à une situation où les cellules ne contrôlent plus la présence excessive de radicaux libres toxiques. L'extraction, l'identification et la quantification de ces composés ont été effectuées à partir de divers substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires.

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est l'étude phytochimique ainsi que l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antimicrobienne de trois plantes récoltées sur les côtes de la région de Ghazaouet-Tlemcen. il s'agit d'*Ammoide verticillata* , *Calamintha nepeta* et *Lippia citriodora* .

Notre mémoire comporte trois chapitres ; nous aborderons dans **le premier chapitre** une synthèse bibliographique portant sur :

- Une description botanique des trois plantes faisant l'objet de notre étude. Par la suite, nous présenterons une synthèse des travaux publiés dans la littérature concernant la composition chimique des huiles essentielles contenues dans ces trois espèces.
- Des généralités sur les huiles essentielles, (composition chimique, propriétés biologiques, techniques d'extractions, méthode d'analyse..).
- Une partie biologique, sur le pouvoir antioxydant et antimicrobien des huiles essentielles.

Le **deuxième chapitre** concerne le matériel et les méthodes utilisés, décrivant :

- L'extraction des huiles essentielles des plantes sélectionnées pour cette étude;
- La préparation des extraits à partir de la partie aérienne de ces plantes.
- La détermination des différentes classes chimiques par criblage phytochimique.
- L'évaluation de l'effet antioxydant de chaque extrait par la méthode de piégeage du radical libre DPPH•
- L'évaluation de l'effet antimicrobienne des huiles essentielles par la méthode de diffusion sur disque

Dans Le **troisième chapitre** nous présenterons les résultats obtenus à travers les études chimiques et biologiques et leurs discussions.

Enfin, On termine par une conclusion générale qui résumera l'ensemble du travail réalisé.

# *Chapitre I*

## *Synthèse Bibliographique*

***Présentation  
des plantes étudiées***

## I.1. *Ammoïdes verticillata*

### I.1.1 Présentation de la plante

La plante *Ammoïdes verticillata* appelée populairement Nounkha tire son origine de la déformation du nom perse « Nankhah » qui provient de son utilisation en Iran comme aromate dans le pain .En effet, Nan et Khah signifiant respectivement pain et goût. (**Baytop et Sfitlipinar, 1986**).

Les graines de cette plante sont très utilisées dans les préparations culinaires (pain,rôti, légumes, soupes) grâce à leurs arômes forts (**Boulos, 1983**).

En Algérie, cette plante jouit d'une grande faveur populaire. En effet, elle est particulièrement très utilisée dans la préparation de la soupe d'escargot (**Kambouche et al.,2003**).

### I.1.2. Nomenclature

➤ **Noms vernaculaires:** Taleb el koubs en Arabe, Ajwan, Kamun al-muluki, Nakhwah, Nahwah, thym des Indes, Adiowan en allemand, cumin éthiopien....

➤ **Noms scientifiques :** *Ptychotisverticillata*, *Ammoïdes*(ou *Ptychotis*) *verticillata*, *Trachyspermum*Boiss (Quezel et Santa ,1963).

*Carumcopticum* (Benth et hook) (Goudarzi et al., 2011) .

*Trachyspermum ammi* (Narayana et al., 1976).

*Trachyspermumcopticum* (Schirner, 2004).

### I.1.3.Classification systématique

*Ammoïdes* (ou *Ptychotis*) *verticillata* est classée selon la classification botanique, d'après Quezel et Santa (1963) et Guinochet et Vilmorin (1975) comme suit :

**Tableau I.1 :** Classification systématique d'*Ammoïdes verticillata*

<b>Embranchement</b>	Phanérogames
<b>Sous Embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Eudicots
<b>Sous classe</b>	Astéridées

<b>Ordre</b>	Apiales
<b>Famille</b>	Apiacées
<b>Genre</b>	<i>Ammoïdes Adanson</i> (ou <i>Ptychotis</i> Koch)
<b>Espèce</b>	<i>Ammoïdes (ou Ptychotis) verticillata</i> (Desf.) Briq.

### I.1.4 Description botanique

Plante annuelle grêle à souche filiforme, à tige très ramifiée en moyenne de 10 à 40 cm , sans rosette de feuilles basales. Feuilles inférieures pétiolées à nombreux segments multifides verticillés, les supérieures pennatifides à segments linéaires. Fleurs blanches groupées en ombelles de 8-15 rayons. Fruits ovoïdes de moins de 1 mm de long, (Quesel et santa, 1963).



Figure I.1 : *Ammoïdes verticillata* « photo originale »

### I.1.5.Habitats et culture

La plante Nounkha est une plante annuelle spontanée qui pousse en Afrique du Nord, en Ethiopie et en Turquie. Elle s'étend également en région méditerranéenne. Elle est cultivée en Inde, en Iran, au Pakistan, en Afghanistan et en Égypte. Les graines mûres une fois récoltées sont séchées.

D'après Quesel et Santa, *Ammoïdes verticillata* est une plante médicinale répandue dans toute l'Algérie poussant dans les champs, les pelouses des montagnes, les forêts. , surtout les zones arides et semi-arides

## I.1.6. Usage traditionnel

*Ammoïdes verticillata* est une plante qui possède de nombreuses et précieuses propriétés médicinales (Ambasta et al., 1986). 7), conseillée contre la grippe et possède des propriétés thérapeutiques contre l'hypertension (Aftab et al., 1995 ; Ziyat et al., 1997), le diabète (Ziyat et al., 1997 ;Bnouham et al.,2007 ; Bnouham et al., 2010). Cette plante possède également des propriétés antiallergique, anthelminthique, antivirale (Grosjean, 2004), antibactérienne antifongique (Abdelouahid &Bekhechi, 2002 ; Laouer et al., 2003 ; Laouer et al., 2008) et hypocholestérolémiante (Agrawala& Pant, 1986).

Elle a également un effet expectorant (Ambasta et al., 1986), antalgique (Grosjean,2004)

## I.1.7.Travaux antérieurs

Selon les travaux d'El Ouariachi et al., (2010) ; La composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* de Maroc a été caractérisée par 19 composés, qui représentaient 98,9% du total de la composition. L'huile essentielle été dominée par des composés phénoliques(48,0%), avec de grandes quantités de carvacrol(44,6%) et le thymol (3,4%). Les autres composants principaux ont été limonène(18,4%), g-terpinène(9,5%), le p-cymène(9,4%), et géranyle acétate(4,7%).

Les études de Bekhechi et al.,2010 dans l'ouest d'Algérie (Tlemcen) ont montré que l'isothymol était le composant majeure des parties aériennes juste au début de la floraison ; à maturité, le thymol était le composé majoritaire .

Les travaux de Bekhechi et al., (2010) sur la même plante récoltée dans les régions de Tlemcen et d'Ain-Temouchent rapportent des rendements d'extraction en HE qui varient de 2.1 à 5.4%.

## I.2 *Satureja calamintha nepeta*

### I.2.1 Présentation de la plante

L'espèce *calamintha nepeta* appartient à la famille des Lamiacée bien représentée et répandue dans toute la région méditerranéenne. Cette plante est connue pour ses utilisations médicinales comme stimulante, tonique, antiseptique et antispasmodique. Elle est odorante caractérisée par sa forte odeur rappellent celle de la menthe et de ce fait elle est utilisée dans diverses recettes culinaires (Simonpoli, 1993) ainsi comme infusion (Ordóñez et al., 2006).

## I.2.2 Nomenclature

Le nom *Satureja* dérive du latin « saturare » qui indique nourrir ou « satura » qui indique pot à fleur (Vârban et al., 2010).

- Nom botanique : *Satureja calamintha* subsp. *nepeta* (L.)
- Nom français : Sarriette, baume sauvage, pouliot de montagne
- Nom vernaculaire : Nabta, tourte, menta.

## I.2.3 .Classification systématique : (Quezel et Santa, 1963)

Tableau I.2: Classification systématique de *Satureja calamintha nepeta*

<b>Domaine</b>	Eucaryote
<b>Règne</b>	plantea
<b>Classe</b>	Magnolio
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Satureja</i>
<b>Espèce</b>	<i>calamintha nepeta</i>
<b>Sous espèce</b>	<i>calamintha nepeta</i> subsp. <i>Nepeta</i>

## I.2.4 Descriptions botaniques

*Calamintha nepeta* atteint une taille de 30– 40 cm et est très ramifiée depuis la base. Elle a des feuilles lancéolées et pointues à leur extrémité. Les tiges sont plus ou moins velues. Les fleurs, de couleur blanche à mauve, insérées à l'aisselle des feuilles, fleurissent de juillet à septembre (Speck et al., 2008) .



Figure I.2 : *Calamintha nepeta* ssp *nepeta*

### I.2.5 Habitats et culture

Originnaire d'Europe du Sud, *Calamintha nepeta* pousse dans les lieux ensoleillés et bien drainés. Elle est souvent cultivée comme plante d'agrément. Les fleurs sont récoltées en été (Iserin, 2001).

En Algérie, on la rencontre dans les sous-bois mais aussi sur les terrains incultes, le bord des routes et dans le tell, surtout en montagne, jusqu'à 1500 mètres d'altitude (Quezel et Santa, 1963).

### I.2.6 Usage traditionnel

*Satureja Calamintha* est une excellente plante aux propriétés médicinales employées par la population locale sous forme de décoction pour traiter : la flatulence, l'indigestion, les troubles digestives, manque de concentration, arthrites, stress, la fatigue psychique et les infections respiratoires bénignes et urinaires. (Buronzo ,2008) Egalement cette espèce constitue un bon remède contre : la toux et le rhume.

### I.2.7.Travaux antérieurs

Beaucoup de travaux ont été effectués sur la composition chimique de l'huile essentielle du genre *Satureja*. La teneur et la nature des constituants changent d'un pays à l'autre en raison de la nature du sol, du climat ou l'origine de la plante.

Le premier chémotype est celui de l'huile essentielle du (Marongiu et al., 2010) Portugal qui se caractérise par l'isomenthone, 1.8- cinéol et le trans-isopulégone, l'huile essentielle d'Algérie (Kerbouche et al., 2013) est chémotypée néo-menthol, alors que les huiles essentielles d'Italie (Marongiu et al.,2010) et de la France ( Ristorcelli et al.,1996 ) sont chémotypées par le pulégone et pipériténone. Cependant, celle de la Turquie (Alan et al., 2011) est marquée par le menthone, gamma-terpinène, limonène et carvacrole.

L'étude de l'espèce *Satureja calamintha* récoltée à Tlemcen, a permis de déterminer la présence des différentes familles de composés chimiques contenus dans les feuilles à savoir les flavonoïdes, les tannins, les huiles volatiles, les stérols et stéroïdes, les saponosides et les coumarines. L'analyse par chromatographie sur couche mince des fractions des flavonoïdes et des tanins a permis de relever la présence de la rutine, de la catéchine et de l'hydroquinone dans les feuilles (Bougandoura et Bendimerad, 2013).

## I.3. *Lippia citriodora*

### I.3.1 Présentation de la plante

*Lippia* vient du nom de Lippi, un botaniste du XVIII<sup>e</sup> siècle qui a laissé son nom gravé pour marquer la plante; le terme *citriodora* signifie : « à odeur de citron» (Pierre et al., 2002) Communément appelé ‘‘Louizaou Tizana’’, elle appartient à la famille des Verbénacées, originaire d’Amérique du sud, introduit et cultivé sur le pourtour méditerranéen (Midi de la France et Afrique du Nord). (Bruneton, 1993).

### I.3.2 Nomenclature

- **Nom vernaculaire :** Elwiza
- **Noms scientifiques :** *Aloysia triphylla* , *Lippia citriodora*
- **Noms communs :** verveine odorante, Verveine citronnelle, verveine à trois feuilles, thé arabe, herbe Louise
- **Nom anglais :** *lemon verbena*

### I.3. 3. Classification systématique

Selon Taleb-Toudert K. et al. (2002), *Lippia citriodora* est classée comme suit (tableau I.3)

**Tableau I.3:** Classification systématique de *Lippia citriodora*.

<b>Règne</b>	Plante
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Sous règne</b>	Trachéobionta
<b>Sous classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Verbénacées
<b>Genre</b>	<i>Lippia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Lippia citriodora</i>

### I.3.4 Descriptions botaniques

C’est une plante verte vivace, annuelle peut atteindre 2m de hauteur à racines fusiformes et jaunâtres, Il s’agit d’un arbrisseau ramifié dont les tiges anguleuses et cannelées portent des feuilles rudes, courtement pétiolées, verticillées par 3. Les fleurs disposées en épis possèdent 4 pétales soudés à la base en un tube et étalés en 4 lobes bicolores : blancs sur la face

externe et bleu violacé sur la face interne » (**Bruneton, 2009**). Le fruit est petit, renferme deux graines.



**Figure I.3** .Photo originale de *Lippia citriodora*,

### **I.3.5 Habitats et culture**

La verveine odorante est cultivée dans les climats tempérés comme plante aromatique et ornementale ; ses feuilles sont utilisées en phytothérapie. Celles-ci sont récoltées à la fin de l'été. Elle s'accommode sur tous les types des sols et exige une quantité d'eau importante (**Pascual et al.,2007**). La verveine odorante s'acclimate d'un sol perméable, bien drainé et des endroits ensoleillés ou semi- ombragés, abrités des vents froids. Elle exige un sol frais en été, sans excès d'humidité qui entraîne la pourriture de ses racines. Elle doit être paillée en hiver pour la protéger du gel, car elle ne supporte pas les températures inférieures à 4 °C (**Botrel ,2001**)

### **I.3.6 Usage traditionnel**

Les parties utilisées de la plante sont les feuilles, les parties aériennes et les fleurs. L'infusé de feuille de verveine odorante est consommé traditionnellement dans certains pays européens comme traitement gastro-intestinal et sont considérées comme particulièrement efficace pour le traitement des douleurs stomacales et l'indigestion.

*L.citriodora* peut être consommée pour ses propriétés antispasmodiques ainsi que pour lutter contre la fièvre. Elle est agréable à boire et s'emploie surtout dans les digestions difficiles, les

ballonnements, les brûlures d'estomac. De plus cette plante a des effets relaxants et peut également utilisée contre les états nerveux, les palpitations, les migraines, les bourdonnements d'oreille et les vertiges (**Pascual et al., 2001**).

### I.2.7.Travaux antérieurs

De nombreux travaux ont été effectués sur *Lippia citriodora* pour connaître la composition chimique, l'effet antioxydant et l'effet antibactérien. Nous présentons ci-après quelques-uns.

Selon Slimani.N (2014), les analyses d'huile essentielle de *Lippia citriodora* ont montré que le citral (11.3%), le limonène (10.6%), 4-phényl undécane- 4-ol (7.7%),  $\alpha$ -curcumène (6.5%) et  $\alpha$ - Cédrol (4.5%) étaient les composants principaux de l'huile. En outre, d'autres composants à teneur légèrement faibles sont rapportés tels que le carvéol (3.7%), linalool (3.5%),  $\beta$  caryophyllène (2.8%) et l'acétate de geranyle (1.8%) (**Slimani.N et al., 2013**).

D'une autre part, L'étude de Saidi.S (2014) donne une idée assez claire sur l'efficacité antioxydante de l'HE de *L.citriodora* mise en évidence par la méthode de DPPH, cette efficacité s'est traduite par des pourcentages d'inhibition des radicaux libres atteint les 73% pour une concentration de 5mg/ml d'huile essentielle de cette plante; avec une concentration d'inhibition de 50 % des radicaux libres  $IC_{50} = (0.0207 \pm 0.008 \text{ mg/ml})$  (**Saidi.S ,2013**).

# ***Les huiles essentielles***

## II. Les huiles essentielles

### II .1.Définition

La définition la plus largement adoptée est très proche de celle de la norme 9235 .il s'agit de la définition adoptée par la commission européenne de pharmacopée : produits parfumés généralement des composés complexes obtenus à partir d'une matière première végétale définie soit par distillation sèche ; soit par l'entraînement à la vapeur ou par des méthodes mécaniques appropriées sans chauffage. les huiles essentielles sont le plus souvent séparées de la phase aqueuse par un processus physique n'entraînant pas de changement dans leur composition (**Desmares et al., 2008**).

### II .2 .Composition chimique

Les HE comportent deux grands groupes, les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents. (**Bruneton, 1999**).

#### II.2.1- Les composés terpéniques

Les principaux constituants des HE sont les hydrocarbures terpéniques( $C_5H_8$ ), dont les plus fréquents les monoterpènes ( $C_{15}H_{16}$ ) et les sesquiterpènes( $C_{15}H_{24}$ ), on peut aussi trouver les terpènes sous forme tri, tétraterpènes ect... (**Allingern, 1976**)

#### II.2.2- Les composés aromatiques

Sont des dérivés du phénylpropane (C6-C3) sous forme d'aldéhyde, alcools, phénol, méthoxy, et dioxyde de méthylène (**Bakkali et al., 2008 ; Bajpai et al., 2012**)

### II.3.Les méthodes d'extraction

Il existe plusieurs méthodes qui permettent d'extraire les huiles essentielles. Les plus utilisées sont la distillation par entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation

#### II.3.1.Hydrodistillation simple

Lors de l'extraction au laboratoire ; la plante doit être mise en contact avec l'eau dans un ballon ,le tout est porté à ébullition; les vapeurs sont condensées dans le réfrigérant et l'huile essentielle est séparée de l'eau par différence de densité (**Benayad, 2008**). C'est la méthode que nous utilisons au sein de notre laboratoire en se servant d'un appareil de type Clevenger.

#### II.3.2 Entraînement à la vapeur d'eau

Dans cette technique l'eau n'est pas mise en contact directe avec la matière végétale à traiter. La vapeur fournie par la chaudière traverse la matière végétale au dessus de la grille. Au fur et à mesure que la vapeur traverse la matière, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle

qui est extraite sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle». Le mélange est transporté vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. (Lucchesi, 2005).

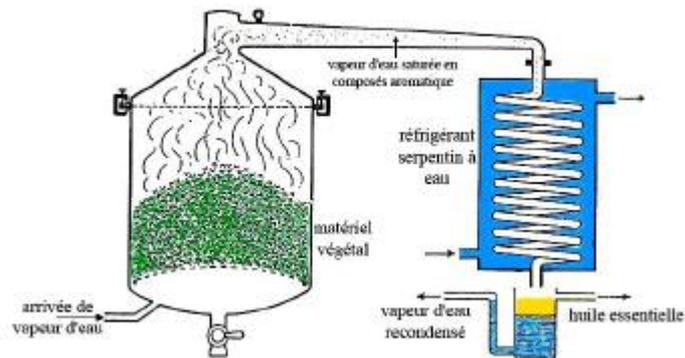


Figure I.4 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau

## I.4.Méthodes d'analyses des huiles essentielles

Plusieurs méthodes existent :

### I.4.1. La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

C'est la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. Elle permet l'individualisation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention (Ir). Le principe est basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire (la colonne). La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur (Audigie et al., 1995)

### I.4.2.Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

Le but de la combinaison entre les deux méthodes « la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse » est de transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse; à ce niveau, ils seront fragmentés en ions de masse variables dont la séparation dépendra de leurs masses (Bruneton.,1999) (Desjobert et al.,1997)

L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres (Poalin .,2005).

### **I.5. Propriétés biologiques des huiles essentielles**

On sait depuis l'antiquité que les HE obtenues à partir de plantes aromatiques et médicinales possèdent des activités antibactériennes ; antifongiques et antioxydantes (**Bratta et al., 1998**).

Les HE ont un large spectre d'action car elles inhibent la croissance des bactéries, des moisissures et des levures. Ces propriétés dépendent de leurs compositions chimiques (**Celikel et Kavas, 2008**).

#### **I.5.1. Propriétés antimicrobiennes**

L'activité antimicrobienne des HE dépend de sa composition chimique, et en particulier de la nature de ses composés majoritaires.

Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, la formation des spores et la synthèse des toxines (**Caillet et al., 2009**).

#### **I.5.2. Propriétés antioxydantes**

Les HE contiennent des antioxydants tels que des terpènes et des composés phénoliques.

Cette propriété est généralement vérifiée in vitro par des méthodes physicochimiques (**Bakkalietal.,2008**).

*Pouvoir antioxydant*

*Et*

*Antimicrobien*

*Des Huiles essentielles*

## III.1 l'activité antioxydante

### III.1.1. Introduction

Dans le but de maintenir la qualité des aliments et les protéger des phénomènes d'oxydations plusieurs antioxydants ont été employés comme additifs alimentaires. Actuellement, plusieurs de ces antioxydants synthétiques peuvent être toxiques comme le BHT (Butyl Hydroxy Toluene) et le BHA (Butyl Hydroxy Anisole) (**Yu et al., 2000**).

Des recherches ont été faites pour remplacer les conservateurs synthétiques par des antioxydants naturels. Dans ce contexte, les extraits naturels des plantes ont fait l'objet de plusieurs études. Ces extraits possèdent des propriétés antioxydantes importantes. Cette propriété est due à la présence des polyphénols (extraits), des composés phénoliques, des monoterpènes oxygénés et aussi des monoterpènes hydrocarbonés (les huiles essentielles).

### III.1.2 Le stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses antioxydantes. (**Diallo, 2005**) résultant, soit d'un manque de capacité antioxydante, soit d'une augmentation des radicaux libres, ce qui conduit à des dommages cellulaires.

Les origines de ce déséquilibre sont nombreuses, elles peuvent être environnementales comme : l'exposition prolongée au soleil, la lumière UV, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et de médicaments, les phénomènes inflammatoires chroniques ou aigus, la pollution et les additifs alimentaires. (**Thanan et al., 2014**).

### III.1.3 Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (molécules ou atomes) qui possèdent un ou plusieurs électrons célibataires sur leurs périphéries, ce qu'ils les rend instables (**Durand et al., 2013**). Ils sont très réactifs et répartis en espèces réactives de l'oxygène (ERO) et en espèces réactives de l'azote (ERN) (**Sosa et al., 2013**).

Ces derniers endommagent la vie cellulaire en causant l'oxydation des lipides, des protéines et de l'acide désoxyribonucléique (ADN). L'évolution de cette oxydation semble être la cause de plusieurs maladies telles que le diabète, le cancer, les infections inflammatoires, les maladies cardiaques et accélèrent le processus de vieillissement (**Dasgupta et De, 2007**).

**Tableau I.4 :** Liste des principaux radicaux libres.

Radical	Formule
Anion superoxyde	O <sub>2</sub> <sup>-</sup>
Peroxyde d'hydrogène	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Hydroxyle	OH
Peroxyle	ROO <sup>-</sup>
Hydroperoxydes	ROOH
Alcoxyles	RO
Oxygène singulet	1/2O <sub>2</sub>
Oxygène nitrique	NO

### III.1.4 Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules qui aident le corps à lutter contre les radicaux libres, afin qu'ils deviennent inoffensifs ( **Lévy-Dutel ,2011** ) .ils peuvent être classés en deux groupes selon le niveau de leur action : les antioxydants endogènes et les antioxydants exogènes :

#### III.1.4.1 Les antioxydants endogènes (enzymatiques)

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes (Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborées par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (**Mika et al., 2004**).

#### III.1.4.2 Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

Ils sont présents dans l'alimentation tels que les vitamines A, C, E et les polyphénols en particulier les flavonoïdes, ainsi que les cofacteurs des enzymes impliquées dans les systèmes antioxydants endogènes comme le sélénium, le zinc et le manganèse.

**Tableau I.5** : Principaux antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin-Ramonatxo, 2006) et leur rôle contre les maladies.

Antioxydant	Sources alimentaires	Protège contre
<b>Vitamine C</b>	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron	Les maladies cardiovasculaires, les cataractes, et certains types de cancer
<b>Vitamine E</b>	Huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, oeufs ,noix	Les maladies cardiaques et cancer de la prostate, ralentit la maladie d'Alzheimer
<b>Caroténoïdes</b>	Légumes et fruits orangés, et vert foncés	Les cancers, en particulier le cancer du poumon, et les maladies cardiovasculaires
<b>Flavonoïdes</b>	Fruits, légumes, thé vert	Cancer
<b>Sélénium</b>	Poisson, œufs, viandes, céréales, volaille	Réduction de l'incidence des cancers de la prostate, du côlon et du poumon

### III.1.5.Mode d'action des HEs

Certaines huiles essentielles sont également d'excellents antioxydants. Elles agissent à deux niveaux :

- ❖ **Action antioxydante directe** : par une neutralisation directe des radicaux libres déjà formés (eugénol, menthol, carvacrol, thymol, 1,8 cinéole, salicylate de méthyl,  $\gamma$ -terpinène).
- ❖ **Action antioxydante indirecte** : par une activation des mécanismes cellulaires de neutralisation des radicaux libres (cinnamaldéhyde, citral, safranal). Par ailleurs, les huiles essentielles de carvi, fenouil, ou gingembre permettent de stimuler les systèmes antioxydants intrinsèques à la cellule.

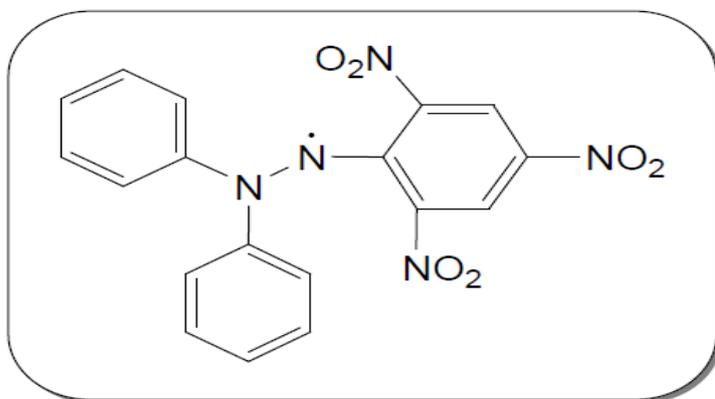
## III.1.6.Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes in vitro

Il existe plusieurs méthodes spectrométriques pour évaluer la capacité antioxydante, la plupart de ces méthodes sont basées sur la mesure de la consommation de radicaux libres préalablement formés comme les peroxydes ROO•.

Parmi les tests les plus utilisés, nous présenterons ceux couramment cités : la méthode du DPPH (Diphényl Picrylhydrazyle) et la méthode de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*).

### ❖ La méthode du DPPH

Le 2,2-diphényl-2-picrylhydrazyle est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH•, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon. Cette méthode est fondée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH• (Parejo *et al.*, 2003).



**Figure.I.5:** Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2DiPhenyl-1-Picryl Hydrazyl).

### ❖ Test FRAP (Ferric reducing ability power)

La méthode FRAP peut être une bonne méthode pour le calcul du pouvoir antioxydant d'un extrait en évaluant son pouvoir de réduction du cation ferrique.

Cette technique consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ] de couleur jaune en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ] de couleur bleu, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron. La variation de la coloration est mesurée à 700 nm (Lamien- Meda *et al.*, 2008).

## III.2 L'activité antimicrobienne

### III.2.1 Introduction

L'utilisation des antibiotiques pour lutter contre des micro-organismes pathogènes est limitée en raison de leurs effets cancérigènes, leur toxicité aiguë et la résistance des bactéries, ce qui a incité les chercheurs à rechercher de nouvelles molécules antimicrobiennes pour inhiber les diverses bactéries pathogènes (Rudramurthy *et al.*, 2016). À cet égard, l'utilisation des huiles essentielles et des extraits de plantes est devenue utile pour lutter contre plusieurs maladies infectieuses (Mulyaningsih *et al.*, 2010).

### III.2.2 Activité antibactérienne

Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (Carson *et al.*, 2002). Les HEs agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines.

(Smith-Palmer *et al.*, 2001) ont montré que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'effet des huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif qui se caractérisent par une membrane externe imperméable. Selon Cristiani, cette imperméabilité est due à la richesse de cette membrane en lipo-polysaccharides la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (Cristiani *et al.*, 2007).

De nombreuses études ont été réalisées en vue de l'estimation du pouvoir antibactérien de certaines HEs, par exemple l'huile essentielle d'Origan a causé une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique d'*E. coli* provoquant une rupture et entraînant une fuite du contenu cytoplasmique.

Un pouvoir antibactérien des composants actifs de l'huile essentielle du Romarin tel que le cinéole, le camphre et l' $\alpha$ -pinène, a été confirmé (Rožman et Jersek, 2009).

Les composés avec la plus grande efficacité antibactérienne et le plus large spectre sont des phénols : thymol, carvacrol et eugénol. Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, virales et parasitaires (Zambonelli *et al.*, 2004.)

### III.2.3 Activité antifongique

Les huiles essentielles constituent une source potentielle pour des nouveaux médicaments antifongiques (**Peralta et al., 2015**).

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs peuvent être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes (**Lis-Balchin, 2002**).

Les composés phénoliques des huiles essentielles modifient la perméabilité cellulaire fongique en interagissant avec les protéines de la membrane. Cela provoque la déformation de la structure cellulaire, ainsi une inhibition de la croissance fongique (**Pramila, et al., 2012**).

L'exposition des cellules fongiques à l'HE peut également perturber la dépolarisation de la membrane mitochondriale en agissant sur les canaux d'ions, ce qui provoque une diminution du potentiel membranaire et une perte d'électrolytes. Ce changement dans la fluidité des membranes peut entraîner l'apoptose des cellules conduisant à la mort cellulaire (**Yoon et al., 2000**). Chez la levure, l'HE établit un potentiel membranaire en perturbant la production d'ATP, ce qui conduit à la lyse cellulaire (**Aleksic et Knezevic, 2014**).

**Papajani et al., (2015)** ont rapporté l'activité antifongique de l'huile essentielle de romarin sur des champignons phytopathogènes tels que *Botrytis cinerea* et *Pleomorphomonas oryzae*.

### III.2.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne (Arromatogramme)

Les méthodes utilisées pour évaluer l'activité antimicrobienne *in vitro* des HES sont nombreuses les plus utilisées sont :

- La méthode de diffusion sur gélose (sur des disques de papier ou dans des puits)
- La méthode de dilution (dans un milieu liquide ou solide).
- La méthode de micro-atmosphère.

#### III.2.4.1 .Méthode de diffusion sur gélose

La technique est basée sur le principe que les agents antimicrobiens, de concentration spécifique diffuseront dans le milieu et inhiberont la croissance des microorganismes sensibles, résultant en une zone d'inhibition

Ce test est réalisé par dépôt de l'huile essentielle, à l'aide de disques de cellulose imprégnés d'une quantité connue de l'huile essentielle (aromatogramme) ou de puits creusés dans une gélose spécifique (Mueller-Hinton) et remplis par l'huile essentielle.

Les diamètres des zones d'inhibition permettent d'apprécier la sensibilité des germes. Après incubation, la lecture des résultats est rapportée par la mesure des diamètres des zones

d'inhibitions en (mm). Les zones doivent être uniformément circulaires (**Richard et Coll., 2007**).

### **III.2.4.2 Méthode de dilution :**

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée(CMI).

#### **❖ Dilution en milieu liquide :**

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (microdilution).

Après incubation durant 18 heures, les valeurs des CMI sont mesurées.

#### **❖ Dilution en milieux solide :**

Le principe de la technique est le même qu'en milieu liquide, l'antibiotique est incorporé dans un milieu de culture solide (gélose) pour contrôler la croissance.

### **III.2.4.3 .Micro-atmosphères (ou méthode en phase vapeur)**

Cette méthode consiste à déposer un disque de papier filtre imprégné de l'huile essentielle au centre du couvercle d'une boîte de pétri, sans que l'huile essentielle entre en contact avec la géloseensemencée par les micro-organismes. La boîte est fermée et placée couvercle en bas à l'étuve à 37°C .

Une évaporation des substances volatiles a été produite dans l'enceinte de la boîte et les cellules sensibles de l'inoculum sont inhibées.

Après l'incubation, la croissance est comparée à celle du témoin. La quantité minimale inhibitrice est définie comme la plus petite quantité pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin sans produit (**De Billerbeck et al., 2002**).

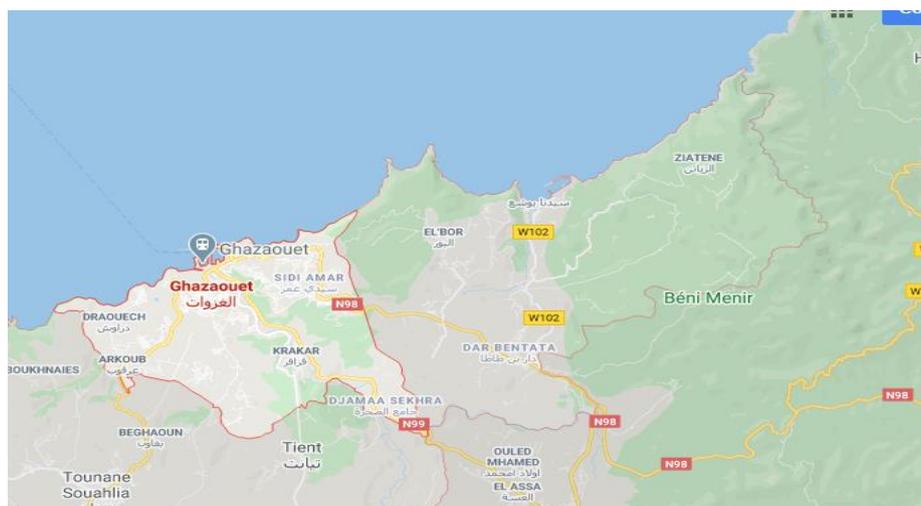
# *Chapitre II*

## *Matériels et méthodes*

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été effectués au niveau du laboratoire pédagogique des substances naturelles et bioactives (**LASNABIO**) du département de chimie de l'université de Tlemcen (Abou Bekr Belkaid).

### II.1 Provenance et identification du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est la partie aérienne (feuilles et tiges) de trois plantes. Il s'agit d'*Ammoide verticillata*, *Satureja Calamintha (Nabta)* et *Lippia Citriodora* récoltées au mois de février 2020 dans la région de Ghazaouet [458m, 35°06'11.31'' N, 1°51'04.62''O].



**Figure II.1 :** Situation géographique de la région étudiée.

L'identification de ces plantes a été faite par le professeur **MEDJAHEDI** (Laboratoire de botanique d'Ecologie et gestion des écosystèmes de l'Université de Tlemcen)

### II.2 Conservation du matériel végétal

Après la récolte, le matériel végétal est nettoyé, (débarrassé des débris). Puis on procède à sa dessiccation comme suit : On l'étale sur du papier et on le laisse sécher à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante.

Une fois séché, il est conservé dans des sacs en papier pour être soumis après à l'extraction.

### II.3 Extraction des huiles essentielles

Dans cette étude, la méthode d'extraction utilisée est l'hydrodistillation via un appareil de type clevenger. Le principe de cette méthode se résume en trois étapes : l'hydrodiffusion,

la co-distillation et la coalescence. On introduit la matière végétale séchée dans un ballon de 6L avec la quantité d'eau nécessaire à l'émerger ; l'ensemble est porté à ébullition durant 4h à 5h : les substances odorantes contenant l'extrait se vaporisent en se mélangeant avec la vapeur d'eau, elles se condensent et tombent dans le collecteur. Ainsi, On récupère le distillat constitué d'une phase aqueuse légèrement parfumée, appelé *hydrolat*, et une phase organique contenant l'extrait très parfumé « *huile essentielle* ». Nos échantillons ont été conservés jusqu'à leur utilisation au réfrigérateur à 4°C dans des tubes fumés en verre stériles et bien fermés.



**Figure II.2 :** Montage d'hydrodistillation

### II.4. Préparation des extraits

L'opération consiste à introduire dans un soxhlet de 100 mL une cartouche de papier filtre contenant 10g de matière végétale coupée finement ou mise en poudre, cet extracteur est placé sur un ballon contenant 180 ml de méthanol. Le solvant est porté à ébullition, les vapeurs de ce dernier passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le siphon, faisant ainsi macérer la matière végétale dans le solvant. Celui-ci, condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à ce que le solvant atteigne un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute.



**Figure II.3:** Système d'extraction au Soxhlet.

Ce cycle peut être répété plusieurs fois (plusieurs cycles), L'extrait obtenu est filtré et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif.

### II.4.1 Préparation des extraits méthanoliques

L'extrait méthanolique du matériel végétal des trois plantes a été préparé à l'aide d'un Soxhlet. selon la méthode décrite par (**Sokmen *et al.*, 1999**), le matériel végétal broyé (10 g) est placé dans une cartouche qui sera mise en contact avec le solvant d'extraction qui est le méthanol absolu (140 ml) à 60°C pendant 6h. La cartouche est ensuite retirée et le solvant est filtré sur papier Whatman (n°3), puis concentré grâce à un évaporateur rotatif à une température de 45°C.



**Figure II.4:** Récupération d'extrait après macération



**Figure II.5:** Évaporateur rotatif

### II.4.2 préparation des extraits aqueux

10 g de poudre de chaque plante a été porté à reflux pendant 1 heures dans 400 ml d'eau distillée, puis filtrée ; ce filtrat a été ensuite évaporé à sec sous pression réduite à 65°C au Rotavapor (Büchi R-200). Le résidu obtenu est déterminé en poids pour calculer le rendement (Majhenic et al., 2007).



**Figure II.6 :** Montage à reflux

### II.5.Extraction d'hydrolat

L'hydrolat a été obtenu, en récupérant le premier litre d'eau provenant de l'hydrodistillation. l'eau aromatique a été soumise à une extraction liquide /liquide avec 300 ml d'éther diéthylique . La phase organique a été évaporée par un évaporateur rotatif en donnant une huile jaunâtre « l'extrait de l'hydrolat ».

De même que les huiles essentielles, les extraits des hydrolats sont conservés dans des piluliers en verre ambré à 4°C.

### II.6 Détermination des rendements en huiles essentielles et des extraits

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle (ou d'extrait) obtenue et la masse du matériel végétal que nous avons utilisé.

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt}\% = (m_n / m_{n'}) \times 100.$$

**Rdt** = rendement en huile essentielle (ou d'extrait) en %.

**$m_n$**  = masse des huiles essentielles (ou des extraits) récupérée en gramme (**g**).

**$m_{n'}$**  = masse de la matière végétale en gramme (**g**).

### II.7 Tests phytochimiques

Les extraits méthanoliques obtenus ont été soumis à divers tests phytochimiques en vue de mettre en évidence les différents métabolites secondaires présents dans les trois plantes par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation, de coloration par des réactifs spécifiques et des observations sous lumière ultraviolette.

- **Les flavonoïdes [Karumi et al., 2004] :**

À 5 ml de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes d'HCl concentré et quelques milligrammes de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange.

- **Les tanins [Karumi et al., 2004]**

Un volume de 2 ml de chacun des deux extraits, est additionné à 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl<sub>3</sub> à 1%. Après quelques minutes d'incubation, le chlorure ferrique développe une coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleu-noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques.

- **Les alcaloïdes [Majob, 2003]**

Pour chaque extrait on réalise la procédure suivante : on ajoute 5 ml d'HCL 1% à 1ml de chaque extrait, le tout est chauffé au bain marie, puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

Les réactifs de Mayer et de Wagner sont préparés comme suit :

- **Réactif de Mayer** : Dissoudre 1.358 g d'HCl2 dans 60ml d'eau distillée puis 5g de KI dans 10ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100 ml.
- **Réactif de Wagner** : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2 g de KI et 1.27 g de I2. Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée.

- **Les quinones libres [Oloyede, 2005]**

Sur un volume de chacun de nos extraits, quelques gouttes de NaOH à 1% sont ajoutées. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

- **Les terpénoïdes [Edeoga et al., 2005]**

À 5 ml de chaque extrait, on ajoute 2 ml de chloroforme et 3 ml de H2SO4 concentrée. La présence des terpénoïdes est révélée par l'apparition de deux phases et une couleur marron en interphase.

- **Les coumarines [Benmehdi, 2000]** Fluorescence UV

Une quantité de quelques milligrammes de chaque extrait est solubilisée dans 2 ml d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales dont :

- La première représente un témoin.
- La deuxième est traitée avec 0.5 ml de NH4OH à 10%.

L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines.

- **Les anthraquinones [Oloyede, 2005]**

À 10 ml de chacun de nos extraits, on ajoute 5 ml de NH4OH à 10% et on agite. L'apparition de couleur violette indique un test positif.

- **Les saponines : test de mousse**

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm de mousse indique la présence de saponines.

### II.8. Évaluation de l'activité anti-oxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer les activités antioxydantes des extraits volatils des plantes aromatique. L'activité antiradicalaire des extraits aqueux d'*Ammoides verticillata*, *C.nepeta*, et *Lippia citriodora* a été évaluée par la capacité de balayage du radical libre DPPH. L'efficacité du composé à piéger des radicaux libres se compare avec celle d'un antioxydant de référence.

#### ❖ Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre qui présente une absorbance dans le visible a une longueur d'onde comprise entre 515 et 520nm. Il se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables, ce qui donne lieu à une coloration violette de la solution,

Le principe de cette méthode est basé sur la mesure de la capacité des antioxydants présents dans le milieu à piéger le radical DPPH• qui est réduit sous la forme diphényl picrylhydrazine DPPH-H (non radical) en acceptant un électron ou un atome d'hydrogène, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (Sanchez-Moreno et al., 1998).

La réduction de ce dernier par un composé possédant des propriétés antiradicalaires engendre une décoloration de la solution qui vire vers le jaune pâle, dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité de l'antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron (Sanchez-Moreno et al., 2007).

On peut résumer la réaction comme ci-dessous:

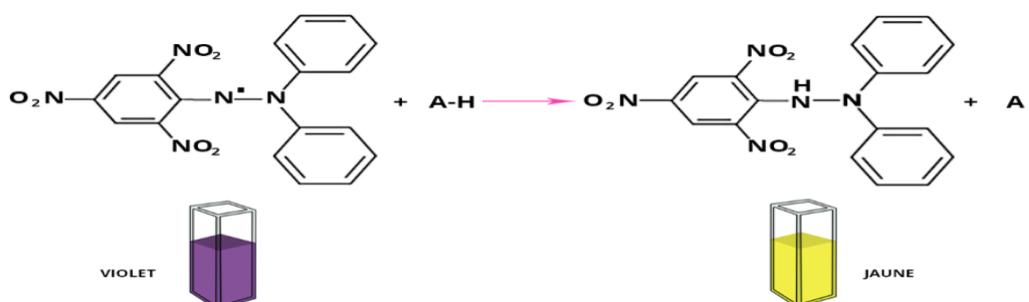


Figure II.7 : Réaction d'un donneur d'hydrogène avec le radical DPPH.

#### ❖ Mode opératoire

Une solution méthanolique de DPPH a été préparée en solubilisant 0.006g de DPPH dans 100mL de méthanol (solution violette), Cette solution est ensuite emballée dans du papier

aluminium et conserver dans le frigo à l'abri de la lumière et l'air afin d'éviter toute dégradation.

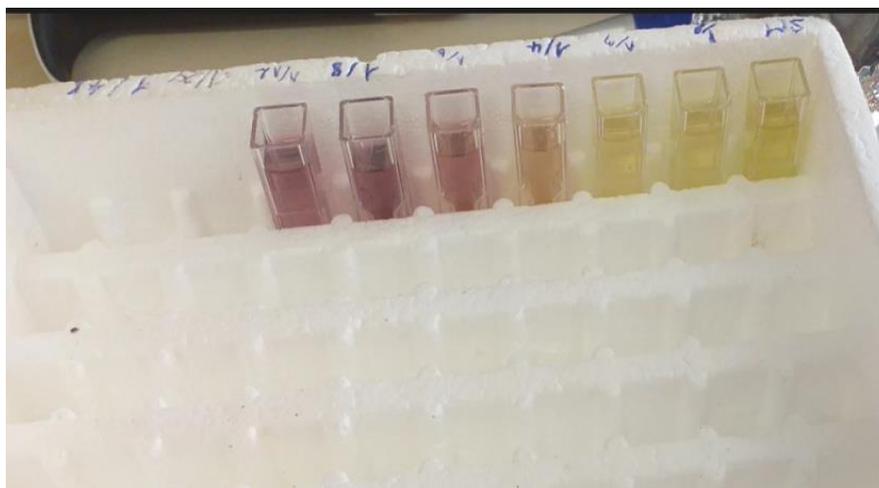
Les échantillons des extraits végétaux ont été préparés par dissolution aussi dans le méthanol à raison de 0.001g/ml pour *A.verticillata*, 0.003 g/ml pour *L.citriodora* et 0.002 g/ml pour *C.nepeta*.

Ces solutions dites solutions mères, subiront ensuite des dilutions ajustées à un volume de 1mL.

Dans des tubes à hémolyses, 1ml de chaque dilution a été introduit ainsi qu'un volume complémentaire de 1ml de la solution méthanolique de DPPH, suivie par une incubation durant 30 min en obscurité à température ambiante. Enfin la mesure des absorbances était effectuée à une longueur d'onde de 517nm par un spectrophotomètre ultraviolet contre le blanc contenant du méthanol pure et le contrôle négatif contenant (1mL de méthanol + 1mL de DPPH).

Pour chaque échantillon nous avons préparé un contrôle positif constitué d'une solution d'acide ascorbique et de BHT (antioxydants de référence) dont l'absorbance sont mesurées dans les mêmes conditions que l'échantillon testé.

Tous les tests sont réalisés en triplet.



**Figure II.8** Réduction du radical DPPH du violet au jaune.

### ❖ Calcul des pourcentages d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire est estimé selon l'équation ci-dessous :

$$I\% = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

Où : I% : Pourcentage inhibition.

AC : Absorbance du contrôle.

AE : Absorbance de l'échantillon.

### ❖ Calcul des CI50

La concentration inhibitrice de 50% (appeler également EC50- Efficient concentration 50) est défini comme étant la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radicale DPPH (DPPH•). Les CI50 sont calculées graphiquement pour chaque extrait par la formule de la régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des échantillons testés (Molyneux, 2004).

### II.9. Évaluation de l'activité antimicrobienne :

Les huiles essentielles ont un spectre d'action antibactérienne très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement en fonction de leur composition chimique.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose dite méthode de diffusion de disques ou l'aromatogramme (Rahal et al., 2005).

#### ❖ Principe

Cette technique repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. Elle permet d'évaluer l'activité inhibitrice de croissance des huiles essentielles par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque imprégné d'huile essentielle ou d'extrait, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante.

#### ❖ Les milieux de culture

- La gélose nutritive (GN) pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- La gélose Mueller Hinton (M-H) pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux HEs.
- Le milieu PDA (Pomme de terre Dextrose Agar) pour les cultures fongiques.

### **❖ Méthodes**

#### **1. Préparation de l'inoculum**

Chaque culture doit êtreensemencée par la méthode des stries sur une gélose nutritive pour obtenir des colonies isolées. Après une incubation d'une nuit à une température de 37°C,

- Prélever 4 à 5 colonies bien isolées avec une anse de platine et les émulsionner dans un tube contenant 10mL de bouillon nutritif.
- Après la préparation de la suspension bactérienne et l'homogénéisation, la densité optique doit être de 0.08 à 0.1 mesuré à 625 nm en utilisant l'étalon de Mac Farland 0.5(10<sup>8</sup>UFC/mL)
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau distillée stérile s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum.

#### **2. Ensemencement des boîtes**

- 20mL de gélose de Mueller-Hinton en surfusion sont coulés dans des boîtes de Pétri de 90mm de diamètre.
- Les boîtes doivent être sécher, elles sont introduites dans l'étuve à 37°C pendant 30 mn avant de les ensemenecer afin d'éliminer l'humidité.
- 1mL d'inoculum bactérien est déposé et étalé sur la totalité de la surface gélosée à l'aide d'un étaloir. de haut en bas, en stries serrées Répéter l'opération deux fois.

#### **3. Application des disques**

- A l'aide d'une pince stérile, 4 disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre, sont imprégnés d'une petite quantité des extraits ou huiles essentielle (plus de 20 µl par disque) et déposés dans chaque boîte testée.
- Laisser les boîtes un quart d'heure à la température ambiante avant de les incuber à 37°C, pour que le contenu des disques diffuse dans le milieu.
- Les boites de Pétri sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Les résultats obtenus sont comparés à celui de l'antibiotique testé sur les mêmes souches et par la même méthode.

La même procédure de l'activité antibactérienne a été suivie pour tester l'activité antifongique, sauf le milieu de la culture PDA et la durée d'incubation est de 5 jours.

### 4. Lecture des antibiogrammes

Mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse, elle a été réalisée à l'extérieur de la boîte pour les milieux. Plus la zone d'inhibition mesurée est grande, plus le germe est sensible.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance fongique est calculé par la formule suivante :

D test : diamètre de la zone d'inhibition.  
D control : diamètre de la boîte de pétri

$$\% \text{ Inhibition} = (D_{\text{test}} / D_{\text{control}}) \times 100$$

Selon **Barros et Coll. (2007)**, l'activité antimicrobienne est exprimée en zones d'inhibition comme suit :

- Diamètres inférieurs à 7 mm : *aucune activité antimicrobienne* (-)
- Diamètres de 7 à 9,9 mm : *activité antimicrobienne faible* (+)
- Diamètres de 10 à 11,9 mm : *activité antimicrobienne moyenne* (++)
- Diamètres de 12 à 15 mm : *activité antimicrobienne élevée* (+++)
- Diamètres supérieurs à 15 mm : *activité antimicrobienne forte* (++++)

Les mêmes étapes sont réalisées pour la méthode de diffusion en puits. Des trous (puits) dans la gélose sont découpés avec la partie inférieure de pipette pasteur de 5mm de diamètre.



**Figure II.9** : La méthode des puits

# *Chapitre III*

## *Résultats et discussion*

### III.1 Partie chimique :

#### III.1.1 Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles des espèces étudiées sont très aromatiques. Leurs caractères organoleptiques sont déterminés par des tests olfactifs et reportés dans le tableau (III.1) :

**Tableau III.1:** Caractéristiques organoleptiques des différentes plantes étudiées.

Huiles essentielles	Couleur	Aspect	Odeur
<i>A. verticillata</i>	jaune	Liquide huileux	Forte et épicée
<i>C. nepeta</i>	Jaune pale	Liquide huileux	Aromatique et fraîche
<i>L.citriodora</i>	Jaune	Liquide huileux	Agréable citronnée

L'odeur d'une huile essentielle est un caractère organoleptique déterminant de sa qualité. L'analyse des huiles essentielles est un élément de très grande valeur puisqu'il permet d'en étudier la première caractéristique qu'offre la plante. Généralement les huiles essentielles sont des liquides huileux, volatils, caractérisées par une forte odeur, colorés et généralement moins denses que l'eau (Miguel, 2010). L'arôme de chaque huile essentielle est le résultat de la combinaison de tous les constituants, car même les composés minoritaires peuvent jouer un rôle important dans la définition de l'odeur (Sangwan et al., 2001).

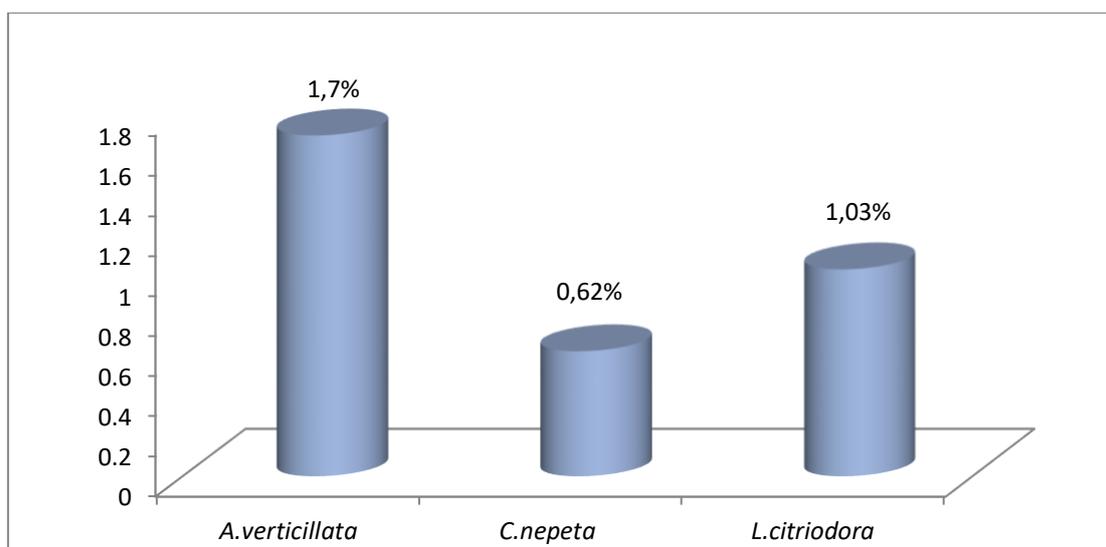
Ces caractéristiques sont en accord avec ceux reportées par (Taleb-Toudert et al., 2002) qui ont analysé les huiles essentielles de *Lippia citriodora*.

#### III.1.2 Rendement en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles, est calculé en fonction de la masse du matériel végétal sec les résultats sont reportés sur le tableau III.2 :

**Tableau III.2:** Le rendement des H.E

Plante	poids végétale (g)	poids totale d'HE (g)	rendement en HE (%)
<i>A. verticillata</i>	110 g	1.87 g	1.7
<i>C. nepeta</i>	126g	0.78g	0.62
<i>L.citriodora</i>	60g	0.61g	1.03



**Figure III.1 :** Rendements en huiles essentielles (%) de trois plantes.

Nous remarquons que le rendement en huile essentielle d'*A.verticillata* est le plus élevé, de l'ordre de 1.7%, suivi par celui de *L.citriodora* (1.03 %). Alors que *C.nepeta* présente un rendement faible de 0,62%.

Les travaux de **Bekhechi et al., (2010)** sur la plante *A.verticillata* dans les régions de Tlemcen et d'Ain-Temouchent rapportent des rendements d'extraction en HE qui varient de 2.1 à 5.4%.

**D'après El Ouariachi et al., (2011,2015)** ; l'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation de la partie aérienne d'*Ammoides verticillata* récoltées à partir de Ahfir (Maroc) donne des rendements de 2%.

D'autres rendements (exprimés en % : P/P) ont été rapportés par d'autres études pour la même plante : 2.51% par **Bnouham et al., (2012)**, dans la région d'Oujda (Maroc), 2.8% par **Khajeh et al, (2004)**, 2.7 par **Bendahou, (2007)** (Tlemcen), 2.1% par **Hashemi et al., (2014)** (Iran) et 2.5% par **Nickavar et al., (2014)** (Iran).

Généralement le rendement des huiles essentielles varie d'une famille botanique à une autre ; d'une espèce à une autre et même entre les plantes de la même espèce. De plus; cette différence de teneur en huile essentielle peut être liée à plusieurs facteurs tels que :

- La zone géographique de collecte.
- Le climat.
- Le moment de la collecte et la méthode d'extraction (**Besombes ; 2008**).

**(Panizzi et al.,1993)** ont travaillé sur *Calamintha nepeta* de Molina di Quosa de l'Italie, récoltée durant le mois de juillet, d'un sol de nature rocheuse, sec et calcique situé à une

hauteur de 300 m par rapport au niveau de la mer. *C.nepeta* de cette région a donné un rendement de 0.60%, presque identique à notre résultat. Ceci montre que certains facteurs tels que : la nature du sol, le climat, la qualité de la matière végétale utilisée peuvent influencer la sécrétion d'huiles essentielles chez une plante.

Les échantillons de la verveine citronnelle provenant de la région de Kabylie en Algérie, ont marqué un rendement important de 0,29 % supérieur à celui rapporté par Belkamel (2003) qui est de 0,17 % **Taleb-Toudert et al., (2002)**.

Dans une étude faite par **Hmamouchi (2006)**, le rendement en HE de *Lippia citriodora* des feuilles sèches ont présenté un meilleur rendement (0.4%) suivi des feuilles fraîches (0.15-0.2%) et enfin, le rendement le plus faible a été obtenu pour la plante entière fraîche (0.07-0.1%) (**El-Hmamouchi, 2006**).

Tous ces résultats, ont servi comme base pour dire que les différences des teneurs en HES sont étroitement liées aux conditions climatiques ; la situation géographique, l'altitude et la nature du sol.

### III.1.3. Extraction aqueuse et méthanolique

L'extraction par les solvants est une étape essentielle pour la préparation des extraits de plantes. Cependant, le choix des solvants d'extraction influence les rendements en métabolites secondaires des extraits. En effet, **Khoddami et al., (2013)** ont montré que le méthanol et l'eau ainsi que leur mélange à différents ratios sont les solvants les plus utilisés pour une meilleure récupération de composés phénoliques.

L'extraction aqueuse et l'extraction méthanolique ont été faites après avoir séché la plante à l'ombre et l'avoir rendu en poudre. En fait, l'utilisation d'un matériel sec est recommandée du moment que les flavonoïdes (particulièrement les glycosides) peuvent être soumis à une dégradation enzymatique quand le matériel végétal est frais ou non séché (**Marston et Hostettmann, 2006**). De plus, les fermentations microbiennes causées par l'humidité peuvent être la cause de cette dégradation (**Seidel, 2005**). Le séchage de la plante à l'obscurité prévient les transformations chimiques telles que l'isomérisation et la dégradation causées par les radiations ultraviolettes de la lumière solaire (**Jones et Kinghorn, 2005**).

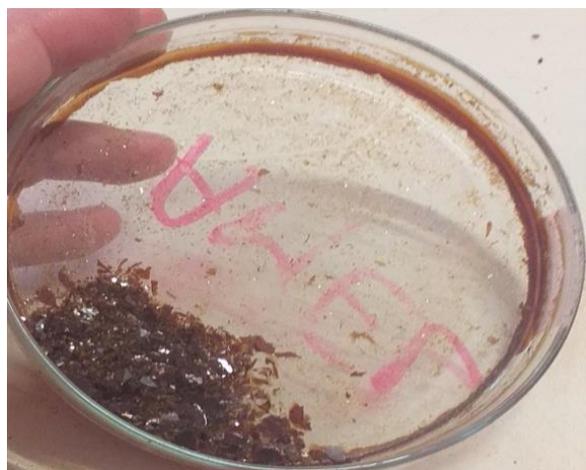
L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction du fait de rendre l'échantillon plus homogène, augmenter la surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage.

Selon la méthode de Bougandoura et Bendimerad (2012) modifiée, les deux extraits (Aq et Mét) ont été préparés à partir des parties aériennes de trois plantes. C'est une méthode

d'extraction par décoction et macération dans des solvants polaires : l'eau et le méthanol. Les extraits obtenus ont des couleurs et des aspects différents.

**Tableau III.3** : La couleur et l'aspect des deux extraits méthanolique et aqueux

Extrait	Aspect	Couleur
Aqueux	Poudre	Marron clair
Méthanolique	Pâteux	Marron foncé



**Figure III.2** : Extrait aqueux



**Figure III.3**: Extrait méthanolique

### III.1.3.1 .Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale.

Après extraction et récupération des extraits (l'extrait aqueux a été récupéré sous forme de poudre et l'extrait méthanolique récupéré sous forme de pâte hygroscopique), le rendement a été déterminé par rapport à 100 g de matière végétale sèche exprimé en pourcentage massique (p/p).

**Tableau III.4:** Rendements des extraits aqueux et méthanolique de trois plantes étudiées.

Extraits des plantes		Rdts (%)
<i>A. verticillata</i>	Extrait Aq	35.22
	Extrait Met	4.7
<i>C. nepeta</i>	Extrait Aq	11.69
	Extrait Met	3.5
<i>L.citriodora</i>	Extrait Aq	12.49
	Extrait Met	3.98

Les rendements d'extraction obtenus dépendent à la fois de la plante étudiée et aussi du solvant d'extraction ( le rendement augmente avec l'augmentation de polarité des solvants utilisés). On constate que quelque soit la plante étudiée, le rendement d'extrait aqueux est toujours plus élevé que celui d'extrait méthanolique .Par ailleurs, les rendements obtenus à partir de la partie aérienne d' *A. verticillata* pour les deux extraits Aq et Met sont les plus élevés (35.22% et 4.7 % respectivement), suivis de l'extrait de *L.citriodora* avec un rendement de 12.49% et 3.98%. Alors que celui obtenu à partir de la partie aérienne de *C.nepeta* est le plus faible avec un rendement de 11.69% et 3.5% .

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre mais également en fonction de plusieurs paramètres tels que le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Quy Diem Do et al., 2014**).

Il a été démontré que l'extraction par les solvants à température élevée permettait d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs que lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante (**Majhenic et al., 2007**) et qu'ils sont plus élevés pour l'extrait aqueux que méthanolique (**Majhenic et al., 2007**) ce qui est en accord avec nos résultats.

D'autre part, Su et ses collaborateurs (2006) ont rapporté que le rendement des extractions aqueuses augmente avec la température. Cela est expliqué par le fait que l'eau à haute température provoque la perturbation des cellules facilitant la pénétration du solvant et la solubilisation des molécules (**Albano et Miguel, 2010**).

La chaleur peut, cependant, conduire à la dégradation des molécules thermolabiles (**Seidel, 2005**)

Selon **Rhazi et al., 2015**, la progression de temps d'extraction comme dans le cas de la macération qui est lente (6 heures) par rapport à la décoction (1 heure) peut diminuer le

rendement de l'extrait et cela peut être dû à la dégradation de certaines substances naturelles comme les polyphénols.

Par ailleurs, l'extrait sec ne renferme pas uniquement des polyphénols et des flavonoïdes, il contient également d'autres substances naturelles (BÉKRO *et al.*, 2007 ; Kebièche *et al.*, 2011). Dans notre cas, les substances solubles dans l'eau sont probablement présentes en quantité importante et c'est l'une des causes essentielles de l'augmentation du rendement.

Selon Bougandoura (2011), le rendement en extrait méthanolique de *Calamintha* est de 8,58%. Ce rendement est évidemment supérieur à celui trouvé dans notre étude. Cela est peut être due à la différence des techniques d'extractions utilisées qui affectent ainsi le taux total en phénols et flavonoïdes (Lee *et al.*, 2003).

### III.1.4. Tests phytochimiques

Les résultats du screening phytochimique des extraits méthanoliques de la partie aérienne d'*A.verticillata*, *C.nepeta* et *L.citriodora*, sont représentés dans le tableau 5.

**Tableau III.5:** Résultats expérimentaux des tests phytochimiques effectués sur les différentes plantes étudiées.

Les tests phytochimiques		les plantes étudiées		
Métabolites secondaire	Réactifs	<i>A.verticillata</i>	<i>C .nepeta</i>	<i>L.citriodora</i>
Alcaloïdes	Mayer	-	--	-
	Wagner	-	--	-
Flavonoïdes	Hcl+mg <sup>+2</sup>	+	+	-
Tanins	FeCl <sub>3</sub> 1%	+	+	+
Les quinones libres	NaOH 1%	+	+	+
Terpenoïdes	Chloroforme+ Acide sulfurique	+	+	+
Coumarines	NaOH+NH <sub>4</sub> OH	+	+	+
Anthraquinones	NH <sub>4</sub> OH	-	-	-
Saponines	Test de mousse	+	-	+

Les résultats sont classés selon : Réaction négative : - Réaction positive : +

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires présents dans nos extraits ; la détection de ces composés est basée sur des essais de solubilité ; de turbidité et de changement de coloration (**Bentabet et al., 2014**).

Les tests de la composition réalisés sur nos extraits relèvent la présence des tanins, les quinones libres, les terpénoïdes et les coumarines.

La présence des tanins et des flavonoïdes confère à cette plante des propriétés biologiques très importantes.

Les tanins possèdent une forte activité antioxydante, ce sont de très bons pièges à radicaux libres et ils inhibent la formation de radicaux superoxydes (**Bediaga, 2011**).

Les coumarines présentent des activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, vasodilatatrices, anticoagulante, elles sont aussi bénéfiques en cas des affections cutanées. (**González-Gallego et al., 2007**).

On note ainsi l'absence des alcaloïdes et les anthraquinones dans les trois extraits. Nous remarquons la présence des saponines dans les deux extraits d' *A.verticillata* et *L.citriodora* à l'exception de *C.nepeta* . La présence des saponosides en quantité importante confère aux plantes des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et anti-oedemateuse (**Roux et al., 2007**).

Les flavonoïdes sont présents dans les deux extraits à l'exception de *L.citriodora* ils constituent un groupe de substances très importantes qui présentent un grand intérêt dans beaucoup de domaines. Leurs propriétés anti-oxydante, antivirale, antibactérienne, les prédestinent à des utilisations dans les industries pharmaceutiques, agroalimentaires, cosmétiques (**Pietta, 2000**).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature par les travaux de **Felidj et al., (2010)** et de **Benaissa(2015)** sur l'étude phytochimique des extraits d'*A.verticillata* qui confirme la présence des tanins, flavonoïdes et terpénoïdes .

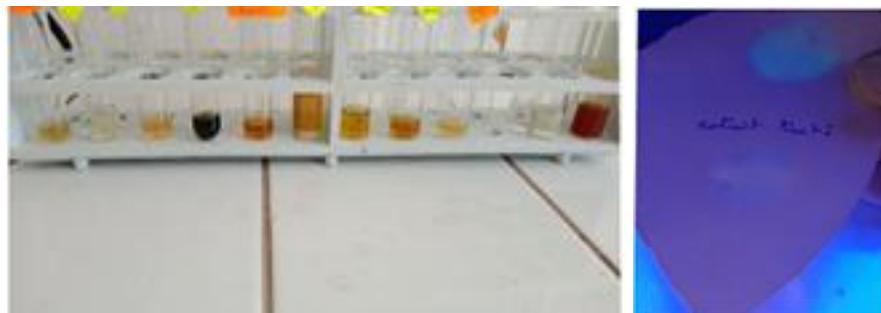
Par ailleurs, les travaux de **Bougandoura (2011)** sur les tests phytochimiques de *S.calamintha* de la région de Tlemcen sont en accord avec nos résultats sauf en ce qui concerne les saponines qui se sont révélés négatifs dans notre extrait.



*A. verticillata*



*calamintha nepeta*



*Lipipia citrodora*

**Figure III.4** : Résultats des tests phytochimiques des plantes étudiées.

### III.2 Partie biologique

#### III.2.1. Étude de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques.

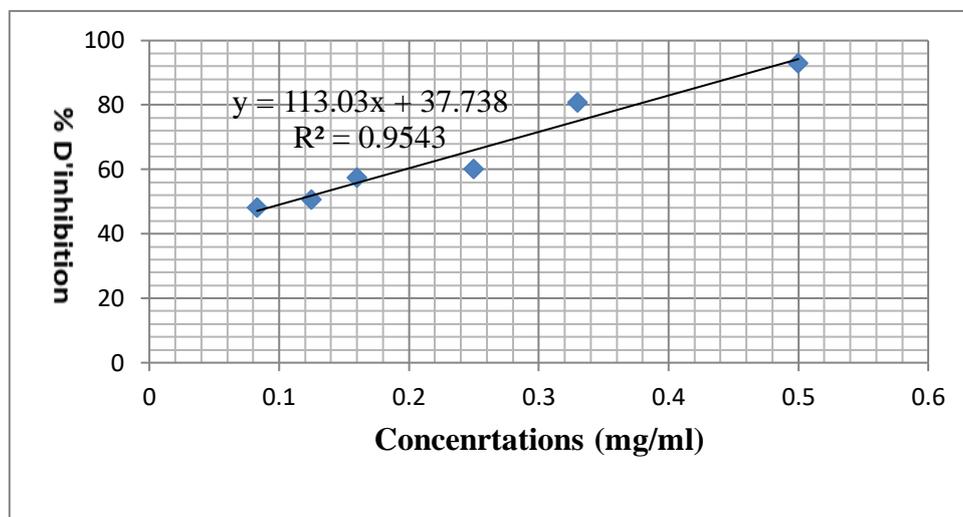
Dans ce cadre, l'activité antioxydante des extraits éthanoliques d'*A. verticillata*, *C. nepeta* et *L. citriodora* ainsi que celle d'antioxydants standards acide ascorbique et BHT a été évaluée

## Chapitre III : Résultats et discussion

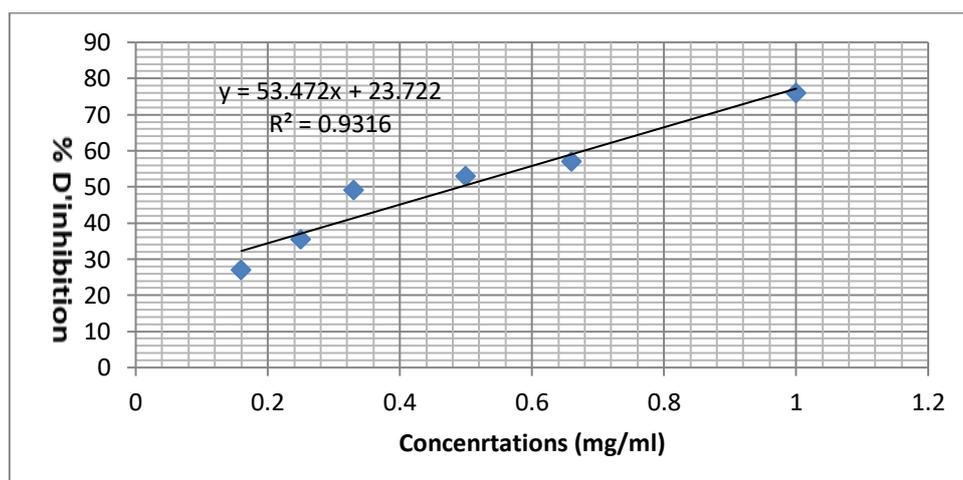
par la méthode de DPPH, « car elle est connue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical (BOZIN *et al.*, 2008) » en mesurant la diminution de l'absorbance à 515 nm. .

Les différentes densités optiques ont permis de tracer pour chaque extrait, une courbe d'allure exponentielle, ce qui signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'extrait dans le milieu réactionnel.

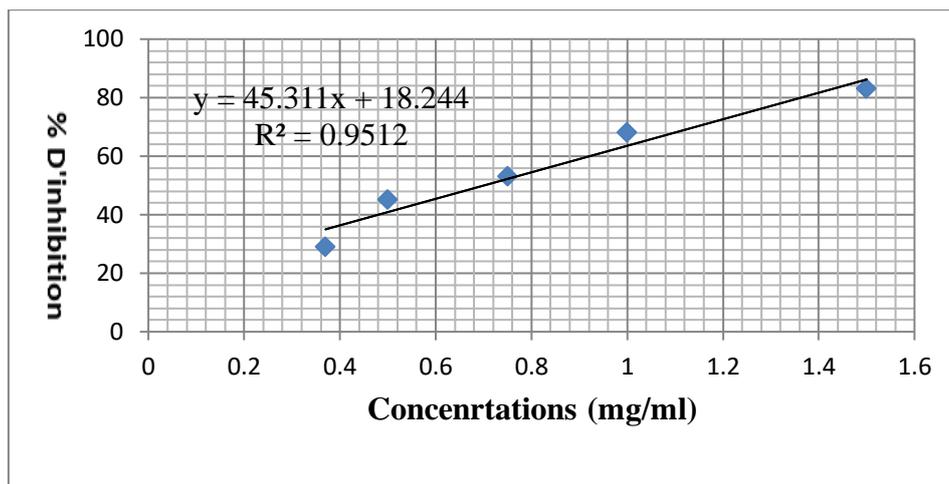
Les résultats de mesure des pourcentages d'inhibition des extraits des trois plantes sont illustrés dans la (Figure III.5) et ceux de l'acide ascorbique et BHT sont consignés dans la (Figure III.6).



*A. verticillata*

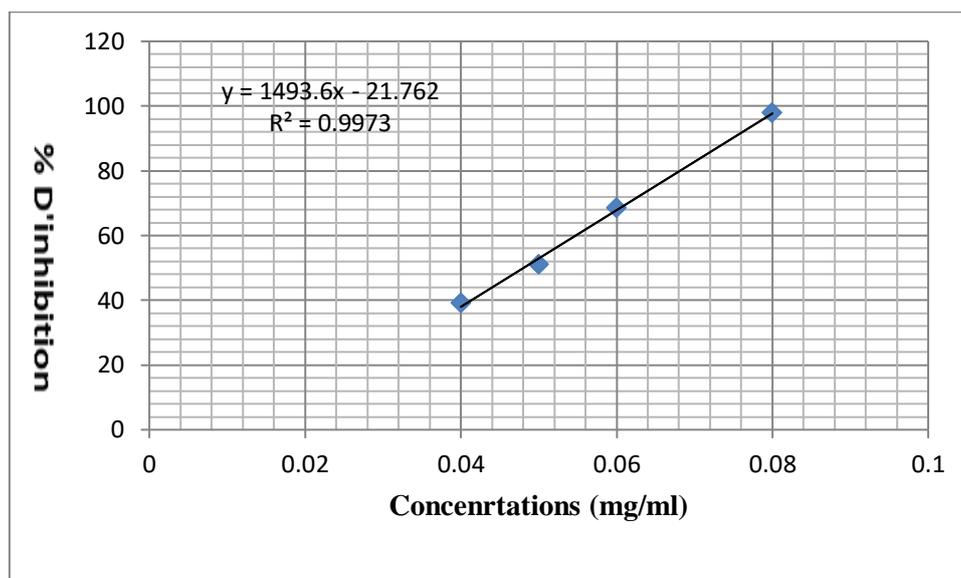


*calamintha nepeta*

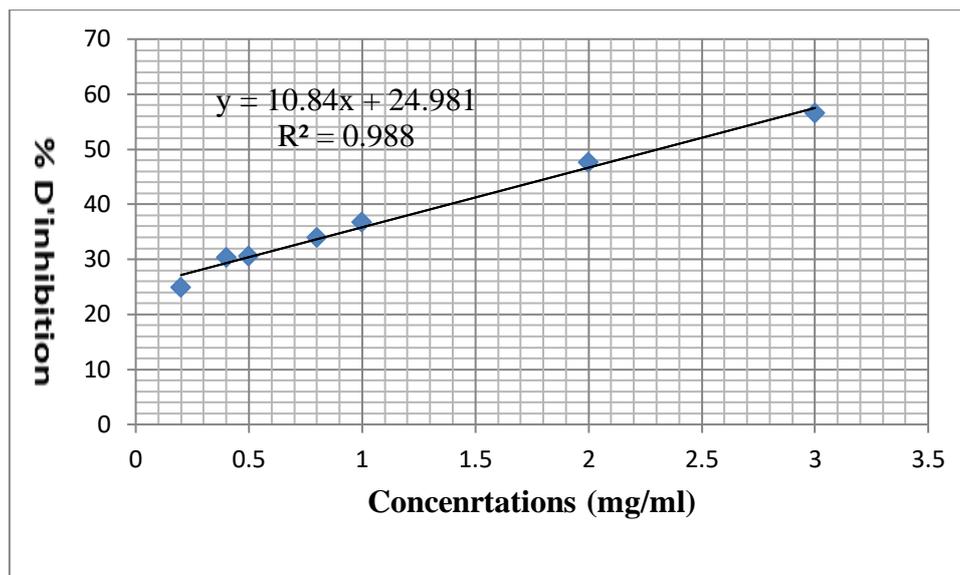


*Lippia citrodora*

**Figures III.5 :** Evolution d'activité antioxydante en fonction de différentes concentrations des trois extraits étudiées.



Acide ascorbique



BHT

**Figure III.6:** Capacité des antioxydants standards.

L'examen des figures montre que le pourcentage d'inhibition est fortement dépendant des concentrations en substrat, et ceci pour les extraits méthanoliques ainsi que les substances de référence, Plus précisément, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

Le tableau ci-dessous exprime les résultats de ce test traduit par le taux d'inhibition en fonction des différentes concentrations.

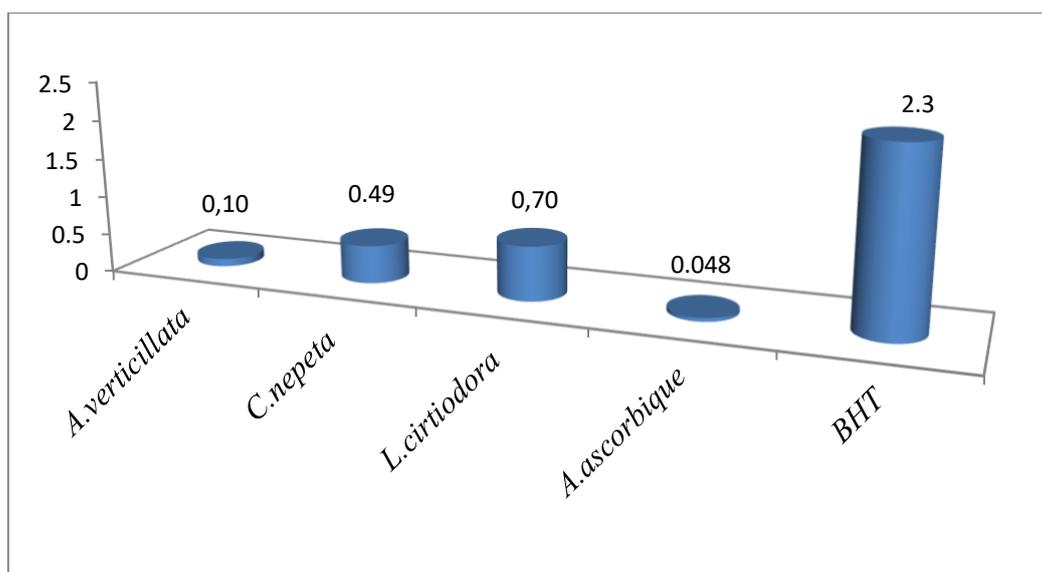
**Tableau III.6:** Résultats du pouvoir antioxydant des trois extraits et des standards par le test DPPH.

Echantillons		Activité antioxydante						
		0.083	0.125	0.16	0.25	0.33	0.5	1
<i>A. verticillata</i>	Concentration (mg/ml)	0.083	0.125	0.16	0.25	0.33	0.5	1
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	48.1	50.6	57.4	60.2	80.8	93	94
<i>C. nepeta</i>	Concentration (mg/ml)	0.16	0.25	0.33	0.5	0.66	1	2
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	27	35.4	49	53	57	76	80.8
<i>L. citriodora</i>	Concentration (mg/ml)	0.37	0.5	0.75	1	1.5	3	/
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	28.9	45	53	68	83	85	/
<i>A. ascorbique</i>	Concentration (mg/ml)	0.04	0.05	0.06	0.08	/	/	/
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	39.04	51.23	68.57	97.84	/	/	/
<i>BHT</i>	Concentration (mg/ml)	0.2	0.4	0.5	0.8	1.0	2.0	3.0
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	24.9	30.3	30.6	33.9	36.7	47.6	56.5

### Calcul des CI50

A partir des équations logarithmiques des courbes tracées, nous avons pu déterminer graphiquement les valeurs des CI50 de ces extraits ainsi que celles des références. La valeur de la CI50 exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre DPPH• dans le milieu réactionnel. Plus la valeur de la CI50 est faible plus l'activité antiradicalaire est remarquable.

La figure ci-dessous affiche les résultats des CI50 obtenus pour les trois extraits végétaux et des antioxydants standards.



**Figure III.7:** CI50 des différents extraits déterminés par la méthode DPPH.

D'après cet histogramme, on peut dire en premier lieu que les extraits des trois plantes d'*A.verticillata*, *L.citriodora* et *C.nepeta* possèdent des activités antioxydantes supérieures à celle du standard BHT, par contre, l'acide ascorbique « la vitamine C » présente le meilleur pouvoir antioxydant qui correspond à CI50 la plus faible (0.048mg/ml).

Parmi les trois extraits, nous remarquons que l'extrait d'*A.verticillata* a exercé une excellente activité inhibitrice du radical DPPH avec une CI50 égale à 0.10 mg/ml, suivie de *C.nepeta* avec une valeur de 0.49mg/ml, et finalement *L.citriodora* avec une CI de 0.70mg/ml.

D'après ces résultats, on observe que tous ces extraits présentaient une activité importante, Cette activité antiradicalaire est probablement due aux composés phénoliques, connus par leurs activités antioxydantes (Almaraz-Abarca *et al.*, 2007 ; Vukics *et al.*, 2008).

D'autre part, de nombreux essais ont été rapportés dans la littérature pour expliquer la relation structure-activité de certains composés antioxydants naturels (Es-Safi *et al.*, 2006). Il a été proposé que l'activité anti-oxydante est en relation avec le nombre de groupes hydroxyle sur le noyau des flavonoïdes (Cao *et al.*, 1997, Es-Safi *et al.*, 2006).

D'après Beldjord (2014), les huiles essentielles des feuilles et fleurs d'*Ammoides verticillata* de plusieurs régions de Tlemcen, ont inhibé 50% du radical DPPH à des concentrations plus poussées, de l'ordre de 131,6 et 154,1 µg/ml pour les feuilles des stations Terni et Ouzidane, et de l'ordre de 78,52 et 123,2 µg/ml pour les fleurs. La station de Beni Snous a révélé une activité antioxydante plus importante qui s'est traduit par des IC50 de l'ordre de 76,47 et 78,81 µg/ml.

Dans une autre étude, **Kedia et al.,(2015)** ont enregistré une meilleure efficacité d'*A.verticillata* par une IC50 de l'ordre de 0.467 µL/ml.

Des travaux réalisés sur les extraits aqueux de *C.nepta* de la zone de Tlemcen ont montré une faible activité antiradicalaire avec une valeur d'IC50 de 1,876 mg/ml (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**). Les résultats obtenus dans le présent travail sont meilleurs par rapport à ceux indiqués par l'équipe de Tlemcen (**Bougandoura, 2012**), nous constatons donc que notre échantillon est plus efficace, cela est lié à la différence dans la composition chimique ou à des facteurs saisonniers.

L'étude de **Dopico-Garcia et al.,(2008)** sur l'extrait aqueux de *L.citriodora* enregistre une forte activité antioxydante avec une valeur d'IC 50 de 0.0314 mg/ml qui est inférieur à nos résultats.

**Mothana et al., (2008)**, dans une étude sur *Lippia citriodora* du Yemen ont obtenus une concentration d'inhibition de 50 % des radicaux libres IC50 = 30 µg/ml.

### III.2.2.Evaluation de l'activité antimicrobienne :

#### Travaux antérieurs sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la plante *Ammoides verticillata* :

La méthode de diffusion sur milieu gélosé (contacte indirecte) est une méthode qualitative, simple, appliquée en routine à toute bactérie considérée comme pathogène. Cette méthode est inspirée de l'antibiogramme qui permet de déterminer l'activité inhibitrice de croissance des huiles essentielles par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque de cellulose imprégné d'huile essentielle (**De Billerbeck, 2007**).

L'étude réalisée par **Hachemi. F** et **Hamzi .N** a montré que toutes les bactéries sont sensibles à l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*.

Par comparaison des diamètres des zones d'inhibition ils ont trouvé que les bactéries Gram (-) (*E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) sont les plus sensibles à cette huile avec des diamètres qui varient entre (22-40) mm par rapport au bactéries Gram(+) (*Listerie monocytogenese*, *Enterococcus fecalis* , *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) dont les diamètres de ces derniers varie entre (8-30) mm.

D'autres travaux (**Inouye et al.,2001,Lopez et al., 2005,Bozin et al.,2006 ;Bouzouita et al.,2008**)ont montré que les bactéries Gram(+) sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries Gram(-).

**Goudarzi et al.**, (2011) ont étudié l'activité antimicrobienne d'*Ammoides verticillata* collectée en Iran. Ils ont enregistré une activité antibactérienne importante par l'obtention des zones d'inhibitions de 22mm pour *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), 21mm pour *Escherichia coli* (ATCC25922), 23mm pour *Salmonella typhimurium*(ATCC 1731).

### **2-Travaux antérieurs sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la plante *Lippia citriodora*:**

L'étude de **Gabriela** et ses collaborateurs (2013) a montré que l'huile essentielle de *Lippia citriodora* est la plus active contre *E. coli* avec un diamètre de 22 mm et *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 17 mm.

Une autre étude faite par **Mahzad** et son équipe a montré que les bactéries les plus sensibles à l'HE de *Lippia citriodora* étaient *S. dysenteriae*, *B.cereus* et *S.aureu*.

La bactérie *S.dysenteriae* était la plus sensible par rapport aux deux autres bactéries avec un diamètre de 17mm. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *L. citriodora* contre les bactéries étudiées peut être due à la présence du citral.

### **3-Travaux antérieurs sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la plante *Satureja calamintha*:**

Dans une étude réalisée par **Guido Flamini** et ses collaborateurs, l'huile essentielle de *Satureja calamintha nepeta* a montré un large spectre d'action antimicrobienne (tableau III.7) avec des diamètres variables. On note l'efficacité de cette huile sur les souches fongiques testées. Une autre observation intéressante est la forte activité de cette HE contre toutes les espèces de *Salmonella* présentant des diamètres d'inhibition variant entre 16 et 20mm (tableau III.7). De ce fait, des tests préliminaires ont été effectués sur différents constituants de l'HE, le seul doté d'une efficacité antibactérienne sur les trois espèces de *Salmonella* était la pulégone. L'efficacité a été maintenue jusqu'à une dose de 0,5 µl, restant appréciable à 1,0 µl avec un diamètre d'inhibition de 10 mm (tableau III.8), donc il est possible d'affirmer que l'efficacité de cette HE est pratiquement due à son composé majoritaire la pulégone.

**Tableau III.7 :** Activité inhibitrice de l'huile essentielle de *Satureja calamintha nepeta* contre les souches testées.

Souches utilisées		Le diamètre d'inhibition (mm)
Bactéries Gram positif	<i>Listeria monocytogenes</i>	10.67
	<i>Bacillus cereus</i>	11.00
Bactéries Gram négatif	<i>Salmonella veneziana</i>	20.00
	<i>Salmonella paratyphi B</i>	17.33
	<i>Salmonella typhimulium</i>	16.33
Organismes	<i>Fusarium moniliforme</i>	10.33
Fongiques	<i>Botrytis cinerea</i>	11.33
	<i>Aspergillus niger</i>	12.33

**Tableau III.8:** Activité inhibitrice selon les doses de pulègone contre les trois espèces de *salmonella*

	Diamètre d'inhibition (mm)					
	10 µL	5 µL	3 µL	2 µL	1 µL	0.5µL
<i>S. paratyphi B</i>	18.00	14.33	14.00	12.33	9.33	0.00
<i>S. typhimurium</i>	17.00	11.67	10.33	9.67	8.01	0.00
<i>S. veneziana</i>	20.67	17.00	15.33	12.00	10.67	8.33

En général ; l'activité antimicrobienne des HEs peut également s'expliquer par le caractère lipophile des monoterpènes contenus. Les monoterpènes agissent en perturbant la membrane cytoplasmique microbienne qui perd ainsi son imperméabilité aux protons et aux ions en inhibant par la suite la transmission respiratoire et la transmission des ions aux microorganisme. De plus, les composants sesquiterpéniques jouent un rôle défensif dans la plante (Deba et al., 2008).

Des rapports ont montré que les bactéries Gram (-) sont généralement moins sensibles que les bactéries Gram (+) aux actions des huiles essentielles, en raison de leur membrane externe entourant la paroi cellulaire qui limite la diffusion des composés hydrophobes à travers son revêtement polysaccharidique (Hyldgaard et al. ,2012)

L'activité antimicrobienne des HE dépend de sa composition chimique, et en particulier de la nature de ses composés majoritaires.

Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, la formation des spores et la synthèse des toxines (Caillet *et al.*, 2009)

# *Conclusion*

## Conclusion

---

Les plantes aromatiques et médicinales jouent un rôle important en médecine traditionnelle, elles représentent une source intéressante de composés bioactifs. Ces dernières années, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des extraits des plantes et leurs huiles essentielles dans divers maladies.

Dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques de la wilaya de Tlemcen située à l'Ouest d'Algérie, nous nous sommes intéressés à l'étude de trois plantes aromatiques appartenant à trois familles différentes : *Ammoides verticillata* (Apiacées) *calamintha nepeta* (Lamiacées), et *Lippia citriodora* (Verbénacées). Ces trois espèces sont très utilisées par la population locale, elles sont caractérisées par leurs propriétés thérapeutiques diverses.

L'extraction par hydrodistillation des HEs des trois plantes étudiées a donné de bons rendements avec des pourcentages qui varient d'une espèce à une autre. Le rendement moyen a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne, le plus fort rendement a été obtenu pour *l'Ammoides verticilatta* (1,7%) suivi par *Lippia citriodora* (1,03%) et le plus faible rendement pour *Satureja calamintha nepeta* (0.62%).

Selon les résultats du screening phyto-chimique des extraits aqueux et méthanolique, on peut dire que les trois plantes sont sources riches en métabolites secondaires importants tels que: les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les quinones libres et les terpénoïdes connus par leurs activités anti-radicalaires.

L'évaluation de l'activité antioxydante in vitro, testée sur les extraits, par la méthode de DPPH (2,2 diphenyle-1-Picrylhydrazyle), a montré des pouvoirs antioxydants intéressants :

- Les résultats montrent que ces extraits possèdent un grand pouvoir à piéger ce radical en comparant avec la référence BHT avec une CI50 de 2.3 mg/ml, les CI50 de tous les extraits étaient plus faible de l'ordre de 0,1mg/ml pour *l'Ammoides verticillata* , 0,49 mg/ml pour *Satureja calamintha nepeta* et 0,70mg /ml pour *Lippia citriodora*.

## **Conclusion**

---

Cependant, L'activité antioxydante de tous nos extraits reste relativement faible par rapport à celle de l'antioxydant de référence l'acide ascorbique avec une CI50 de 0 ,048mg/ml.

Selon les résultats des travaux antérieurs obtenus avec la méthode d'aromatogramme par différentes études sur le pouvoir antibactérienne de l'HE d'*Ammoides verticilatta*, *Satureja calamintha nepeta* et *Lippia citriodora*, on peut dire que les trois plantes possèdent une importante activité antimicrobienne.

La présente étude a permis de conclure que les trois plantes constituent une importante source en HEs. Les extraits sont dotés d'activités antioxydant intéressantes. De ce fait, ces résultats méritent d'être exploités dans d'autres activités biologiques. Il serait intéressant aussi d'étudier l'hydrolat des trois plantes, ce dernier n'a fait l'objet d'aucune étude chimique ou biologique.

*Références*

*Bibliographiques*

### -A-

**Abdelouahid D. E. & Bekhechi C. (2002).** Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* (Nûnkha). *Biologie et Santé*, **4**: 91 - 100.

**Aftab K., Rahman A.U. & Usmanghani K. (1995).** Blood pressure lowering action of active principle from *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague. *Phytomedicine*. **2(1)**: 35- 40.

**Agrawala J. N. & Pant M. C. (1986).** Effect of feeding *Carum copticum* seeds on serum lipids, high density lipoproteins (HDL) and serum cholesterol binding reserve in the albino rabbits. *Indian Journal of Medical Research*, **83**: 93 – 95

**Alan, S., M. Kürkçüoğlu, and K.H.C. Baser,** *Composition of essential oils of Calamintha nepeta (L.) Savisubsp. nepeta and Calamintha nepeta (L.) Savisubsp. glandulosa (Req.) PW Ball.* *Asian Journal of Chemistry*, 2011. **23(6)**: p. 2357.

**Albano S.M, Miguel M.G. (2010).** Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Ind Cro Prod*, 1-6.

**Aleksic V. and Knezevic P. 5(2014).** Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. **Microbiological Research.** (169)4:240-254.

**Allingern.L (1976).** Chimie organique» Ed.Univ, MCGRAW.HILL. Tome III. Paris.

**Almaraz-Abarca N., Campos M.D.G., Reyes J.A., Jimenez N.N, Corral J.H, Gonzalez-Valdez L.S. (2007).** Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, *Leguminosae*). **Journal of Food Composition and Analysis.** 20:119-124.

**Ambasta S. P., Ramachandran K., Kashyapa K., Chand R. & Edits (1986).** The useful plants of India. *Publications and Information Directorate, CSIR, New Delhi, India*, 643.

**Audigie C.L., Dupon G. et Zonsgain F(1995),** Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris, p. 44.

### -B-

**Bahrin T (1997).** Substances Naturelles Actives : *La Flore Mauricienne*, Une Source D'approvisionnement Potentielle .Amas .Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius.

**Bajpai K., BEAK K., JUNG S. (2012).** Control of Salmonella in foods by using essential oils. *Areview Food research international* 45:722-734.

- Bakkali F., Avertebeck S., Avertebeck D., Idaomar M. (2008).** Biological effects of the essential oils. *Food and chemical toxicology* 46: 446-475.
- Baytop T. et Sütülpinar N. (1986).** - Characteristics of « Nanahan» cultivated in Anatolia and its volatile oil. *J. Fac. Pharm. Istanbul*, 22: 73 - 76.
- Bediaga M. (2011).** - Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *NaucleaLatifolia* (Smith) une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako, Mali. p 10.
- Bekhechi C. (2002).** Analyse de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* (Nûnkha) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien. *Mémoire de Magister*, option Biologie Moléculaire et Cellulaire, université Abou Bakr Belkaïd.
- Bekhechi C., Boti J.B., Bekkara F.A., Abdelouahid D.E., Casanova J. et Tomi F. (2010),** Isothymol in ajowan essential oil, *Nat Prod Commun.* 5(7), p:1107-1110.
- Békro Y.A ,Janat a, békro M , Boua B. B , trabi F.H and Éhilé E. (2007)** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *caesalpinia benthamiana* (baill.) herend et *zarucchi* (caesalpiniaaceae). *Sciences & nature.* vol 4 n° 2: 217 – 225
- Beldjord A., (2014),** Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* de la région de Tlemcen, Mémoire d'obtention de diplôme master en amélioration végétale, Université Abou Bekr Belakaid, Tlemcen.
- Benaïssa M (2015) :** Tests phytochimique, dosage et recherche d'effet hémolytique des polyphénols totaux extrait de la partie aérienne d'*Ammoïdes verticillata*. Mémoire Master biochimie appliquée, département biologie, faculté SNV STU, université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen.
- Benayad N., (2008) :** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : Moyen efficace de lutte contre les ravageurs Des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal, Faculté des Sciences de Rabat
- Bendahou M. (2007).** Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de l'Ouest Algérien. *Thèse de Doctorat d'Etat*, option biochimie, université Abou Bah Belkaïd, Tlemcen.
- Benmehdi, H ; (2000).** Valorisation des plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Thèse de Magister. Chimie organique appliquée. Université de Tlemcen.

- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z, (2014).** Composition chimiques et activité antioxydante d'extrait organique des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Bechar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6): 364-371.
- Bnouham M., Benalla W., Asehrou A. & Berrabah M. (2012).** Antibacterial activity of essential oil from *Ptychotis verticillata*. *Spatula*, 2(1): 69-73.
- Bnouham M., Merhfour F. Z., Legssyer A., Mekhfi H., Maallem S. & Ziyat A. (2007).** Antihyperglycemic activity of *Arbutus unedo*, *Ammoides pusilla* and *Thymelaea hirsute*. *Pharmazie*, 62: 630-632.
- Bnouham M., Merhfour F. Z., Ziyat A., Aziz M., Legssyer A. & Mekhfi H. (2010).** Antidiabetic effect of some medicinal plants of oriental Morocco in neonatal non-insulin-dependent diabetes mellitus rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 29(10): 865-871.
- Bnouham M., Merhfour F. Z., Ziyat A., Aziz M., Legssyer A. & Mekhfi H. (2010).** Antidiabetic effect of some medicinal plants of oriental Morocco in neonatal non-insulin-dependent diabetes mellitus rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 29(10): 865-871.
- Botrel.A ;** « Encyclopédie des plantes médicinales » ; Edition Larousse ; France ; 2001; pp 228.
- Bougandoura, N. (2011).** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Saturejacalaminthaspnepta* (nabta) et *Ajugaiwa L.* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Thèse de magister en biologie. Laboratoire des Produits Naturels, Université Abou BakrBelkaid-Tlemcen.pp. 52, 56, 62, 65.
- Bougandoura, N., Bendimrad, N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanoliques de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L) Briq. Revue « *Nature & Technologie* » B-Sciences Agronomiques et biologiques, 9, 14-19.
- Boulos L. (1983).** Medicinal plants of north africa. *Reference Publication : Algonac, MI*, 109-175.
- Bouzouita N., et al., (2008).** Composition chimique et activités antioxydants, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*; Journal de la Société Chimique de Tunisie, 10, 119-125
- Bozin B., Mimica-Dukic N., Simin N., Anackov G., (2006).** Characterization of the volatile composition of essential oil of some *Lamiaceae species* and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils; *J. Agric. Food Chem*; 54: 1822-1828.

**Bozin B., Mimica-Dukic N., Bogavac M., Suvajdzic LJ., Simin N., Samojlik I., Couladis M., (2008).** Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of *Achillea collina* Bekker ex Heimerl s.l. and *A. pannonica* Scheele essential oils. *Molecules*. 13(9):2058–2068.

**Bruneton J. (1993).** ; « Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales »; 2ème édition. Tec & Doc ; Lavoisier ; Paris ; France ;

**Bruneton J. (2009):** "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales." Paris. Lavoisier. 1269 p.

**Bruneton J., (1999)** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème édition, Ed. Tec & doc, , p. 625-910, ISBN : 2-7430-0315-4.

**Buronzo, A., (2008)** *Grand guide des huiles essentielles.*: Hachette Pratique. 23. Marongiu, B., et al., *Chemical composition and biological assays of essential oils of Calamintha nepeta (L.) Savia subsp. nepeta (Lamiaceae)*. Natural product research, 2010. **24**(18): p. 1734-1742.

### -C-

**Caillet s. et La croix M., (2009).** Les Huiles essentielles : Leur propriétés antimicrobienne et leur applications potentielles en alimentaires.

**Carson (C.F.), Mee (B.J.), Riley (T.V.) (2002)-** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. - *Antimicrob. Agents Chemother.*, , 46, 1914-1920

**Celikel N et Kavas G., (2008):** *Antibacterial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. Czech J. food sci.*, 26:174-181.

**Cristani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D., Trombetta, D. (2007).** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6300-6308.

### -D-

**Dasgupta N., De B., (2007).** Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: a comparative study. *Food Chem.* 101:471 – 474.

**Deba, F., Xuan, T. D., Yasuda, M. and Tawata, S. (2008).** Chemical Composition and Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Activities of the Essential Oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Contr.*, 19: 346-352.

- De Billerbeck V. G. (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, **5**: 249–253.
- De Billerbeck V.G., Roques C., Vanière P. et Marquier P. (2002)** - Activité antibactérienne et antifongique des produits à base d'huiles essentielles. *Hygiène*. 10 (3).
- De Maack F. et Sablier M. (1994)** Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Bases documentaires, Techniques d'analyse.. Référence: P2614.
- Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A. F. (1997)** ) Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*; 25 (6) : 13-16.
- Desmares C., Laurent A. et Delerme C. (2008).** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Saint Denis, France, 3-12.
- Diallo A., (2005)** , Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd (Myrtacées), Thèse de Doctorat en Pharmacie université de Bamako, p.11, 13
- Dopico-Garcia M. S., Castro-Lopez M.M., Nogueroles-Cal R., Lopez-Vilarino J.M., Dorman H.J.D., Deans S.G. (2008):** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88: 308-316.
- Durand, D., Damon, M., Gobert, M. (2013).** Le stress oxydant chez les animaux de rente : principes généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48, 218-224.
- E-
- EL Hmamouchi M. (2006)** : Partenariats Agricoles pour la productivité et la prospérité. ÀP 3 . Numéro spécial : L'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques (INPMA) de Taounate. P.4.
- El Ouariachi E., Tomi P., Bouyanzer A., Hammouti B., Desjobert J –M., Costa J., Paolini J. (2011)** : Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and solvent extracts of *Ptychotis verticillata* from Morocco. *Rev, Food and Chemical Toxicology* 49 (2011) 533–536.

**Es-Safi NE., Kollmann A., Khlifi S., Ducrot PH., (2006).** Antioxidative effect of compounds isolated from *Globularia alypum* L. structure-activity relationship. *LWT*. 40: 1246-1252.

**Eyrollesse, (2011),** p. 31, ISBN : 97B-2-212-54681-1.

### -F-

**Felidj M., Bouazza M. & Ferouani T ., (2010) :** Note sur le cortège floristique et l'interet de la plante médicinale *Ammoides pussila (verticillata)* dans le parc national des Mont de Tlemcen (Algérie occidentale) , 34 : 147 -154 .

**Franz C., (2010)** Novak J., Sources of essential oils. In: Bas, Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, , p.39–82

**Freeman L., CAREL Y., (2006).** Aromathérapie. NUTRA NEWS Science, Nutrition, Prévention et Santé. [http:// www. nutranews.org](http://www.nutranews.org)

### -G-

**Gabriela. P et al(2013),** CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM MOROCCAN AROMATIC HERBS, *Revue Roumaine de Chimie*, N°58 ,pp. 891-897

**González-Gallego J., Sánchez-Campos. S. et Tuñón M.J., (2007).** -Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutrición hospitalaria* 22(3):287-293.

**Gören, A.C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Wilkinson, J.M., Cavanagh Heather M.A. (2004).** Analysis of essential oil of *Satureja thymbra* by hydrodistillation thermal desorber and headspace GC/MS techniques and its antimicrobial activity. *Natural Product Research*, 18, 189-195.

**Goudarzi Gh-R., Saharkhiz M-J., Sattari M., Zomorodian K. (2011).** Antibacterial Activity and Chemical Composition of Ajowan (*Carum copticum* Benth. & Hook) Essential oil. *Rev, J. Agr. Sci. Tech.* 13: 203-208.

**Grosjean N. (2004).** Huiles essentielles: Se soigner par l'aromathérapie. *Ed. Eyrolles*, pp 98.

**Guido Flamini, Pier Luigi Cioni, Roberto Puleio, Ivano Morelli and Lirio Panizzi (1999)** Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Calamintha nepeta* and its Constituent Pulegone Against Bacteria and Fungi. *PHYTOTHERAPY RESEARCH* *Phytother. Res.* 13, 349–351

### -H-

**Hachemi. F et Hamzi .N (2018):** « Analyses physico-chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la plante *Ammoidesverticillata*(Nounkha) de la région de Tlemcen » : mémoire de master :université de tlemcen ;

**Hashemi M.B., Niakousari M., Saharkhiz M.J., Eskandari M.H. (2014).** Stabilization of sunflower oil with *Carum copticum* Benth & Hook essential oil. *J.Food Sci. Technol.*, 51(1): 142-147.

**Hyldgaard, M.; Mygind, T.; Meyer, R.L (2012).** Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front. Microbiol.*, 3, 1–24.

### -I-

**Inouye S., Takazawa T. et Yamaguchi H., (2001).** Antimicrobial activity of the essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact; *Journal of Antibacterial Chemotherapy*; 47: 565-573.

**Iserin P., (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, préparation, soin. Ed Larousse. P: 267.

### -J-

**Jones W.P, Kinghorn A.D. (2005).** Extraction of plant secondary metabolites. *In:* Sarker S D, Latif Z and Gray A I. Natural products isolation. *Humana Press* (Totowa), 323-411.

### -K-

**Kambouche N. & El-Abed D. (2003).** Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague from Oran (Algeria). *Journal of Essential Oil Research*, 15: 10-11.

**Karumi, Y; Onyeyili, P.A; Ogugb uaja, V.O; (2004).** Identification of active principales of balsamina (Balsam apple) leaf extract. *J. Med. Scien.* 4: 179-182.

**Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z et Soulimani R. (2011)** Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie.* 9: 274-282.

**Kedia A., Prakash B., Mishra P. K., Dwivedy A. K. & Dubey N. K. (2015).** *Trachyspermum ammi* L. essential oil as plant based preservative in food system. *Industrial Crops and Products*, 69: 104–109.

**Kerbouche, L., M. Hazzit, and A. Baaliouamer,** *Essential oil of Saturejacalaminthasubsp. nepeta (L.) Briq. fromAlgeria: Analysis, antimicrobial and antioxidantactivities.* Journal of Biologically Active Productsfrom Nature, 2013. **3(4):** p. 266-272.

**Khajeh M., Yamini Y., Sefidkon F. et Bahramifar N.( 2004).** Comparison of essential oil comparison of Carum Copticum obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. Food chemistry, 86 : 587 :591.

**Khoddami A, Wilkes M.A, Roberts T.H. (2013).** Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, **18**, 2328-2375.

**Koechlin-Ramonatxo C., (2006).** Oxygène, stress oxydant et supplémentsations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme.* 20 : 165–177.

### -L-

**Lamendin, H., (2007)** *Soignez votre bouche par les plantes: Remèdes d'hier et d'aujourd'hui.* Vol. 5.: Editions L'Harmattan.

**Lamien-Meda A, (2008)** Lamien CE, Compaoré MM, Meda RN, Kiendrebeogo M, Zeba B, Millogo JF, Nacoulma OG.*Molecules.* Ma6;13(3):581-9 doi: 10.3390/molecules13030581.PMID: 18463567

**Laouer H., Zerroug M. M., Sahli F., Chaker A. N. Valentini G., Ferretti G., Grande M. & Anaya J. (2003).** Composition and Antimicrobial activity of *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr. essential oil.*Journal of Essential oil Research*, **15**: 135-138.

**Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. et Lee C. Y. (2003).** Cocoa Has More Phenolic Phytochemi-cals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem*, **51**: 7292-7295.

**Lévy-Dutel L., (2011)** Scotto E., *Les saveurs du bien être : Vivre heureux et centenaire*, Ed. Eyrolles, , p. 31, ISBN : 97B-2-212-54681-1.

**Lis-Balchin M., (2002).** *Lavender: the genus Lavandula.* Taylor and Francis, London.p: 37, 40,50, 155-200.

**Lopez P, Sanchez C., Batlle R., Nerin C., (2005).** Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains; *J. Agric. Food Chem*; 53: 6939- 6946.

### -M-

- Mahzad Hosseini ; Abdollah Jamshidi ; Mojtaba Raeisi ; Mohammad Azizzadeh ;(2019)** .The Antibacterial and Antioxidant Effects of Clove (*Syzygium aromaticum*) and Lemon Verbena (*Aloysia citriodora*) Essential Oils. *ournal of Human, Environment, and Health Promotion*; 5(2): pp86-93
- Majhenic L., Kerget M.S., Knez Z. ; (2007)**.Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, **104**, 1258–1268.
- Majinda R.R.T., Abegaz B.M., Bezabih M. et autres (2001)** Resent resultants from naturel product rescarch at the university of Botswana, *Pure. Appl. Chem.* 73 (7) : 1197-1208.
- Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R., (2003)**. Phytochemical screening of some species of Iranien plants. *Iranien Journal of Pharmaceutical Research.* 77-82.
- Marongiu, B., (2010)**. et al.,*Chemical composition and biological assays of essential oils of Calamintha nepeta (L.) Savisubsp. nepeta (Lamiaceae)*. *Natural productresearch*, **24**(18): p. 1734-1742.
- Marston, A. and Hostettmann, K. (2006)** Separation and quantification of flavonoids. In: Andersen, O'.M. and Markham, K.R., Eds. *Flavonoids: Chemistry, Biochemis try and Applications*, CRC Press-Taylor and Francis Group, Boca Raton, 1-36.
- Mihajilov-Krstev, T., Radnović, D., Kitić, D., Zlatković, B., Ristić, M., Branković, S. (2009)**. Chemical composition and antimicrobial activity of Satureja hortensis L. essential oil.*Cent. Eur. J. Biol.*, 4, 411-416.
- Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S., (2004)**. Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochem. Rev.* **3** :173-193.
- Millago H., Guisson IP., Naculma O. & Traore A.S. (2005)**. Savoir traditionnel et médicament traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre centre européen de santé humanitaire ; Lyon.
- Molyneux P., (2004)**. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn. J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- Mothana R., Abdo S., Hasson S., Althawab F., Alaghbari S., Lindequist U. (2008)**:Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities and Phytochemical Screening Of Some Yemeni Medicinal Plants. Department of Pharmacognosy,

Faculty of Pharmacy, Sana'a-University, P0 Box 33039, 21Institute of Phannacy, College of Medical science- University of Science and Teehnology, Sana'a, Yemen and 3Department of Pharmaceutical Biology, Institute of Pharmacy, Ernst-Moritz-Arndt-University, Greifswald, F-L-Jahn Str. 15a, D 17487 Greifswald, Germany. P. S.

**Mulyaningsih S., Sporer F., Zimmermann S., Reichling J., Wink M. (2010).** Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1, 8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. **Phytomedicine.** 17(13): 1061-1066.

-N-

**Narayana C., Somayajulu B.A.R. et Thirumala Rao. S.D.(1976).** Recovery of fattyoilfromspentseeds of Ajowan (*Trachyspermum ammi* Linn). Oil technological research institue, Anantapur.

**Nickavar B., Adeli A. & Nickavar A. (2014).** TLC-Bioautography and GC-MS Analyses for Detection and Identification of Antioxidant Constituents of *Trachyspermum copticum* Essential Oil. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1): 127-133.

-O-

**O.M.S, (2002) .-** Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.

**Oloyede, O.I; (2005).** Chemical Profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition.* 4: 379-381.

**Ordóñez A., Baldoncini S., Berioli G., Chaves G., Bled L., Massuh Y., Liébana C., Torres L., Ojeda M., (2006).** Domestication of native aromatic plants. *Mol. Med. Chem.*11:58-59.

-P-

**Panizzi L., Flamini G., Cioni PL., Morelli I., (1993).** Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *J. Ethnopharmacol.* 39: 167-170.

**Paolini J.** Caractérisation des huiles essentielles par cpg/ir, cpg/sm-(ie et ic) et rmn du carbone-13 de *cistus albidus* et de deux asteraceae endemiques de corse : *eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* et *doronicum corsicum*. Thèse de doctorat. 2005

**Papajani V., Haloci E., Goci E., Shkrelidze R., Manfredini S. (2015).** Evaluation of antifungal activity of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* essential oil before and after inclusion in  $\beta$ -cyclodextrine. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.** 7(5):270-273.

**Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Saavedra, G., Murcia, M. A., Codina, C. (2003).** Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*, 73, 1667-1681.

**Pascual ME. Et Siowing.K et Carretero E.Sanchez Mata D.Villar ;** « *Lippia* traditional uses, chemistry and pharmacology »; *J. Ethnopharmacol* ; 2007; vol 76; pp 201-214.

**Pascual ME., Siowing K., Carretero E., Sanchez Mata D., Villar A. (2001):** *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: are views. *J Ethnopharmacol* 76:201-214.

**Peralta M.A., Silva Da., Ortega M.G., Cabrera J.L., Paraje M.G. (2015).** Antifungal activity of a prenylated flavonoid from *Dalea elegans* against *Candida albicans* biofilms. *Phytomedicine.* 22(11):975-980.

**Perrot E. et Paris R. (1974) :** "Les plantes médicinales." Presses universitaires de France, p.244.

**Pierre.M et Lis.M ; (2002)** « Secrets des plantes pour se soigner naturellement 250 plantes et 230 recettes » ; Edition Artémis ; pp 124-125.

**Pietta, P., (2000).** Flavonoïdes as antioxydants. *J. Nat. Prod.* 63 :1035-1042.

**Pramila R, Padmavathy K, Ramesh KV, Mahalakshmi K. (2012).** *Brevibacillus parabrevis, Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas citronellolis*-Potential candidates for biodegradation of low density polyethylene (LDPE). **African Journal of Bacteriology Research. Abbreviation.** 4(1):9-14.

**PURCHON, N.,** La bible de l'aromathérapie Edition Marabout, 2001.

### -Q-

**Quezel P., Santa S., (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II.. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, P : 788-789.

**Quezel, P., Santa, S., (1963)** « Nouvelle flore d'Algérie ». Tome II., 671.

### -R-

**Richard S.(2007).** Steele-Moore L., Goodwin A.C., Antimicrobial susceptibility testing protocols Ed. Goodwin Boca Raton: CRC Press, pp.77.

**Richard S.(2007).** Steele-Moore L., Goodwin A.C., Antimicrobial susceptibility testing protocols Ed. Goodwin Boca Raton: CRC Press, pp.77.

**Ristorcelli, D., F. Tomi, and J. Casanova, (1996)** *Essential oils of Calamintha nepeta subsp. nepeta and subsp. glandulosa from Corsica (France)*. Journal of Essential Oil Research, **8**(4): p. 363-366.

**Roux D., Catier O., (2007).** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème Edition, woltersKluwer. P 141.

**Rožman T. and Jeršek B. (2009).** Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. **Acta agriculturae Slovenica**. 93:51-58.

**Ruberto G.(1998):** Antibacterial and antioxidant proprieties of some commercial essential oils. Flavour and fragrance journal, 13:235-244.5

**Rudramurthy G.R., Swamy M.K., Sinniah U.R., Ghasemzadeh A. (2016).** Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. Molecules.21:7-8.

### -S-

**Sánchez-Moreno, C., J.A. Larrauri, and F. Saura-Calixto, A (1998)** *procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols*. Journal of the Science of Food and Agriculture, **76**(2): p. 270-276.

**Sanchez-Moreno, C (2002).**, *Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems*. Food science and technology international, **8**(3): p. 121-137.

**Schirner M. (2004).** Huiles essentielles : description de plus de 200 huiles essentielles et huiles végétales. *Guy Trédaniel*, pp 23.

**Scimeca D., (2007)** Les plantes du bonheur, Ed. Alpen, , p.12-17.

**Seidel V (2005).** Initial and Bulk Extraction. In: natural products isolation. Sarker S D, Latif Z, Gray A I. Eds. *Humana Press (Totowa)*, 27-37.

**Simonpoli P., (1993).** Arburi, arbe, arbigliule : Savoirs populaires sur les plantes de Corse. Ajaccio, Parc naturel régional de la Corse.

**Slimani.N et Dahmane.M (2013)** ; « Effet des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *MenthaSpicata*, *Menthapulegium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippiacitriodora*, *Ocimumbasilicum* sur quelques bactéries pathogènes » ; thèse de master ; université de Hassiba BenBouali-Chlef

**Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L. (2001).** The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiology*, 18(4), 463-470.

**Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., LLeonart, M. E. (2013).** Oxidative stress and cancer: an overview. *Ageing research reviews*, 12, 376-390.

**Speck B., Ursula., FotschC., (2008) .** Connaissance des herbes sarriette. EGK Caisse.

### -T-

**Taleb-Toudert K., Bellanteur K., Haddad N., Ouazzoug T., Kellouche A. (2002)** : Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *aloyisia triphylla*. evaluation *in vitro* de son effet sur la croissance de certains agents pathogenes de l'homme.

**Taleb-Toudert.K ;** « Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Aloysia Triphylla*. Evaluation *in vitro* de son effet sur la croissance de certains agents pathogènes del'homme » ; thèse de master ; 2002. Saidi.S; « Etude de l'effet antioxydant des huiles essentielles de *Lippiacitriodorade* larégion de Tlemcen » ; mémoire de master ; université de Tlemcen ; 2013.

**Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Murata, M. (2014).** Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *International journal of molecular sciences*, 16, 193-217.

### -V-

**Vârban, D.I., et al., (2010)** *Researchconcerning the organictechnology for SaturejaHortensis L. Culture.* Bulletin of University of Agricultural Sciences and VeterinaryMedicine Cluj-Napoca. Agriculture,. 66(2).

**Vukics V., Kery A., Bonn G.K., Guttman A. (2008).** Analysis of *heartsease* (*Viola tricolor* L.) flavonoid glycosides by micro-liquid chromatography coupled to multistage mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. 1206:11-20.

### -W-

**Willem, J.P. (2002).** Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé Editions LMV.

### -Y-

**Yoon H.S., Moon S.C., Kim N.D., Park B.S., Jeong M.H., and Yoo Y.H. (2000).** Genistein induces apoptosis of RPE-J cells by opening mitochondrial PTP. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 276(1):151-156.

**Yu R., S. Mandlekar & T. Kong, (2000).**- Molecular mechanisms of butylated hydroxyl anisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome C. *Mol. Pharmacol.*, **58**, 431-437.

-Z-

**Zambonelli A., D'Aurelio A.Z., Severi A., Benvenuti E., Maggi L., Bianchi A., (2004)** Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *thym us vulgaris*. *Journal of Essential Oil Research* , , 16: 69-74.

**Ziyyat A., Legssyer A., Mekhfi H. Dassouli A., Serhrouchni M. & Benjelloun W. (1997).** Phytotherapy of hypertension and diabetes in orientai Morocco. *Journal of Ethnopharmacology*, **58**: 45- 54.