



République algérienne démocratique et populaire



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE ABOU-BAKR BELKAÏD - TLEMEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et
des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département des sciences Agronomiques et des forêts

Mémoire de Fin d'Etudes

Pour l'obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat en Agronomie

Option : Technologie des Industries Agro-Alimentaires

Thème

Etude de l'effet antibactérien et antioxydant

d'Ammoides verticillata

De la région de Tlemcen

Présenté par :

Merzougui Imane
Tadj Hanane

Membres du jury :

Mr.AMRANI S.M
Mr.AZZI. N.E
Mme.YOUCEFL.F
Mr.TEFIANI.C

Maitre de conférences A, Univ.Tlemcen
Maitre Assistant A, Univ.Tlemcen
Maitre assistant A ,Univ.Tlemcen
Maitre assistant A,Univ.Tlemcen

Président
Examineur
Examinatrice
Promoteur

Année universitaire 2011/2012

Remerciements

En préambule à ce mémoire, nous souhaitons adresser tous nos remerciements aux personnes qui ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent tout d'abord à DIEU, le tout puissant qui nous a tracé le chemin de nos vies et accordé la volonté et la patience nécessaire à la réalisation de ce mémoire.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive connaissance à notre promoteur Mr TEFIANI C., maitre assistant classe A au niveau de l'UABT, pour nous avoir encadré et dirigé ce travail et pour sa disponibilité, ses conseils et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements aux membres de jury. Merci au

Dr AMRANI S.M .A Professeur à UABT, d'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Que Mr. AZZI Maitre de Conférences Classe A à UABT, Mme YUCEFI F. Maitre assistante Classe A à l'UABT, trouvent ici l'expression de nos plus hautes considérations et de notre sincère reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail.

Merci pour les remarques, suggestions et critiques que vous allez apporter, qui vont, sans doute, nous permettre d'enrichir le contenu de ce travail.

Un grand merci s'adresse à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce modeste travail. Nous remercions tous nos enseignants qui nous ont suivis le long de nos études. Veuillez agréer nos professeurs l'expression de nos sentiments très respectueusement dévoués.

Hanane & Imane

Résumé

La composition des huiles essentielles lui confère une activité antibactérienne et antioxydante importante ; souvent rechercher dans le domaine agroalimentaire pour la conservation des aliments. Le présent travail porte sur l'étude de l'effet antimicrobien et antioxydant de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (NOUNKHA) de la famille des ombellifères, extraite par hydrodistillation avec un rendement moyen de 2,9%. Les résultats de l'activité antibactérienne vis-à-vis les bactéries pathogènes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) par la méthode de diffusion en puits et l'évaluation de la concentration minimale inhibitrice ; ont montré que le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est très important pour toutes les souches étudiées avec des valeurs des zones d'inhibitions maximales à un volume de 20µl d'H.E : *E.coli* ATCC 25922 avec $38,5 \pm 4,77$ mm et *S.aureus* ATCC 25923 avec $42,5 \pm 3,90$ mm. Et des valeurs minimales à un volume de 10 µl d'H.E : *E.coli* ECL 3463 avec $15,66 \pm 3,78$ mm et *S.aureus* ATCC 43300 avec $26,66 \pm 2,46$ mm. La concentration minimale inhibitrice de l'H.E d'*Ammoides verticillata* pour les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 est comprise entre 0,4617 mg/ml et 0,2770mg/ml. Ainsi pour les souches de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ELC 3463 et *Escherichia coli* ECL 6611 est comprise entre 0,9235 mg/ml et 0,4617 mg/ml. Ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante par DPPH montre que l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* a une forte activité antioxydante.

Mots clé : *Ammoides verticillata* –huiles essentielles – extrait aqueux – hydrolisat - activité antibactérienne – Activité antioxydante.

Abstract

The composition of essential oils gives an important antioxidant and antibacterial activity; often find in the food industry for food preservation. The present work concerns the study of antioxidant and antimicrobial effect of essential oil *Ammoides verticillata* (NOUNKHA) of the Umbelliferae family, extracted by steam distillation with a yield of 2.9 %. The results of the antibacterial activity vis-à-vis the pathogenic bacteria (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) by well diffusion method and evaluation of the minimum inhibitory concentration, showed that the antibacterial activity of essential oil of *Ammoides verticillata* is very important for all tested strains with zones of inhibition values to a maximum volume of 20µl of ET: *E. coli* ATCC 25922 with 38.5 ± 4.77 mm and *S. aureus* ATCC 25923 with 42.5 ± 3.90 mm. And minimum values to a volume of 10 µl of ET: *E. coli* ECL 3463 with 15.66 ± 3.78 mm and *S. aureus* ATCC 43300 with 26.66 ± 2.46 mm. The minimum inhibitory concentration of the ET *Ammoides verticillata* for strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 is between 0.4617 mg / ml and 0.2770 mg / ml. And for strains of *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* 3463 ELC and *Escherichia coli* ECL 6611 is between 0.9235 mg / ml and 0.4617 mg / ml. And the evaluation of antioxidant activity by DPPH shows that the essential oil of *Ammoides verticillata* has strong antioxidant activity.

Key words: *Ammoides verticillata* –essential oils – aqueous extract – hydrosol – antibacterial activity – antioxydant activity.

المخلص :

التركيبية الكيميائية للزيوت الطيارة تزودها بفعالية هامة ضد البكتيريا و ضد الأكسدة. خاصية تبحت في مجال الأغذية الزراعية من اهل الحفاظ على الأغذية. هذا العمل يتعلق بدراسة فعالية الزيوت الطيارة ل *Ammoides verticillata* (NOUNKHA) من عائلة Umbelliferae، ضد البكتيريا و ضد الأكسدة. انتزعت عن طريق التقطير البخار مع تحقيق مردود قدره 2.9%. وأظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا ضد البكتيريا المسببة للأمراض (القولونية والمكورات العنقودية الذهبية) بواسطة طريقة الانتشار بشكل جيد وتقييم التركيز الأدنى للمثبطة، أن النشاط المضاد للبكتيريا من الزيوت الأساسية من *Ammoides verticillata* مهم جدا لجميع السلالات المختبرة مع مناطق تثبيط بقيم أقصى بحجم 20µl من البكتيريا القولونية ATCC 25922 قدرت ب 38.5 ± 4.77 ملم و البكتيريا المذهبة ATCC 25923 ب 42.5 ± 3.90 ملم. وقيم الحد الأدنى بحجم من الزيت 10 µl من البكتيريا القولونية ECL 3463 ب 15.66 ± 3.78 ملم و. البكتيريا المذهبة ATCC 43300 ب 26.66 ± 2.46 ملم. التركيز الأدنى للمثبطة لل *Ammoides verticillata* عن المكورات العنقودية الذهبية سلالات ATCC 25923 والمكورات العنقودية الذهبية ATCC 43300 ما بين 0.4617 ملغم / لتر و 0.2770 ملغم / لتر. وعلى سلالات من البكتيريا مثل *Escherichia coli* ATCC 25922، القولونية ELC 3463 والقولونية ECL 6611 ما بين 0.9235 ملغم / لتر و 0.4617 ملغم / لتر. وتقييم نشاط مضادات الأكسدة من قبل DPPH يدل على أن الزيوت الأساسية ل *Ammoides verticillata* لديه نشاط مضاد للأكسدة قوي.

Liste des abréviations

% : pourcentage.

°C : Degré Celsius.

µg : microgramme.

µl : microlitre.

A : *Ammoides*.

AFNOR : association Française de Normalisation.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.

E.coli : *Escherichia coli*.

g : gramme.

H.E : huile essentielle.

mg : milligramme.

ml : millilitre.

S.aureus : *Staphylococcus aureus*.

Liste des tableaux

Tableau 01 : Récolte, séchage et conservation des plantes.....	5
Tableau 02 : Exemples de la diversité des applications des huiles essentielles.....	18
Tableau 03 : composition chimique (%) de l'huile essentielle de <i>Carum copticum</i>	24
Tableau 04 : Utilisation d' <i>Ammoides pussila (verticillata)</i> par la population de Tlemcen....	25
Tableau 05 : Souches utilisées dans la présente expérimentation.....	29
Tableau 06 : préparation des flacons de différentes concentrations de l'H.E.....	31
Tableau 07 : Caractères organoleptique des huiles essentielles d' <i>Ammoides verticillata</i>	33
Tableau 08 : Le rendement en H.E d' <i>Ammoides verticillata</i> , par hydrodistillation.....	33
Tableau 09 : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i> . ATCC 25922.....	37
Tableau 10 : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i> . ECL 3463.....	39
Tableau 11 : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i> . ECL 6611.....	41
Tableau 12 : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	43
Tableau 13 : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300.....	45
Tableau 14 : Les concentrations minimales inhibitrices (C.M.I), pour l'huile essentielle d' <i>Ammoides verticillata</i>	45
Tableau 15 : Les concentrations minimales inhibitrices (C.M.I), pour l'huile essentielle d' <i>Ammoides verticillata</i>	47

Liste des figures

Figure 01 (A-B-C) : Biosynthèse des terpènes.....	9
Figure 02 : Structure schématique du leucoplaste sécréteur.....	10
Figure 03 : Compartimentation de la biosynthèse des monoterpènes dans les cellules sécrétrices.....	11
Figure 04 : Structure chimique des composés sélectionnés (les terpènes) des huiles essentielles.....	12
Figure 05 : Structure chimique des composés sélectionnés (les composés aromatiques) des huiles essentielles.....	12
Figure 06 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne..	16
Figure 07 : figure descriptif d'<i>Ammoides verticillata</i>.....	23
Figure 08 : Représentation graphique des différents rendements (%) de H.E d'<i>Ammoideverticillata</i>.....	33
Figure 09 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition d'<i>Escherichia coli</i>. ATCC25922.....	36
Figure 10 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition d'<i>Escherichia coli</i>. ECL 3463.....	38
Figure 11 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition d'<i>Escherichia coli</i>. ECL 6611.....	40
Figure 12 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition de <i>staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	42
Figure 13 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition de <i>staphylococcus aureus</i> ATCC 43300.....	44
Figure 14: l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'<i>Ammoides verticillata</i>.....	49
Figure 15 : l'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'<i>Ammoides verticillata</i>.....	50

Liste des photos

Photos 01 : <i>Ammoides verticillata</i>	21
Photo 02 : Montage pour l'hydrodistillation.....	27
Photos 03 : zones d'inhibition (halots claire) de <i>E.coli</i> ATCC 25922 à :(E.P) eau physiologique ;(c) chloramphénicol ; (10) H.E à 10 µl ; (20) H.E à 20 µl.....	36
Photos 04 : zones d'inhibition (halots claire) de <i>E.coli</i> ECL3463 à :(E.P) eau physiologique ; (c) chloramphénicol; (10) H.E à 10 µl; (20) H.E à 20 µl.....	38
Photos 05 : zones d'inhibition (halots claire) de <i>E.coli</i> ECL 6611 à :(E.P) eau physiologique ; (c) chloramphénicol; (10) H.E à 10 µl; (20) H.E à 20 µl.....	40
Photos 06 : zones d'inhibition (halots claire) de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 à :(E.P) eau physiologique ; (c) chloramphénicol ; (10) H.E à 10 µl ; (20) H.E à 20 µl.....	42
Photos 07 : zones d'inhibition (halots claire) de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300 à :(E.P) eau physiologique ; (c) chloramphénicol ; (10) H.E à 10 µl ; (20) H.E à 20 µl.....	44
Photos08 : Croissance bactérienne d' <i>Escherichia coli</i> à différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>Ammoides verticillat</i>	46.
Photos 08 : Croissance bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i> à différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>Ammoides verticillata</i>	47

Table des matières

Introduction	1
Chapitre 1 : Généralité sur les plantes médicinales et les huiles essentielles.....	3
1. Les plantes médicinales.....	3
1.1. Métabolisme secondaire.....	3
1.2. Récolte et conservation des plantes.....	4
2. Les huiles essentielles.....	6
2.1. Répartition et localisation des huiles essentielles.....	6
2.2. Biosynthèse des huiles essentielles.....	7
2.2.1. Biosynthèse des terpènes.....	7
2.2.2. Biogénèse des monoterpènes.....	7
2.2.2.2. Elaboration et sécrétion.....	8
2.3. Composition chimique des huiles essentielles.....	8
2.4. Méthodes d'extraction des H.E.....	13
✓ Hydrodistillation simple.....	13
✓ Entraînement à la vapeur d'eau.....	13
✓ Extraction par les solvants.....	13
2.5. Pouvoir antimicrobienne des huiles essentielles.....	14
2.6. Propriétés et mode d'action des huiles essentielles.....	14
2.7. Toxicité des huiles essentielles.....	17
2.8. Application des huiles essentielles.....	17
Ø En industrie agroalimentaire.....	17
Ø En parfumerie et cosmétique.....	19
Ø En pharmacie.....	19
2.9. L'aromathérapie.....	20
2.10. Contrôle de qualité des huiles essentielles.....	20
2.11. Activité antioxydante des huiles essentielles.....	20

Chapitre 2 : La plante étudiée.....	21
2.1.Introduction.....	21
2.2.Classification botanique de la plante.....	22
2.3.Description de la famille.....	22
2.4.Description de la plante.....	22
2.5.Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Ammoides verticillata</i>	23
2.6.Usage thérapeutique d' <i>Ammoides verticillata</i>	25
Chapitre 3 : Matériels et méthodes.....	26
1.Matériel végétal.....	26
1.1.Provenance du matériel végétal.....	26
1.2.Parties utilisées.....	26
2.Méthodes.....	26
2.1.Extraction.....	26
2.1.1Procédés d'extraction et conservation de l'huile essentielle.....	26
2.1.2.Calcul du rendement en huile essentielle.....	28
2.2.Teste de l'activité antibactérienne.....	28
2.3.Microorganismes testées et préparation de l'inoculum.....	28
2.3.1.Origine des bactéries.....	28
2.3.2.Conservation des souches.....	29
2.3.3.Milieu de culture.....	29
2.3.4.Préparation des inoculum.....	29
2.4.Evaluation de l'activité antibactérienne.....	29
2.4.1.Méthode de diffusion en puits.....	30
2.4.2.Détermination de la concentration minimale inhibitrice par la méthode du contact direct en milieu solide.....	31
3.Evaluation de l'activité antioxydante.....	32

Chapitre 4 : Résultats et discussions.....	33
4.1.Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle extraite.....	33
4.2.Rendement en huile essentielle.....	33
4.3.Etude de l'activité antibactérienne.....	34
4.3.1.Activité antibactérienne des huiles essentielles vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	34
4.3.2. Activité antibactérienne des huiles essentielles vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> ECL 3463.....	37
4.3.3.Activité antibactérienne des huiles essentielles vis-à-vis <i>Escherichia coli</i> ECL 6611.....	39
4.3.4.Activité antibactérienne des huiles essentielles vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	41
4.3.5. Activité antibactérienne des huiles essentielles vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300.....	43
5 .Détermination des concentration minimales inhibitrices (CMI).....	45
6.Evaluation de l'activité antioxydante.....	48
6.1.Activité antioxydante de l'huile essentielle d' <i>Ammoides verticillata</i>	48
6.2.Activité antioxydante de l'extrait aqueux d' <i>Ammoides verticillata</i>	49
6.3.Activité antioxydante de l'hydrodistillat d' <i>Ammoides verticillata</i>	50
Conclusion et perspectives.....	51
Références bibliographiques.....	53

Introduction

Introduction

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle biologique des autres organismes vivants tel que les animaux aussi bien des êtres humains. L'ensemble de ces organes forme une usine productrice immense, des milliers de substances qui sont différentes sur le plan structural biologique. Cette usine utilise le CO₂ dégagé dans l'atmosphère et l'H₂O comme matières premières par le biais de la photosynthèse pour produire la première matière organique qui est C₆H₁₂O₆ (Madi, 2010).

Toutes plantes sont capables de produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires, ils accumulent des métabolites dits secondaires parmi lesquels, les huiles essentielles, très utilisées par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Haddouchi et Benmansour, 2008).

Les huiles essentielles de ces plantes ont toutes une particularité commune: elles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous. Reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons (Piochon, 2008).

En industrie alimentaire, jusqu'à présent de nombreux micro-organismes pathogènes ; tels que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes* et *Campylobacter jejuni*, ont été signalés comme agents responsables de maladies d'origine alimentaire et d'altération des aliments (Betts et al., 1999 ; Deak et Beuchat, 1996 ; Pitt et Hocking, 1997 ; Walker, 1988). Les aliments frais et/ou transformés sont ouverts à la contamination au cours de leur production, leur vente et leur distribution (Deak et Beuchat, 1996). Ainsi à l'heure actuelle, il est nécessaire d'utiliser des produits chimiques de conservation afin de prévenir la multiplication des microbes dans les aliments (Sagdiç et Ozcan, 2003).

Actuellement, la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes purement naturelles est la préoccupation capitale de la plupart des gens et des chercheurs (Hellal, 2011).

En effet, elles ont de nombreux effets biologiques : antibactérien sans développement de phénomène de résistance, antioxydant activateur du système immunitaire, stimulateur des processus de digestion. Certains antimicrobiens naturels comme le thymol extrait du thym ont démontré leur intérêt pour la conservation des aliments (**Guillier et al., 2007**).

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* (Nounkha) vis-à-vis de cinq souches de bactéries pathogène à savoir *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Eschérichia coli* ATCC 25922, *Eschérichia coli* ELC 3463 et *Eschérichia coli* ECL 6611, ainsi que l'étude de l'activité antioxydante de l'ensemble des huiles essentielles, de l'extrait aqueux et de l'hydrodistillat d'*Ammoides verticillata* par le test du DPPH.

Nous sommes intéressés d'étudier cette plante pour son large utilisation par la population locale. En plus, la plante est spontanée endémique et peu connue en Algérie.

Partie bibliographique

Chapitre 1

*Généralités sur les plantes médicinales
et les huiles essentielles*

Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales et les huiles essentielles

1. Les plantes médicinales

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité ; Il ya environ 500 000 plantes sur terre dont 10 000 d'entre elles, environ, possèdent des propriétés médicinales (**Iserin, 2001**).

Selon la réglementation française et d'après la circulaire n°346 du 2 juillet 1979 du code de la santé publique : Un plante médicinale est " une plante présentant des propriétés médicamenteuses, sans avoir ni ne pouvant avoir aucune utilisation alimentaire, condimentaire et hygiénique ; pour les plantes présentant des propriétés autres que des propriétés médicamenteuses, elles sont considérées comme des plantes aromatiques condimentaires (**Veillot, 2001**).

1.1 Métabolisme secondaire

Depuis toujours les plantes ont constitué une source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire : Parmi les milliers de molécules produites par ce métabolisme, l'homme sélectionne celles qui lui permettent de se défendre contre les agressions d'autres organismes vivants pathogènes et de corriger ses troubles métaboliques (**Fouché et al., 2000**).

La vie sur terre dépend du monde végétal. C'est par la transformation énergétique qui se réalise dans les grains (chloroplastes) des cellules chlorophylliennes des plantes vertes opérant comme de véritables laboratoires biochimiques qu'est apparu l'oxygène, et donc la vie sur terre, plaçant l'humanité sous la dépendance du monde végétal. En effet, la chlorophylle, pigment vert des plantes, aide à capter l'énergie solaire. Cette réaction appelée photosynthèse, produit des substances complexes et nutritives (amidon, protéines, voir graisses) à partir de corps très simples et incombustibles (eau, gaz carbonique de l'air, nitrates). A partir du glucose produit dans les feuilles, la plante peut synthétiser d'autres molécules appelées métabolites secondaires et notamment, parmi les 10 000 recensées à ce jour, des lipides (graisses) des huiles essentielles, des glucosides, des tanins, des vitamines, et d'autres composants actifs comme les alcaloïdes, les terpènes, les saponines...etc. Certains de ces

molécules ont été synthétisés comme un élément de défense de la plante, pour l'aider à lutter contre certaines bactéries et champignons (**Lucienne, 2010**).

On peut classer les métabolites secondaires en différents groupes:

- les composés phénoliques: avec un groupe hydroxyle sur un cycle aromatique. Ils interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). On a, par exemple, la lignine, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes et les anthocyanes.

- les composés azotés: Ils comprennent les alcaloïdes et les glycosides (qui larguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abîmées). Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On a, par exemple, la nicotine, l'atropine, la codéine et la lupinine.

- les terpènes

- les poly-isoprènes

Les composés aromatiques peuvent être classés en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique. On distinguera :

- _ Les dérivés en C_6C_1 et C_6C_2 .

- _ Les dérivés en C_6C_3 (phénylpropanoïdes).

- _ Les dérivés en $C_6 - C_1$ (ou C_2, C_3) – C_6 ou dérivés « mixte ».

Les tanins, composés provenant de la polymérisation de dérivés aromatiques et les quinones (**Guignard et al., 1985**).

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone ($C_5 H_8$) reconnue par Wallach dès 1887 (**Lamarti et al., 1994**).

1.2. Récolte et conservation des plantes

Les propriétés pharmacologiques des plantes médicinales dépendent essentiellement de la région de production, de la période de récolte, des techniques de cueillette et des modalités de conservation (Tableau 01). La connaissance de ces conditions doit toujours être présentée à l'esprit afin de garantir la qualité des produits et de protéger leur source de production. Par contre la négligence de

ces données a contribué, pour beaucoup à faire tomber les plantes à plusieurs reprises, dans le discrédit (Valnet, 2001. In : Haddouchi 2006).

Tableau 01 : Récolte, séchage et conservation des plantes (Valnet, 2001. In : Haddouchi 2006).

Partie de la plante	Cueillette	Séchage	Conservation
Racines		A l'air sec	A l'abri de l'humidité
Racines charnues		A l'étuve	
Racines mucilagineuses		Au four	
Racines vivaces	Au printemps		
Racines des plantes annuelles et bisannuelles	En automne		
Ecorce des plantes annuelles et bisannuelles	Quand il a acquis une certaine épaisseur et se sépare facilement du corps	Au soleil ou à l'étuve	
Ecorce d'arbre	En hiver		
Ecorce d'arbrisseau	En automne		
Ecorce de résineux	En printemps		
Bois			
Fleurs	Au début de leur épanouissement Les fleurs de rose se cueillent en boutons	A l'ombre et à atmosphère sèche	
Feuilles	Avant la floraison		
Semences	Quand la plante se dessèche		
Tiges	En même temps que les feuilles	Au soleil ou dans une serre à 30-35°C	
Feuilles épaisses			
Bourgeons	Au début du printemps		
Fruits	Un peu avant complète maturité		

2. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles (H.E), Les molécules actives impliquées dans les mécanismes de défense des plantes, sont issues du métabolisme secondaire. Elles ne participent pas directement à la croissance des plantes, mais ont évolué pour leur fournir une protection naturelle contre les attaques de microbes ou d'insectes. Une partie de ces métabolites secondaires se concentre dans les sacs oléifères, qui sont des poches sécrétrices d'huiles essentielles (**Guinoiseau, 2010**).

Pour la 8^e édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (=essences=huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation » (**Bruneton, 1993**).

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie. Les huiles essentielles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine trapénoïde et possédant un noyau aromatique (**Iserin, 2001**).

2.1. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs qui sont répartis dans un nombre limité de familles. Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux :

Fleurs bien sur (bergamotier, tubéreuse...) mais aussi feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier...) et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal...), des racines (vétier), des rhizomes (curcuma, gingembre...), des fruits (tout-épices, anis, badiane...), des grains (muscade...). La composition de ces huiles essentielles peut varier selon leur localisation (**Bruneton, 1999**).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante :

- Cellules à huiles essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae,
- Poils sécrétrices des Lamiaceae,
- Poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae,

- Canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae (**Bruneton, 1993**).

2.2. Biosynthèse des huiles essentielles

Les huiles essentielles produits du métabolisme secondaire des plantes, se compose généralement de :

1. Les métaux volatils synthétisés via le précurseur isopentenyl pyrophosphate (IPP), consistent en des mélanges complexes se composants des mono-sesquiterpènes hydrocarbonés et des matériaux oxygénés dérivé d'eux.

2. Phényl propanoïdes de la voie acide shikimique, et leurs produits de biotransformation (**Hatanaka et al., 1987**).

2.2.1. Biosynthèse des terpènes

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal (figure 01). Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) reconnue par Wallach en 1953. Cet isoprène (I) est la base du concept de la « règle isoprénique » énoncée en 1953 par Ruzika. Cette règle considère le diphosphate d'isopentényl(II), désigné sous le nom d'isoprène actif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique (**Mohammedi, 2006**).

2.2.2. Biogénèse des monoterpènes

2.2.2.1. Site de biosynthèse

Les leucoplastes jouent un rôle primordial dans la biosynthèse des monoterpènes, selon un processus intense et bref (Figure 02). Le transport et l'accumulation de ces composés seraient assurés par le réticulum endoplasmique. Des structures d'association de type membranaire se mettent en place entre les leucoplastes et le réticulum endoplasmique. Les cellules sécrétrices vivantes mais inactives peuvent retrouver leur potentialité de synthèse terpénique après une blessure (**Lamarti et al., 1994**).

2.2.2.2. Élaboration et sécrétion

L'IPP est l'intermédiaire clé dans la formation des composés terpéniques. La première étape de la formation des diphosphates des prényles est l'isomérisation de l'IPP en diphosphate de diméthylallyle (DMAPP). Cette réaction est catalysée par une enzyme hydrosoluble, l'isopentényl diphosphate isomérase (Lamarti *et al.*, 1994 ; Dudariva *et al.*, 2005).

La biosynthèse des terpénoïdes implique l'addition de l'unité isoprène avec son isomère pour former le géranyl diphosphate (GPP, C 10), condensé avec une autre unité IPP forme le diphosphate de farnesyl (FPP, C15) à l'origine des sesquiterpènes.

Les précurseurs parentaux compte tenu de la modification structurale par l'oxydation, la réduction, l'isomérisation, l'hydratation, la conjugaison et/ou d'autres transformations donnent une variété de terpénoïdes (Dubey *et al.*, 2003).

Le diphosphate d'isopentényle (IPP), élaboré dans le cytoplasme, pénètre par un mécanisme encore inconnu dans le leucoplaste, où il subit dans le stroma l'isomérisation en diphosphate de diméthylallyle (DMAPP). MVA : acide mévalonique ; PT : prényltransférases (figure 03) (Dagan, 1988).

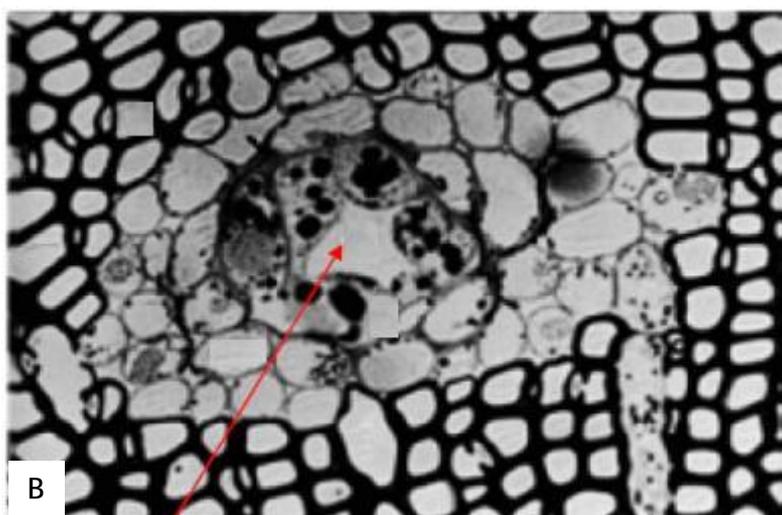
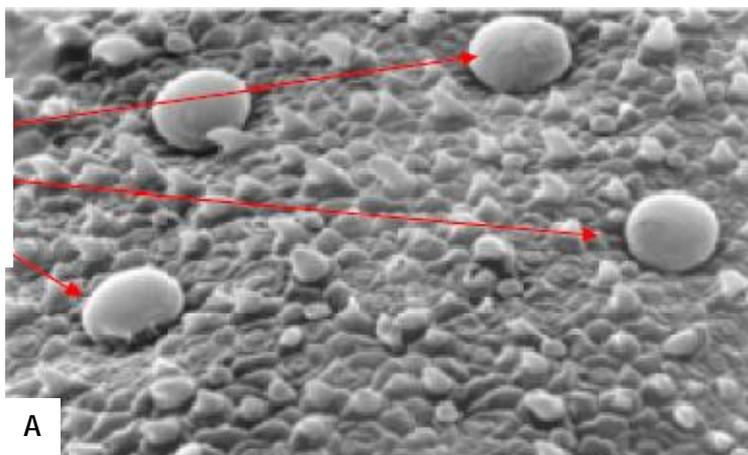
2.3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont de très complexes mixtures naturelle qui contient jusqu'à 60 composés à des concentrations différentes. Ils sont caractérisés par deux ou trois composés majoritaires avec des concentrations nettement élevées (20-70%) par rapport aux autres composés présents en faible quantité. Généralement, les composés majoritaires déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles. Ces composés comprennent deux groupes de biosynthèse (figure 04). Le premier est un composé de terpènes et des terpénoïdes et le second de constituants aromatiques et aliphatiques (composés organiques à chaîne carbonée ouverte) (figure 05) (Bakkali *et al.*, 2008).

Les composés terpéniques et les composés aromatiques, dérivés du phénylpropane. Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques (en C5) et comprennent les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20) et les tri terpènes (C30). Ces composés ont tous la même origine métabolique. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane ont une biogenèse différente de celle des terpènes.

La composition chimique des HE varie avec le milieu et l'époque de la végétation. Elle peut aussi se modifier au cours de l'extraction et durant la conservation (Chami, 2005).

Feuille de thym : trichomes glandulaires où sont synthétisés les mono et les sesquiterpènes qui sont responsable des arômes.



Tuyau résinifère du pin

Feuille de citron : cavité de sécrétion

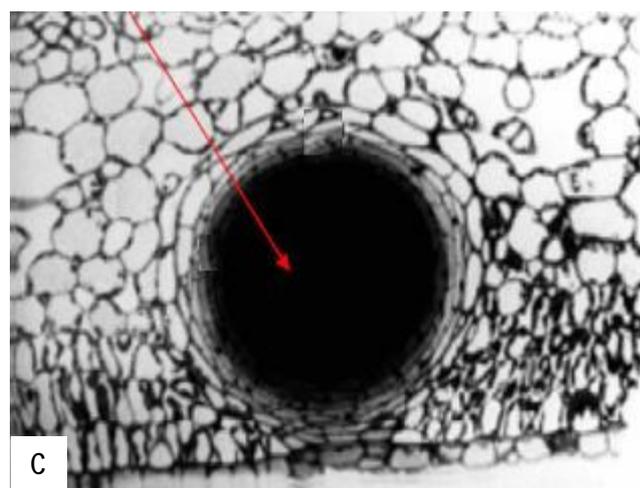


Figure 01 (A-B-C) : Biosynthèse des terpènes (Anonyme 1).

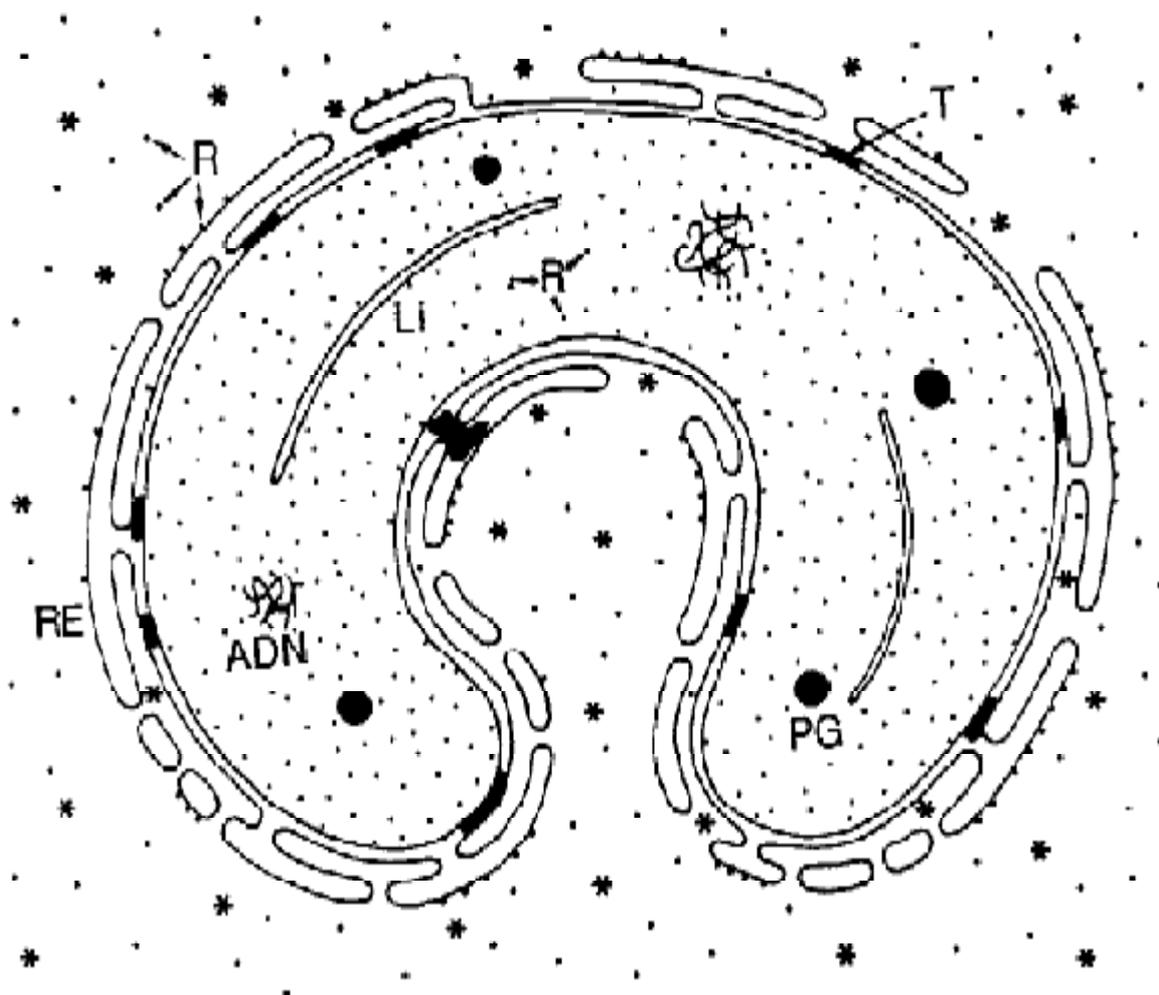


Figure 02 : Structure schématique du leucoplaste sécréteur (Carde, 1979).

ADN : fibrilles d'acide désoxyribonucléique

PG : platoglobules

R : ribosomes

RE : réticulum endoplasmique

T : terpène

Li : lamelle interne

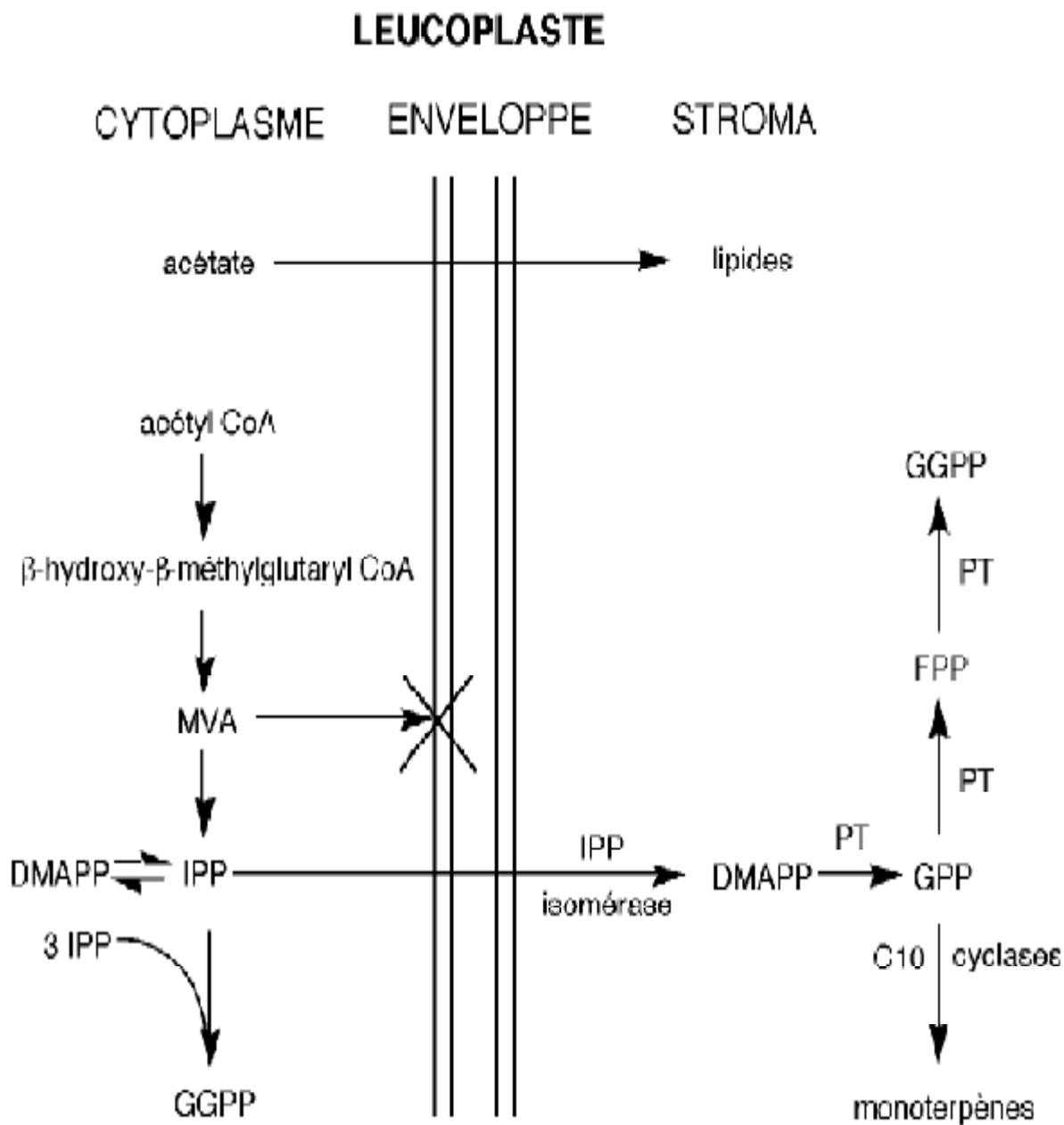


Figure 03 : Compartimentation de la biosynthèse des monoterpènes dans les cellules sécrétrices (Dagan, 1988).

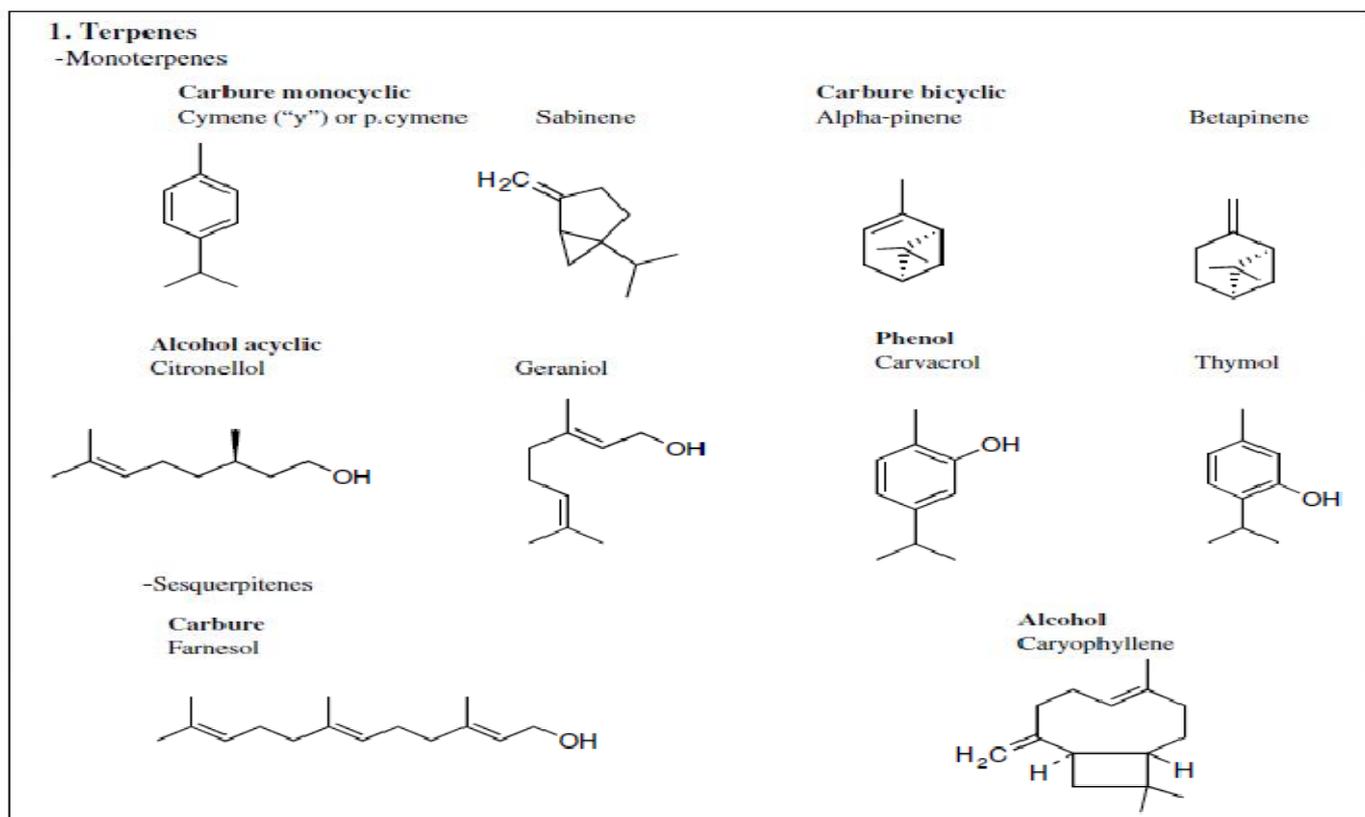


Figure 04 : Structure chimique des composés sélectionnés (les terpènes) des huiles essentielles (Bakkali et al., 2008).

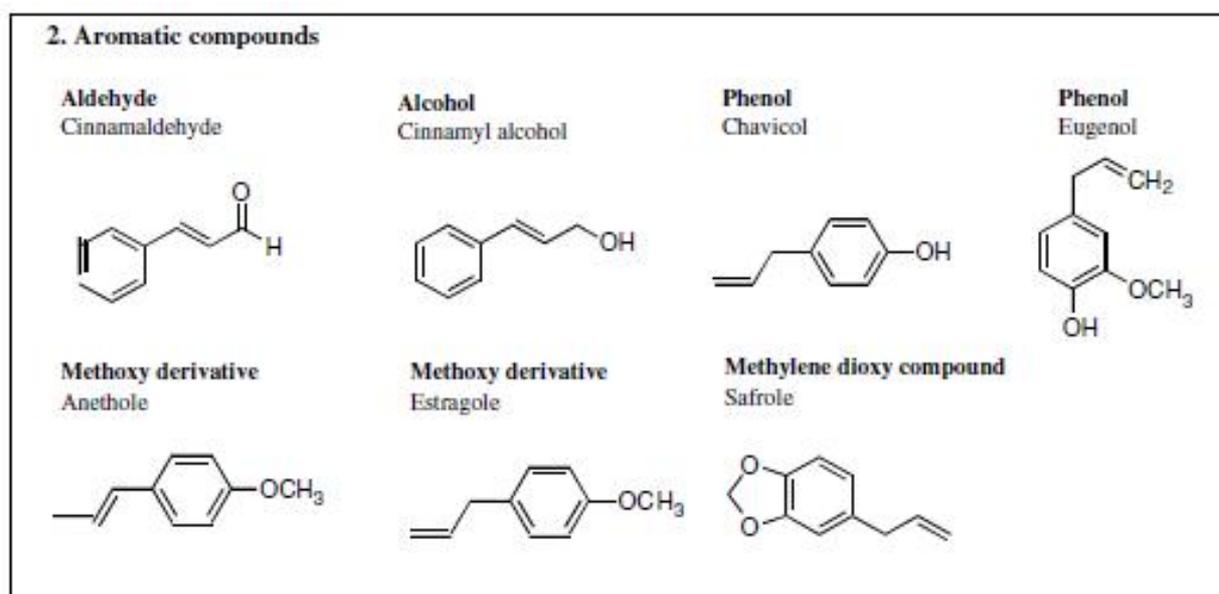


Figure 05 : Structure chimique des composés sélectionnés (les composés aromatiques) des huiles essentielles (Bakkali et al., 2008).

2.4. Méthodes d'extraction des HE:

✓ Hydrodistillation simple :

La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les HE se séparent de l'eau par différence de densité (Benayad, 2008).

✓ Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Lucchesi, 2005).

✓ Extraction par les solvants

L'extraction par les solvants est précédée d'une division de la plante. Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économique. Les solvants les plus utilisés, sous réserve de législation restrictives particulières, sont les hydrocarbures aliphatiques : éther de pétrole, hexane mais aussi propane ou butane liquides. On a également recours aux solvants hétérogènes et l'éthanol.

Après l'extraction, le solvant est distillé. En fin d'opération, le solvant qui imbibait la masse végétale est récupéré par injection de vapeur d'eau dans celle-ci (Bruneton, 1999).

2.5. Pouvoir antimicrobienne des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont un spectre d'action biocide très large puisqu'elles inhibent la croissance de moisissures, levures et bactéries (De Billerbeck et al., 2002).

Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets: une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. Le plus souvent l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides. Plusieurs études ont ainsi montré l'apparition de fuites d'ions potassium dans les cellules microbiennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) en contact avec de l'huile essentielle d'arbre à thé (*tea tree*). Cette fuite de potassium est la toute première preuve de l'existence de lésions irréversibles au niveau de la membrane de la bactérie. Le thymol, le carvacrol, des composants actifs d'huiles essentielles, rendent perméable la membrane des bactéries, un effet précurseur de leur mort. Les huiles essentielles ont donc bien des propriétés bactéricides (Zhiri, 2006).

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (Zhiri, 2006).

2.6. Propriétés et mode d'action des huiles essentielles

D'après Willem (2002), les molécules aromatiques se manifestent à différents niveaux ; en schématisant, on peut dire que les huiles essentielles ont une action directe et indirecte.

Ø Une action directe :

- sur un métabolisme (foie, reins...),
- sur les micro-organismes pathogènes,
- sur une fonction physiologique particulière (thyroïde, pancréas...),
- sur la régulation hormonale (plantes cortisone-like et folliculine-like),
- sur la stimulation des catalyses enzymatiques,
- sur la fonction émonctorielle de certains organes.

Cette action directe s'exerce dans trois domaines spécifiques :

- **Pouvoir antiseptique** : les huiles essentielles sont antibactériennes, antivirales, antiparasitaires.
- **Pouvoir désintoxicant** : un organisme malade est un organisme encrassé et affaibli, qui n'a pas pu résister à une agression extérieure. Toutes les thérapeutiques naturelles favorisent la

dissolution et l'élimination des déchets du métabolisme qui s'accumulent dans le corps. Cette élimination s'effectue par l'un des grands « émonctoires » – circuits d'élimination – du corps : les poumons, les reins, les intestins, la peau, le carrefour ORL.

– **Action sur les différents métabolismes** : foie, pancréas, thyroïde, génital...

Ø **Une action indirecte** : par une approche scientifique du terrain biologique.

Elles agissent en intervenant sur les processus biologiques et par modification du terrain local et général grâce à leur activité énergétique.

Les modes d'action des huiles essentielles et de leurs principaux constituants, décrits jusqu'à présent, semblent tous affecter la paroi ou la membrane cytoplasmique. Cependant, la variabilité chimique des huiles essentielles laisse présager l'existence de molécules pouvant agir par de nouveaux mécanismes cellulaires (**Guinoiseau, 2010**)

Les huiles essentielles comprennent un grand nombre de composants et il est probable que leur mode d'action implique plusieurs cibles dans la cellule bactérienne. L'hydrophobie des huiles essentielles leur permet de partition dans les lipides de la membrane cellulaire et les mitochondries, les rendant perméable et conduisant à des fuites du contenu des cellules. Les conditions physiques qui améliorent l'action des huiles essentielles sont à faible pH, basse température et faible teneur en oxygène. La synergie a été observée entre le carvacrol et de son précurseur *le p-cymène* et entre cinnamaldéhyde et l'eugénol. Effets indésirables organoleptiques peuvent être limités par une sélection rigoureuse des huiles essentielles en fonction du type de nourriture (Figure 06) (**Burt, 2004**).

Les huiles essentielles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches de bactéries, mais d'une manière générale leur action se déroule en trois phases :

- attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**Caillet et Lacroix., 2007**).

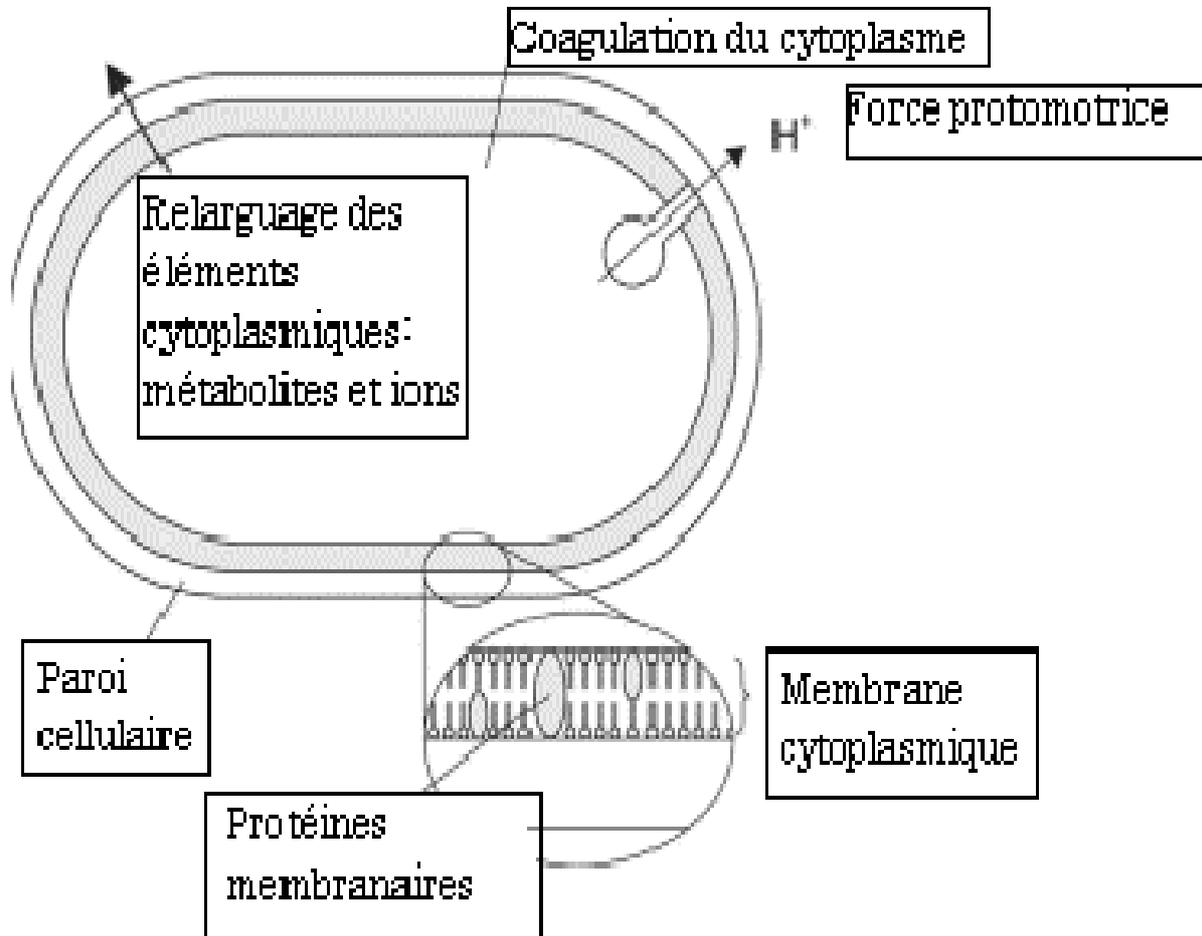


Figure 06 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004)

2.7. Toxicité des huiles essentielles

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise.

Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (**Degryse et al., 2008**).

Selon **Englebin (2011)**, les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée de la plante aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quelque soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée. Paracelse a dit : « Rien n'est poison, tout est poison, tout dépend de la dose » Il faut également savoir qu'une période trop prolongée provoque l'inversion des effets et/ou l'apparition d'effets secondaires indésirables.

2.8. Applications des huiles essentielles

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Amarti et al., 2010**). Leurs champs d'application s'articulent sur trois secteurs (Tableau 02) à savoir :

Ø En industrie agro-alimentaire

Les études faites à travers le monde, montrent que les huiles essentielles peuvent être ajoutées à peu près à tous les aliments. Ainsi, les huiles essentielles d'origan, de thym, de cannelle ou de coriandre sont efficaces pour les viandes, les volailles, les charcuteries et les légumes; l'huile essentielle de menthe pour les produits frais (salades, yaourts...); les huiles essentielles à base de carvacrol ou de citral pour les poissons; les huiles essentielles de thym, de noix de muscade ou de gingembre pour les céréales (plus particulièrement celles riches en carvacrol pour le riz); et les huiles essentielles à base de carvacrol ou de cinnamaldéhyde, pour les fruits. Toutefois, quelques limites existent à l'utilisation des huiles essentielles comme agents de conservation dans les aliments, notamment le pouvoir aromatisant de certaines

d'entre elles. Cependant des techniques de désaromatisation existent et sont de plus en plus efficaces (Caillet et Lacroix., 2007).

Tableau 02 : Exemples de la diversité des applications des huiles essentielles (Grysole, 2005).

Huiles essentielles	Parfumerie		Alimentation	Médecine
	cosmétiques	technique		
basilic	parfum		arôme pour sauces et condiments	antispasmodique régulateur du système
citronnelle		arôme pour savons, désinfectant, éloigne les insectes	arôme pour boissons et sucreries	
eucalyptus			arôme pour boissons, sucreries, crèmes glacées	anti-inflammatoire
géranium	parfum		arôme pour sucreries, chewing-gum	anti-spasmodique, relaxant
lemongrass				vasodilatateur, sédatif
menthe poivrée		saveur pour dentifrice	saveur pour liqueurs, glaces, chewing-gum, chocolat	antalgique, anesthésique, tonique, stimulant du système nerveux
menthe verte			saveur pour boissons, sucreries, crèmes glacées	saveur pour les sirops par exemple

D'autre part, les effets organoleptiques indésirables peuvent être limités en sélectionnant soigneusement l'huile essentielle selon le type d'aliment considéré, mais il est important de noter, que dans la plupart des cas, les concentrations d'huiles utilisées sont si faibles, qu'elles ne modifient pas les qualités organoleptiques de l'aliment. Un autre aspect à prendre en compte, c'est de vérifier que l'huile essentielle sélectionnée n'a pas d'effet antimicrobien contre les bactéries utiles, notamment les ferments d'acidification, d'aromatisation et d'affinage, indispensables à la fabrication des produits. Moyennant ces précautions d'usage, l'emploi des huiles essentielles lors de la transformation des aliments peut présenter un triple intérêt: aromatisant, antioxydant et antimicrobien (**Caillet et Lacroix., 2007**).

Certaines huiles essentielles sont également actives sur des champignons responsables de mycoses et sur des levures (*candida*). Les substances actives sont en générale faibles et celle qui sont déterminées par une expérimentations *in vitro* sont directement transposables pour une utilisation par voie externe ou, a fortiori, comme conservateur. Sarriette, cannelle, thym, girofle, lavande, eucalyptus sont au nombre des huiles essentielles les plus antiseptiques. Des composés comme le citral, géraniol, le linalol ou le thymol sont respectivement 5, 2, 7,1, 5 et 20 fois plus antiseptiques que le phénol (**Bruneton, 1993**).

Ø En parfumerie et cosmétique

L'utilisation des huiles essentielles comme base dans la fabrication de parfums constitue une pratique courante depuis des siècles dans la plupart des civilisations. Toujours d'actualité, cet usage a cours particulièrement en Europe et aux États-Unis. Ces régions ont d'ailleurs développé des industries importantes qui se démarquent par leur haut niveau d'exportations dans ce domaine (**Grysole, 2005**).

Ø En pharmacie

Dans leur grande majorité, elles sont utilisées en nature, en particulier pour la préparation d'infusions (menthe, mélisse, verveine, fleurs d'orange, etc.) et sous la forme de préparations galéniques simples. Elles sont également utilisées pour l'obtention d'huiles essentielles dont un petit nombre peut avoir un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes) mais qui, majoritairement, sont surtout destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale. Les huiles essentielles

constituent également le support d'une thérapeutique particulière : l'aromathérapie (**Bruneton, 1993**).

2.9. L'aromathérapie

L'aromathérapie, qui signifie littéralement « soin par les odeurs » est le terme que l'on utilise pour désigner la thérapie basée sur l'utilisation des huiles essentielles. Il s'agit donc de la capacité et de l'art de soigner avec les huiles essentielles (**Buronzo, 2008**).

L'aromathérapie est l'utilisation des huiles essentielles à des fins thérapeutiques. C'est une "biochimio-thérapie" naturelle sophistiquée qui repose sur la relation existant entre les composants chimiques des huiles essentielles et les activités thérapeutiques qui en découlent. Elle recourt à une méthodologie rigoureuse qui s'inspire de données scientifiques solides confirmées tant par la clinique que par le laboratoire. C'est une thérapeutique naturelle de qualité supérieure (**Baudoux, 2008**).

2.10. Contrôle de qualité des huiles essentielles

Selon la Pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants. La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (**Pibiri, 2006**).

Une huile essentielle pure et naturelle est caractérisée par sa composition strictement « végétale », contrairement aux essences synthétiques ou « identiques naturelles » intégralement reconstituées à partir de composés chimiques de synthèse (**Pibiri, 2006**).

2.11. Activité antioxydante des huiles essentielles

Les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation (**Bouhdid et al., 2006**).

Des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine alimentaire. Les huiles essentielles et leurs composants sont connus pour posséder des activités antioxydantes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaire, ou approuvés comme additifs alimentaires (**Caillet et Lacroix, 2007**).

chpitre 2

La plante étudiée

2.1. Introduction

Ammoïdes verticillata est une plante odorante qui pousse spontanément dans le Nord de l'Afrique ainsi qu'en Nord d'Asie. Cependant, les principaux cultivateurs sont l'Inde et Perse. Les deux grandes qualités d'*Ammoïdes verticillata* sont sa forte action stimulante et son remarquable pouvoir antimicrobien (Bekhechi et Abdelouahid., 2004).

Cette plante est fortement aromatique et piquante ; son odeur est très agréable mais très diffusible et intense ; fortement balsamique, persistante même après la dessiccation (Daïne et Mostefai, 1998).

Noms vernaculaires

Nounkha, Nûnkha, Ajowan ou Ajawain

En Arabe : Taleb El Koubs (Abdelouahid Bekhechi ., 2004).

Noms scientifiques

Ptychotis verticillata, *Ammoïdes* (ou *Ptychotis*) *verticillata* *Trachyspermum* Boiss (Quesel et Senta, 1963).

Carum copticum (Benth et Hook) (Goudarzi et al., 2011).



Photos 01 : *Ammoïdes verticillata* (Abdelouahid Bekhechi ., 2004).

2.2. Classification botanique de la plante

Ammoides (ou *Ptychotis*) *verticillata* est classé selon la clé de détermination botanique, d'après Quesel et Senta (1963) et Guinochet et Vilmorin (1975) comme suit :

<i>Embranchement</i>	<i>Phanérogames</i>
<i>S.embranchement</i>	<i>Angiospermes</i>
<i>Classe</i>	<i>Dicotylédones</i>
<i>S.classe</i>	<i>Dialypétales</i>
<i>Série</i>	<i>Calciflores</i>
<i>Ordre</i>	<i>Ombellales</i>
<i>Famille</i>	<i>Ombellifères</i>
<i>Genre</i>	<i>Ammoides ou Ptychotis</i>
<i>Espèce</i>	<i>Verticillata</i>

2.3. Description de la famille :

La famille des ombellifères se caractérise par une organisation florale très homogène ce qui rend l'identification délicate. Elle doit son nom à son inflorescence ordinairement en ombelle et ombellules. La morphologie du fruit apporte une aide à l'identification. Cette famille est représentée dans le monde entier, principalement dans les régions tempérées de l'hémisphère nord et compte environ 438 genres et 3955 espèces (Rubinstein, 2009).

2.4. Description de la plante

Plante annuelle grêle à souche filiforme, à tige très ramifiée de 10-40 cm, sans rosette de feuilles basales. Feuilles inférieures pétiolées à nombreux segments multifides verticillés, les supérieures pennatifides à segments linéaires. Ombelles principales à 8-15 rayons. Fruits ovoïdes de moins de 1 mm de long, trouvé généralement dans la nature ; cette plante

caractérise les pelouses des montagnes, forêts, surtout les zones arides et semi-arides (**Quesel et santa, 1963**).

Plante annuelle de 15-35 cm., glaucescente, à racine grêle, pivotante ; tige dressée, striée, grêle, à nombreux rameaux étalés ; feuilles radicales pennatiséquées, à 3-5 segments très rapprochés, étroits, trifides, les caulinares découpées en lanières capillaires paraissant verticillées ; ombelles petites, penchées avant la floraison, à 6-12 rayons capillaires, très inégaux, les intérieurs très courts ; involucre nul ; involucelle à 5 folioles inégales, 3 sétacées, 2 spatulées et aristées ; styles réfléchis, égalant le stylopode ; fruit petit, ovoïde (**Benoît, 2011**).



Figure 07 : figure descriptif d'*Ammoides verticillata* (Benoît, 2011).

2.5. Composition chimique de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*

Selon les travaux d'**El Ouariachi et al. (2010)** ; La composition chimique de l'huile essentielle de *P. verticillata* de Maroc a été caractérisée par 19 électeurs, qui représentaient pour 98,9% du total du pétrole. L'huile a 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%).

Dans une autre étude faite par **Gaudarzi et al. (2011)** la composition chimique de l'huile essentielle de *Carum copticum* (*Ammoides verticillata*) de la région de Tahrán (Iran) est présentée dans le tableau 03.

Tableau 03 : composition chimique (%) de l'huile essentielle de *Carum copticum*
(Gaudarzi et al., 2011).

Composés	Indice de rétention α	(%)	Méthodes d'identification
α -thujene	932	0,5	SM, IR
α -pinene	941	0,2	SM, IR, ICo
Sabinene	981	0,3	SM, IR
β -pinene	984	2,5	SM, IR, ICo
α -phyllanderene	1000	0,7	SM, IR
α -terpinene	1022	0,7	SM, IR
<i>p</i> -cymene	1028	21,1	SM, IR, ICo
β -phyllanderene	1035	0,4	SM, IR
-terpinene	1060	36,5	SM, IR, ICo
Terpinene- 4 - ol	1177	0,01	SM, IR
Thymol	1294	36,7	SM, IR, ICo
Carvacrol	1306	0,1	SM, IR
Total		99,7	

Indice de rétention α : indice de Kovats. **SM** = spectrométrie de masse,
IR : Indice de rétention, **ICo** : injection avec des composés authentiques.

2.6. Usage thérapeutique *D'Ammoides verticillata* :

D'après l'enquête thérapeutique réalisée par **Felidj et al. (2010)** effectuée auprès de la population locale Tlemceniène, la plante est utilisée aussi bien pour des fins culinaires que thérapeutiques. C'est une plante aux effets antispasmodiques, laxatifs, diurétiques, anti-inflammatoires qui peut aussi servir comme condiment culinaire. Les types d'utilisation sont repris dans le tableau suivant (**tableau 04**).

Tableau 04 : Utilisation d'*Ammoides pussila* (*verticillata*) par la population de Tlemcen (**Felidj et al. 2010**).

Parties de la plante utilisées	Indications	Mode d'emploi
Plante entière	Fièvre Rhume et grippe Problèmes respiratoires Infections rénales Parasites intestinaux Cycle douloureux Antispasmodique Laxatif Migraines et sinusites Boissons rafraîchissantes	Inhalation Inhalation ou infusion de la plante mélangée avec de citron Inhalation ou infusion Infusion Infusion ou plante en poudre mélangée avec de miel Infusion Infusion Infusion Infusion infusion
Feuilles	Condiment culinaire Abscesses furoncles	Sauces Soupes Conservateurs d'aliment confit (antifongique) Cataplasme
Racines	Diurétique	Décoction mélangée avec de miel

Partie expérimentale

Chapitre 3

Matériels et méthodes

Chapitre 3 : matériels et méthodes

1. Matériel végétal

1.1. Provenance du matériel végétal

L'échantillon utilisé est d'origine commerciale (herboriste) ; qui provient d'Ain Fezza Tlemcen.

1.2. Parties utilisées

Suivant le travail de **AbdelOuahid et Bakhchi (2004)**, la partie utilisée est la partie aérienne de la plante séchée puis broyée.

2. Méthodes

2.1. Extraction

2.1.1. Procédés d'extraction et conservation de l'huile essentielle

La distillation reste la méthode la plus utilisée pour des composés d'arômes du fait qu'elle produit des substances volatiles facilement analysables par chromatographie en phase gazeuse et exige une technologie relativement simple, donc un coût plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable (**Bendjilali, 2004**).

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (**Clevenger, 1928**). Trois distillations de 150g chacune de matériel végétal séché (partie aérienne) avec 01l d'eau dans un ballon de 02 litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant ; la distillation a été réalisée par ébullition, pendant 03 heures après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur. Les vapeurs chargées d'huile; en traversant un réfrigérant se condensent dans une burette graduée (photo 02).

Après décantation, l'huile essentielle est récupérée par aspiration à l'aide d'une pipette-pasteur et est conservée dans des tubes en verre fermés hermétiquement à l'abri de la lumière et à une température entre 4 et 6°C.



Photo 02 : Montage pour l'hydrodistillation.

2.1.2. Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter (Carré, 1953. In : Bekhchi, 2002).

Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$Rd = m/m_0 \times 100$$

Ou

$$Rd = m / m_0 \times 100$$

Avec :

Rd : rendement en H.E exprimée en pourcentage ;

m : masse en gramme de l'H.E ;

m₀ : masse en gramme de la matière végétale sèche.

2.2. Teste de l'activité antibactérienne

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont dues à la fraction d'huile essentielle contenue dans les plantes. Ces derniers ont un spectre très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leurs composition, chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Caillet et Lacroix, 2009).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* a été testée par des méthodes rapides (la méthode de diffusion en puits) et par la détermination de la concentration minimale inhibitrice).

2.3. Microorganismes testées et préparation de l'inoculum

2.3.1. Origine des bactéries

Cinq bactéries (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ECL 3463, *Escherichia coli* ECL 6611, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus*

ATCC 43300) ont été choisies pour leur fréquence élevée à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité ; elles proviennent d'une collection de référence (tableau 05).

Tableau 05 : Souches utilisées dans la présente expérimentation.

Bactéries		Microorganismes testés	Références
Gram positif	Coccies	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
		<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300
Gram négatif	Bacilles	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
		<i>Escherichia coli</i>	ECL 3463
		<i>Escherichia coli</i>	ECL 6611

2.3.2. Conservation des souches

Les souches bactériennes ont été conservées à 4°C, dans la gélose nutritive inclinée.

2.3.3. Milieux de culture

Suivant la méthode employée et selon les souches étudiées, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants :

- Bouillon Cœur-cerveille (BHIB)
- Mueller Hinton

2.3.4. Préparation des inoculums

Les souches pures sont revivifiées dans un bouillon nutritif à 37°C ± 1°C pendant 24 heures.

2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des HE a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants

des HE dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide (El kalamouni, 2010).

Dans notre étude les méthodes utilisées sont les suivantes :

2.4.1. Méthode de diffusion en puits :

Méthode proposée par COOPER & WOODMAN en 1946 et, reprise par SHROEDER et MESSING en 1949. Elle assure une diffusion radiale de l'H.E à partir d'un puits en donnant une zone d'inhibition claire facilement mesurable. La méthode consiste à découper en trou circulaire dans la gélose et y verser une solution de l'H.E de concentration connue. L'H.E diffuse radialement en donnant une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose préalablementensemencée avec la suspension bactérienne (EYMARD, 2003).

L'ensemencement des suspensions bactériennes a été effectué en profondeur, il s'agit de répartir 01 ml de l'inoculum dans des boîtes de pétri, auquel est ajouté le milieu d'enrichissement Mueller Hinton préalablement préparé et stérilisé par autoclavage à 121 °C pendant 20 minutes et refroidis à 45°C.

Sur la gélose et à l'aide d'une pipette Pasteur stérile on a foré aseptiquement trois puits remplis respectivement comme suit :

1^{er} puits : témoin négatif avec 10 µl d'eau physiologique ;

2^{ème} puits : avec 10 µl d'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* ;

3^{ème} puits : avec 20 µl d'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*.

Puis on a déposé sur la gélose un disque d'antibiotique (chloramphénicol) comme un témoin positif.

Les manipulations sont répétées trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale et garantir un bon déroulement de la méthode.

L'incubation des boîtes est faite à 37°C pendant 24h.

Les diamètres des zones d'inhibitions sont mesurés à l'aide d'une règle, à l'extérieur de la boîte fermée. La moyenne de deux diamètres pour chaque puits et de disque d'antibiotique est calculée pour plus d'exactitude.

2.4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice par la méthode du contact direct en milieu solide

Selon Guinoiseau (2010) cette technique consiste à inoculer, par une suspension bactérienne, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne.

Dans notre travail, pour l'évaluation de la CMI, on a établi la gamme des concentrations en H.E suivante : 0,25%, 0,1%, 0,05% et 0,03%.

On a préparé 4 flacons, chaque flacon contenu le milieu de culture (Mueller Hinton) autoclaver à 121°C pendant 20 minute puis refroidis et additionner d'un volume définie en H.E :(tableau 06)

Tableau 06 : préparation des flacons de différentes concentrations de l'H.E.

	<i>Volume de MH (ml)</i>	<i>Volume de H.E (µl)</i>	<i>Volume total (ml)</i>
1^{er} flacon (0,25% de H.E)	199,5	500	200
2^{ème} flacon (0,1% de H.E)	199,8	200	200
3^{ème} flacon (0,05% de H.E)	199,9	100	200
4^{ème} flacon (0,03% de H.E)	99,97	30	100

On a versé aseptiquement le contenu des 3 premiers flacons dans les boîtes de pétrie, 15 boîtes pour chaque flacon (3 boîtes pour chaque souche).

Le 4^{ème} flacon est versé aseptiquement dans 6 boîtes de pétri (pour les souches 1 et 2).

L'ensemencement est effectué en surface à l'aide d'un râteau.

L'incubation des boîtes est faite à 37°C pendant 48h.

La lecture : la CMI est la faible concentration à laquelle il n'y a pas de croissance visible dans le milieu de culture.

3. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante *in vitro* a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage d'un radical en utilisant le réactif 2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) comme radicale stable.

Suivant la méthode décrite par **Hazzit et al. (2009)** on a mis 50µl des différentes dilutions des huiles essentielles des extraits aqueux et des hydradistillat dans du méthanol (MeOH) qui ont été additionnée par 2 ml de la solution méthanolique du DPPH a 60 µM. l'absorbance a été mesurée à 517nm après 30 minutes d'incubation en obscurité et à la température ambiante. Une mesure d'absorbance d'un échantillon contenant 50µl de méthanol et 2 ml de du DPPH a été considérée comme témoin négative.

Le pourcentage d'inhibition du radical du DPPH par l'échantillon a été calculé suivant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A_B - A_T) / A_B] * 100$$

AB: Absorbance du blanc (uniquement du DPPH) (t=0).

AT: Absorbance des différents concentrations (t=30min).

Chaque test a été répété trois fois.

Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats (ANOVA) a été réalisée par un logiciel statistique (Statbox V. 6.40 copyright Grimmer logiciels 1997-2002 Paris) après trois répétitions de chaque paramètre. La comparaison des moyennes est évaluée lorsque $P < 0.05$.

Chapitre 4

Résultats et discussion

Chapitre 4 : Résultats et discussion

4.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle extraite

L'examen organoleptique de cette huile (tableau 07) consiste en un essai olfactif, toutefois, il est nécessaire de décrire l'aspect des ces huiles essentielles et de leurs saveurs.

Tableau 07 : Caractères organoleptique des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata*

Huiles essentielles	Couleur	Aspect	Odeur	Saveur
D' <i>Ammoides verticillata</i>	Jaune clair	Liquide	Aromatique	Fortement piquante

4.2. Rendement en huile essentielle

Tableau 08 : Le rendement en H.E d'*Ammoides verticillata*, par hydrodistillation.

Extraction N°	Poids végétal (g)	Poids d'H.E (g)	Rendement en H.E%
1	150	3,499	2,33
2	90	2,847	3,16
3	114	3,701	3,24

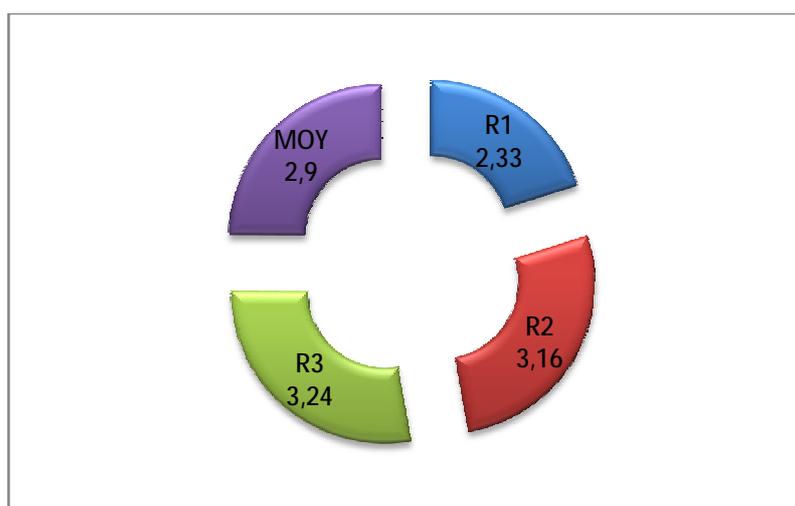


Figure 08 : Représentation graphique des différents rendements (%) de H.E d'*Ammoides verticillata*.

L'extraction de notre échantillon effectué par hydrodistillation a fourni un rendement moyen de 2,9% obtenus a partir de trois extractions (Figure 08).

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

Dans une autre étude réalisée par **Dine E et Mostfaï N. (1998)** le rendement moyen en huiles essentielles des échantillons d'*Ammoides verticillata* ont fourni un taux d'environ 4,40%.

Amarti et al. (2010), dans une étude sur *Thymus ciliatus* du Maroc ont obtenus un rendement en huile essentielle de 1,2%, ce rendement est très faible comparer a celui obtenue par l'*Ammoides verticillata*.

4.3. Etude de l'activité antibactérienne

4.3.1. Activité antibactérienne des HE vis à vis d'*Escherichia Coli* ATCC 25922

Selon **Moustardier (1968)**; **Leminor et Veron (1982)**, *Escherichia. Coli* est un saprophyte constant du tube digestif, tout particulièrement du colon chez l'homme, il peut dans certain circonstances acquérir un pouvoir pathogène et dans ce cas c'est soit en donnant une lésion du voisinage péri-intestinal par pénétration directe dans le péritoine, dans le tissu cellulaire péri-réctal, soit le plus souvent en passant dans le sang et déterminant une septicémie qui lorsqu'elle est grave, prend l'allure de la fièvre typhoïde, elle peut se localiser sur le poumon (broncho-pneumonie à colibacille), (infection chez les lithiasiques) et sur les reins donnant alors toute la gamme des infections urinaires.

Les résultats de l'action inhibitrice de l'HE d'*Ammoides verticillata* vis-à-vis d'*E. coli* ATCC 25922 a été évalué après 24 H de coculture sur milieu solide à 27°C sont illustrés par le tableau 09, figure 09 et photos 03; où l'on constate que les diamètres des zones d'inhibition atteints sont de 0; $24,66 \pm 2,51$; $26,5 \pm 3,5$ et $38,5 \pm 4,77$ respectivement pour l'eau physiologique, chloramphénicol, l'HE à 10µl et l'HE à 20µl.

En comparant les résultats de l'effet inhibiteur de L'HE à 10µl d'*Ammoides verticillata* sur *E. coli* ATCC 25922 on a constaté que la valeur moyenne du diamètre des zones

d'inhibition se rapproche de celle de chloramphénicol et forme donc un groupe homogène suivant la comparaison des moyennes ($P < 0,05$), ces résultats sont significativement différents ($P < 0,05$), avec celle de HE à 20 μ l .

Dans une étude faite par **Abdelouahid et Bekhechi en 2004**, ils ont constaté que sur *E.coli* 25922 les huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* récoltée des différentes régions ont un effet inhibiteur remarquable et avec des zones claires dépassant 30mm et allant jusqu'à 36,7mm.

D'après **Goudarzi et al., (2011)**. Le diamètre d'inhibition de l'huile essentielle *Carum copticum* Benth. et Hook contre *E. coli* 25922 est de 21 mm.

Nodorostova et al. (2009) reportent que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus pulegioides*, *Thymus serpyllum* et *Thymus vulgaris* envers *Escherichia coli* ATCC 25922 est de l'ordre de 0,033 μ l/cm³.

En étudiant l'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Thymus algeriensis* Boiss et Reut de Tunisie **Zouari et al. (2011)** ont signalé un diamètre d'inhibition contre *Escherichia coli* ATCC 25922 de l'ordre de 14 \pm 1mm.

La même constatation d'effet inhibiteur de l'huile essentielle de *Thymus spathulifolius* avec un diamètre de la zone d'inhibition de 32 mm sur *Escherichia coli*-A1 a été faite par **Atalay et al. (2004)** avec des disques imprégnés de 10 μ l d'H.E ce qui veut dire que sur la même souche les H.E d'*Ammoides verticillata* sont plus efficaces contre cette souche comparé à *Thymus spathulifolius*.



Photos 03 : zones d'inhibition (halots claire) de *E.coli* ATCC 25922 à : (E.P) eau physiologique ; (c) chloramphénicol ; (10) H.E à 10 µl ; (20) H.E à 20 µl.

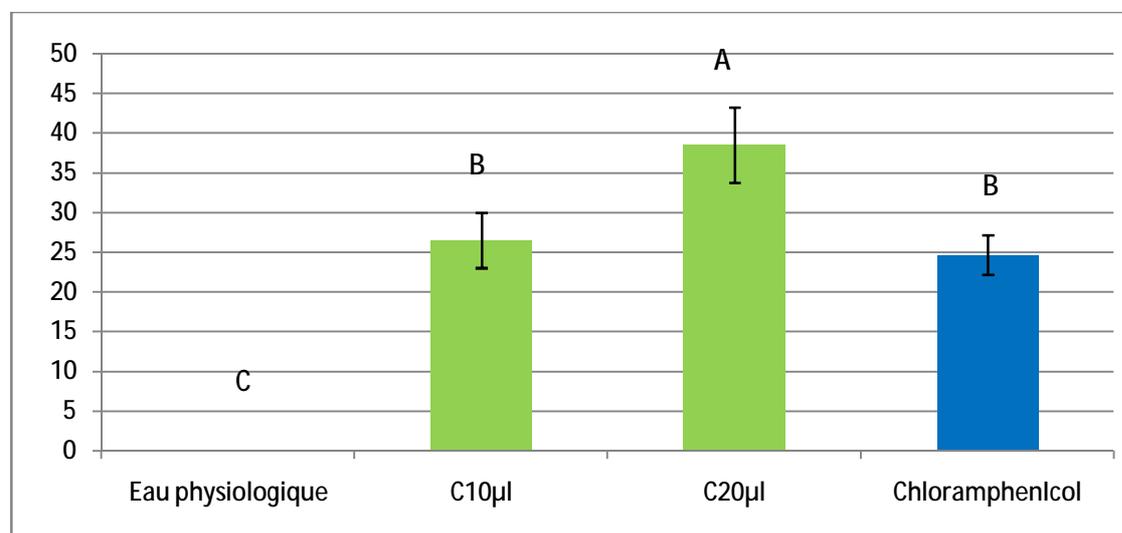


Figure 09 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition d'*Escherichia coli*. ATCC 25922.

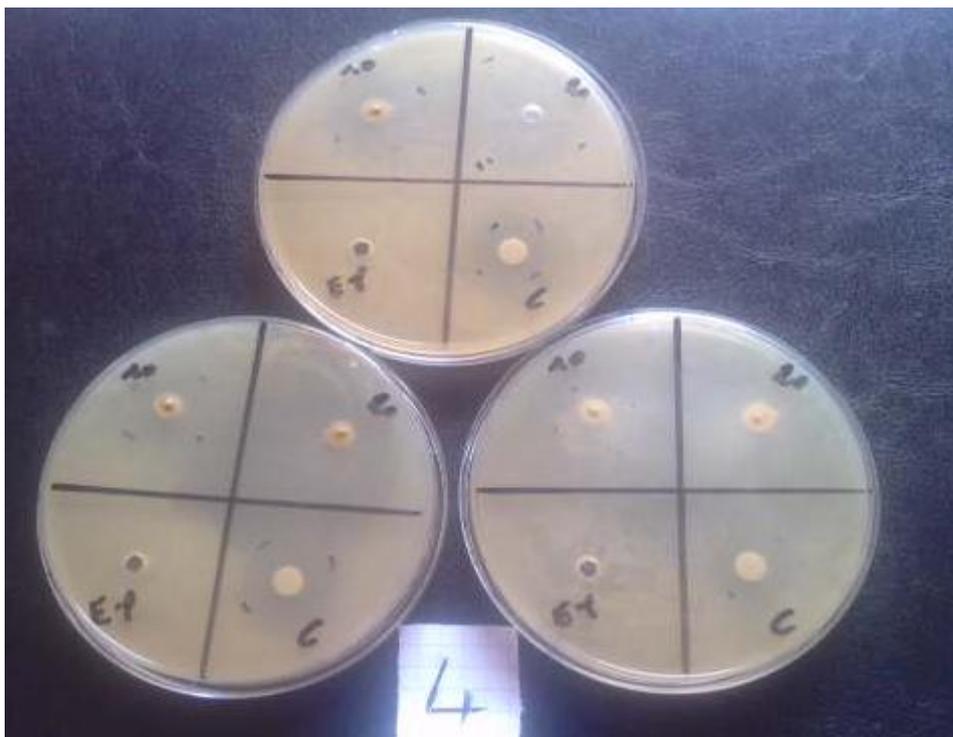
Tableau 09 : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition d'*Escherichia coli*. ATCC 25922.

	EAU PHYSIOLOGIQUE	chloramphénicol	HE 10µl	HE 20µl
Moyennes (mm)	0	24 ,66	26,5	38,5
Ecart types	0	2,51	3,5	4,77
Comparaison de moyennes	C	B	B	A

4.3.2. Activité antibactérienne des HE vis à vis d'*Escherichia Coli ECL 3463*

Après 24 heures de coculture d'*E. coli* ECL 3463 avec l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* ainsi que chloramphénicol et l'eau physiologique (figure 10 ; photos 04) avec des diamètres de 0 pour l'eau physiologique $18,16 \pm 2,02$ mm pour chloramphénicol, $20,5 \pm 2,78$ pour 10µl d'H.E, $35,66 \pm 1,52$ (tableau 10).

Des résultats similaires ont été obtenus par **Ghalem et Mohamed (2008)** qui ont rapporté des résultats ont testant la sensibilité d'*E. coli* aux différentes concentrations d'H.E d'*Eucalyptus globulus* (5 µl, 7,5 µl, 10 µl et 20 µl) ; les halots d'inhibition obtenus étaient de l'ordre de 13, 15, 20 et 24 mm.



Photos 04 : zones d'inhibition (halots claire) de *E.coli* ECL3463 à : (E.P) eau physiologique; (c) chloramphénicol; (10) H.E à 10 μ l; (20) H.E à 20 μ l.

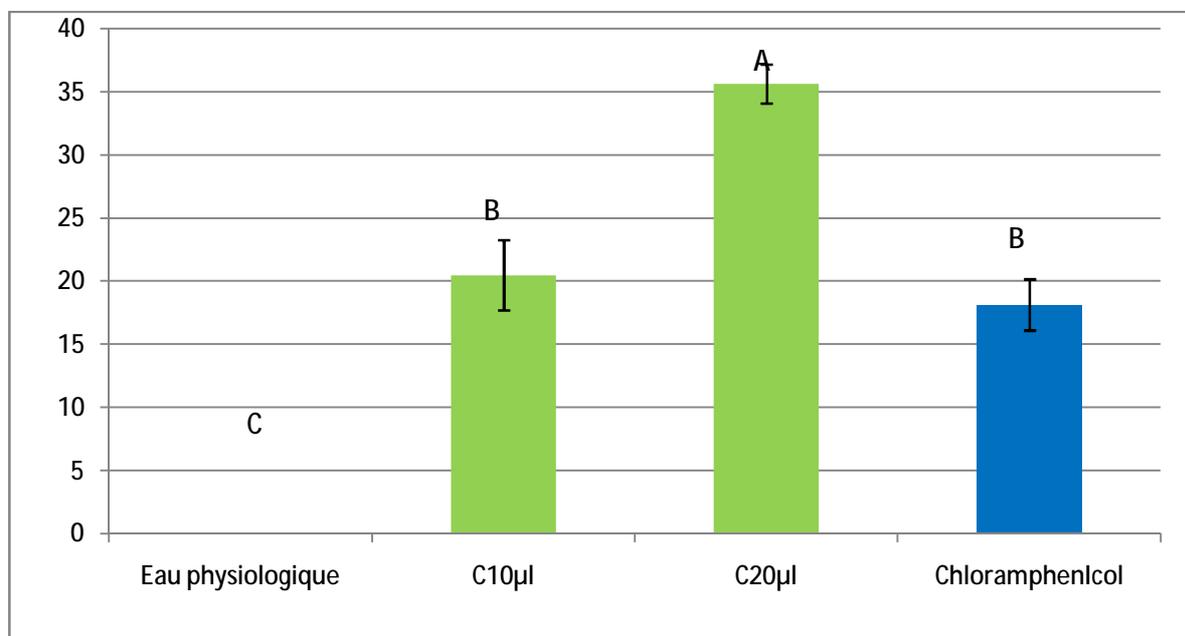


Figure 10 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition d'*Escherichia coli*. ECL 3463.

Tableau 10 : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition d'*Escherichia coli*. ECL 3463.

	EAU PHYSIOLOGIQUE	chloramphénicol	HE 10µl	HE 20µl
Moyennes (mm)	0	18,16	20,5	35,66
Ecart types	0	2,02	2,78	1,52
Comparaison de moyennes	C	B	B	A

4.3.3. Activité antibactérienne des HE vis à vis d'*Escherichia Coli* ECL 6611

Les résultats de l'action inhibitrice de l'HE d'*Ammoides verticillata* vis-à-vis d'*E. coli* ECL 661 a été évalué après 24 H de coculture sur milieu solide à 27°C sont illustrés par le tableau 11, figure 11 et photos 05; où l'on constate que les diamètres des zones d'inhibition atteints sont de 0 ; $15,5 \pm 0,86$; $15,66 \pm 3,78$ et $30,66 \pm 3,51$ respectivement pour l'eau physiologique, chloramphénicol, l'HE à 10µl et l'HE à 20µl.

Haddouchi (2007) dans leur étude, a testé l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* sur *E. coli*, obtenu des diamètres d'inhibition compris entre 8-9 mm, cette activité est faible par rapport à nos résultats qui représente des zones d'inhibition plus importants (allant de $15,66 \pm 3,78$ jusqu'à $30,66 \pm 3,51$ mm).

Dans un même contexte, **Daine et Mostfai (1998)** ont constaté des résultats similaires à ceux obtenus par **Haddouchi (2007)** en étudiant l'effet antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* vis-à-vis *E. coli* 3, avec une zone d'inhibition de 30mm.



Photos 05 : zones d'inhibition (halots claire) de *E.coli* ECL 6611 à : (E.P) eau physiologique; (c) chloramphénicol; (10) H.E à 10 µl; (20) H.E à 20 µl.

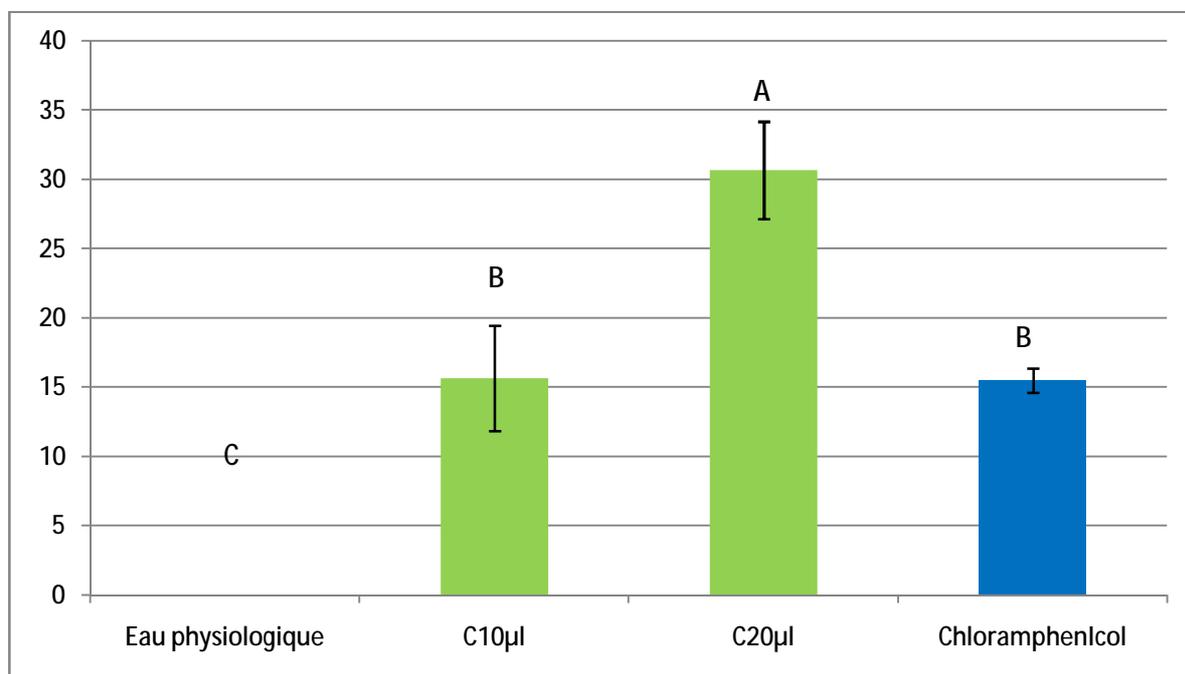


Figure 11 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition d'*Escherichia coli*. ECL 6611.

Tableau 11 : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition d'*Escherichia coli*. ECL 6611.

	EAU PHYSIOLOGIQUE	chloramphénicol	HE 10µl	HE 20µl
Moyennes (mm)	0	15,5	15,66	30,66
Ecart types	0	0,86	3,78	3,51
Comparaison de moyennes	C	B	B	A

4.3.4. Activité antibactérienne des HE vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Les Staphylocoques sont des saprophytes habituel de la peau et même des muqueuses de l'intestin en particulier, ils provoquent des manifestations suppurées et aussi des réactions fibrino-leucocytiques- spécialement une espèce ubiquitaire : *Staphylococcus aureus* qui tient son nom de son pigment dorés : c'est un coque (coccus) poussant en groupe (staphylos) et formant des colonies jaunes dorés (aureus) qui est susceptible de produire des processus de septicémie ou de septicopymie par mécanisme embolique. Ce germe est pyogène, présente des symptômes de gastroentérites dues aux entérotoxines qu'il possède. Les maladies provoquées sont de deux types : intoxication alimentaire caractérisée par des vomissements, puis apparaissent diarrhée, douleurs abdominales, rarement un collapsus cardiaque ou entérocolite aigue pseudomembraneuse (Leminor et Veron, 1982 ; Pelczar, 1982).

Après avoir mis en évidence rapide l'activité inhibitrice de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 après 24 heures à 37 °C sur un milieu solide en plus de chloramphénicol comme témoin positif et l'eau physiologique comme témoin négatif ce qui a révélé un effet inhibiteur avec des diamètres de zones d'inhibition de l'ordre de $17,5 \pm 7,365$ mm pour l'HE à la dose de 10 µl et de $20,5 \pm 5,268$ mm pour l'HE à la dose de 15 µl (tableau 12 ; et photo 06 ; figure 12).



Photos 06 : zones d'inhibition (halots claire) de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 à : (E.P) eau physiologique ; (c) chloramphénicol ; (10) H.E à 10 µl ; (20) H.E à 20 µl.

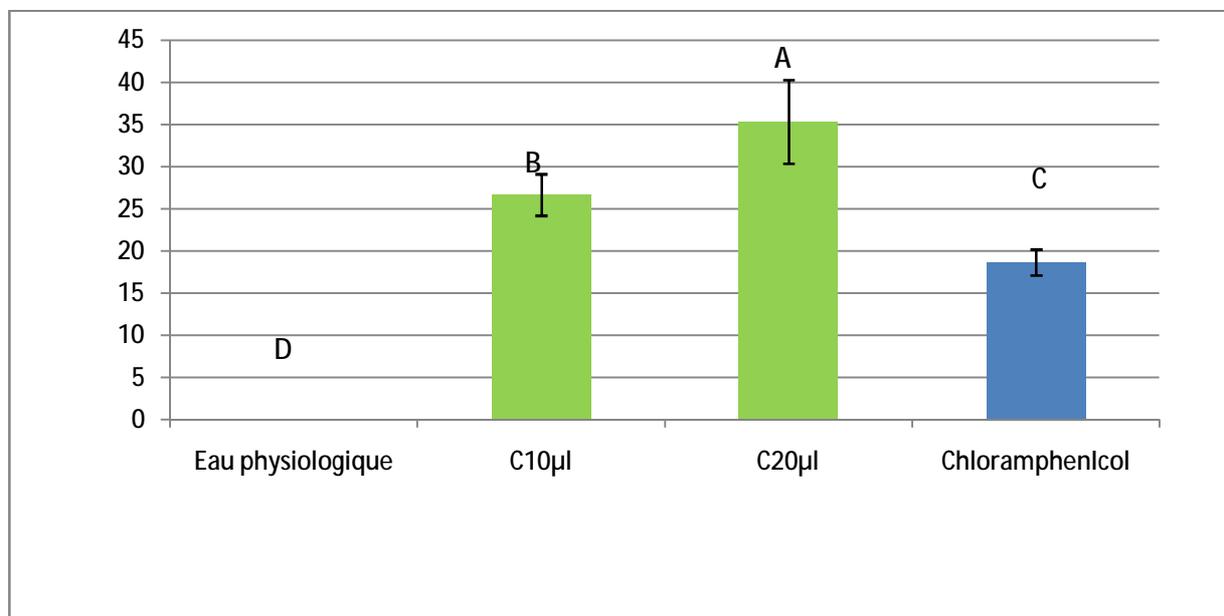


Figure 12 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition de *staphylococcus aureus* ATCC 25923

Tableau 12 : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

	EAU PHYSIOLOGIQUE	chloramphénicol	HE 10µl	HE 20µl
Moyennes (mm)	0	18 ,66	26,66	35,33
Ecart types	0	1,52	2,46	4,93
Comparaison de moyennes	D	C	B	A

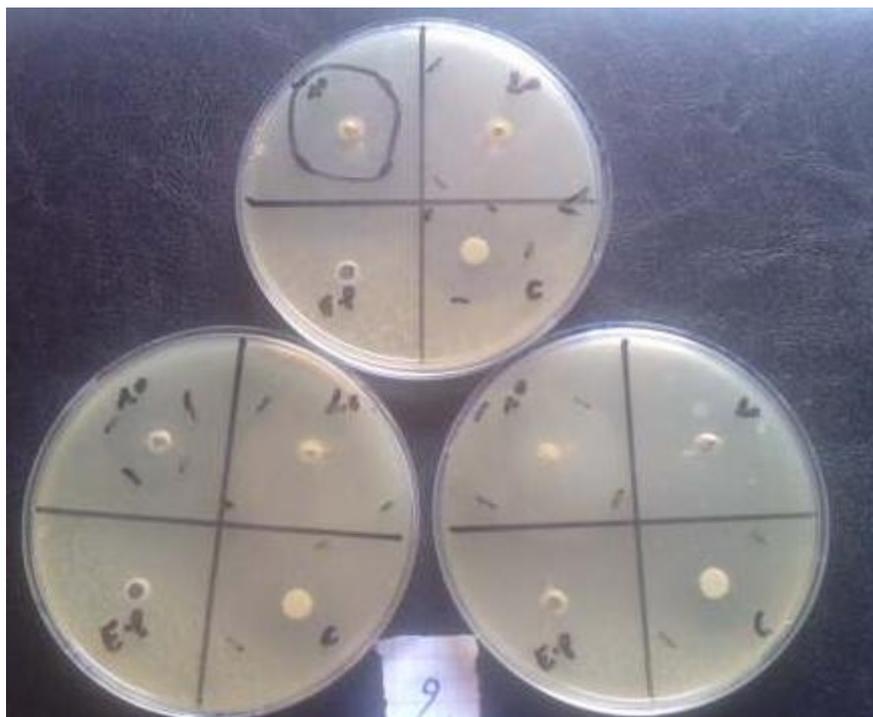
Dans une étude faite par **Benalla (2009)** et qui a étudié l'effet inhibiteur de l' H.E extraite d'*Ammoides verticillata* sur plusieurs souches bactériennes dont parmi *Staphylococcus aureus*, le résultat obtenu était d'une zone d'inhibition de l'ordre de 36mm.

De même **Mohammedi (2006)** a obtenu des diamètres des zones d'inhibition de $5,90 \pm 1,67$; $3,5 \pm 1,32$; $3,33 \pm 1,52$ respectivement de HE de *Lavandula stoecha*, *Citrus ladaniferus* et *Smyrniun olusatrum* envers *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

4.3.5. Activité antibactérienne des HE vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

En étudiant l'effet antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* on a signalé les diamètres d'inhibition contre *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 des valeurs de 0 ; $28,83 \pm 2,02$; $28,5 \pm 8,04$ et $42,5 \pm 3,90$ respectivement pour l'eau physiologique, chloramphénicol, l'HE à 10 µl et l'HE à 20 µl (tableau 13 ; figure 13 ; photos 07).

Notre huile essentielles a une forte activité contre *S. aureus* 43300 ($\phi = 28,5 \pm 8,04$ pour 10 µl d'H.E) par rapport a une autre étude faite par **De Billebeck (2007)** qui a rapporté que *S.aureus* a présenté une sensibilité variable envers les H.Es de quelques espèces de *Citrus* testées, en effet, les H.Es de bergamot, de citron de petit grain de bigarade ont montré des zones d'inhibitions de 30 mm, 12 mm et 20 mm, respectivement.



Photos 07 : zones d'inhibition (halots claire) de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 à : (E.P) eau physiologique ; (c) chloramphénicol ; (10) H.E à 10 µl ; (20) H.E à 20 µl.

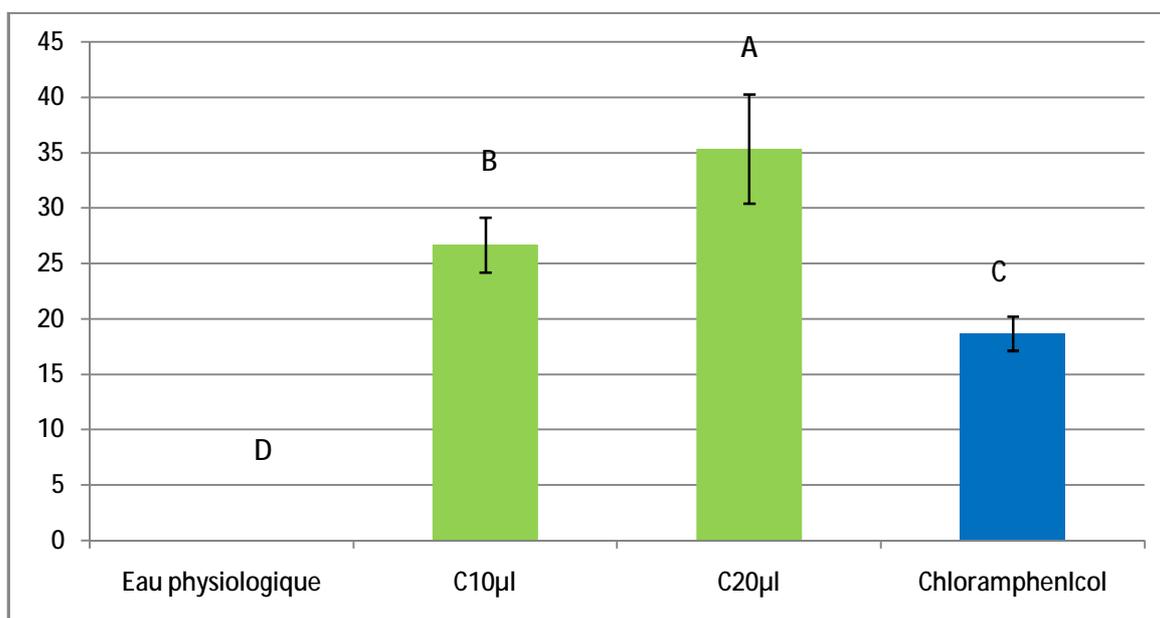


Figure 13 : Représentation graphique du diamètre des zones d'inhibition de *staphylococcus aureus* ATCC 43300.

Tableau 13 : Valeurs moyennes avec l'écart types du diamètre des zones d'inhibition de *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.

	EAU PHYSIOLOGIQUE	chloramphénicol	HE 10µl	HE 20µl
Moyennes (mm)	0	18 ,66	26,66	35,33
Ecart types	0	1,52	2,46	4,93
Comparaison de moyennes	D	C	B	A

Dans l'étude de **AbdelOuahid et Bekhchi (2004)** ils ont eu des zones d'inhibition allant de 28,7 mm jusqu'à 33,3 mm en mettant en évidence l'effet des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* de différentes régions de l'ouest Algériennes. Ce qui est en accord avec les résultats obtenues dans notre étude.

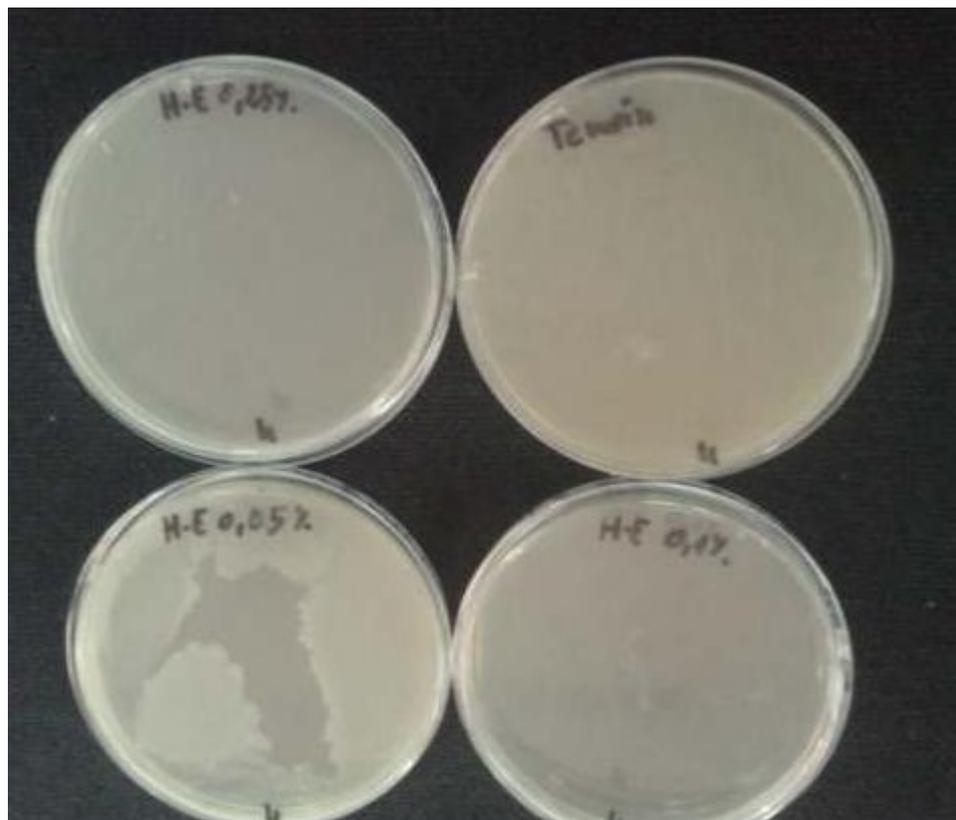
5. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Les tableaux suivants résument les résultats de la méthode de contacte directe pour la détermination de la concentration minimale inhibitrices d'*Ammoides verticillata* de différents souches étudié.

Tableau 14 : Les concentrations minimales inhibitrices (C.M.I), pour l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*.

Bactéries	Boîtes de pétri	T	Dilutions		
			0 ,25	0 ,1	0 ,05
<i>Eschérichia coli</i> ATCC 25922	B1	+	-	-	+
	B2	+	-	-	+
	B3	+	-	-	+
<i>Eschérichia coli</i> ELC 3463	B1	+	-	-	+
	B2	+	-	-	+
	B3	+	-	-	+
<i>Eschérichia coli</i> ECL 6611	B1	+	-	-	+
	B2	+	-	-	+
	B3	+	-	-	+

+ : croissance bactérienne ; - : pas de croissance bactérienne.



Photos08 : Croissance bactérienne d'*Escherichia coli* à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*.

Sachant que toutes les souches bactériennes étaient positives dans les témoins.

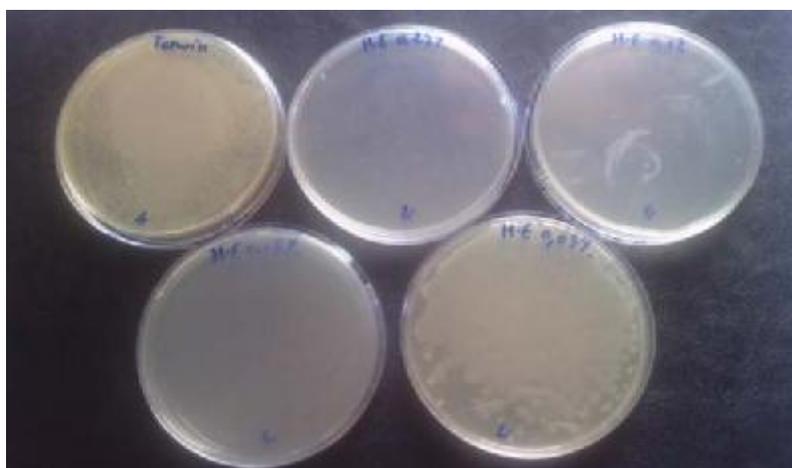
Le tableau 14 montre que pour toutes les souches de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ELC 3463 et *Escherichia coli* ECL 6611 sont sensibles à l'H.E d'*Ammoides verticillata*, à des dilutions inférieures à 0,05%.

Sachant que la masse volumique des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* et de 0,9235mg/ml la concentration minimale inhibitrice pour les souches précédentes est comprise entre 0,9235 mg/ml et 0,4617 mg/ml.

Tableau 15 : Les concentrations minimales inhibitrices (C.M.I), pour l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*.

Bactéries		T	Dilutions			
			0,25	0,1	0,05	0,03
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	B1	+	-	-	-	+
	B2	+	-	-	-	+
	B3	+	-	-	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	B1	+	-	-	-	+
	B2	+	-	-	-	+
	B3	+	-	-	-	+

+ : croissance bactérienne ; - : pas de croissance bactérienne.



Photos 08 : Croissance bactérienne de *Staphylococcus aureus* à différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*.

D'après le tableau 15, nous constatons que les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 sont sensibles à des dilutions inférieures à 0,03% (0,2770 mg/ml).

Donc la concentration minimale inhibitrice est comprise entre 0,4617 mg/ml et 0,2770mg/ml.

Dans une autre étude sur l'H.E d'*Ammoides verticillata* faite par **AbdelOuahid et Bakhchi (2004)**, les valeurs de la CMI sont de 557,830 µg/ml et 650,810 µg/ml sont respectivement pour *E.coli* et *S.aureus*.

D'après le travail de **Goudarzi et al (2011)** sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Carum copticum* (Benth et Hook), la valeur de CMI vis-à-vis *Staphylococcus aureus* est de 0,03% et 0,031% pour l'*Escherichia coli*.

6. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante peut être due à différents mécanismes, dont parmi la prévention de l'initiation de l'altération des chaînes, la décomposition des peroxydes, l'abstraction continue de l'hydrogène, capacité réductrice (**Bouvatirou et al., 2007**).

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Pour nos extraits, nous avons employé la méthode au DPPH.

Ce radical libre présente une coloration violet sombre, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes. La forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle, le virage vers cette coloration et l'intensité de la coloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire (**Mohammedi, 2006**).

6.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle d'Ammoides verticillata

L'effet antioxydant sur les radicaux de DPPH est dû à son habilité à donner une molécule d'hydrogène. Le radical DPPH est un radical stable et libre et peut accepter un électron ou un radical d'hydrogène pour devenir diamagnétique stable (**Hazzit et al. 2009**).

L'utilisation du radical par le DPPH a le même mécanisme que celui des antioxydants des aliments (**Bouvatirou et al., 2007**).

La figure 14 nous donne une idée sur la forte activité antioxydante des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* qui dépasse le 90 % pour une concentration inférieure à 0,1% d'H.E.

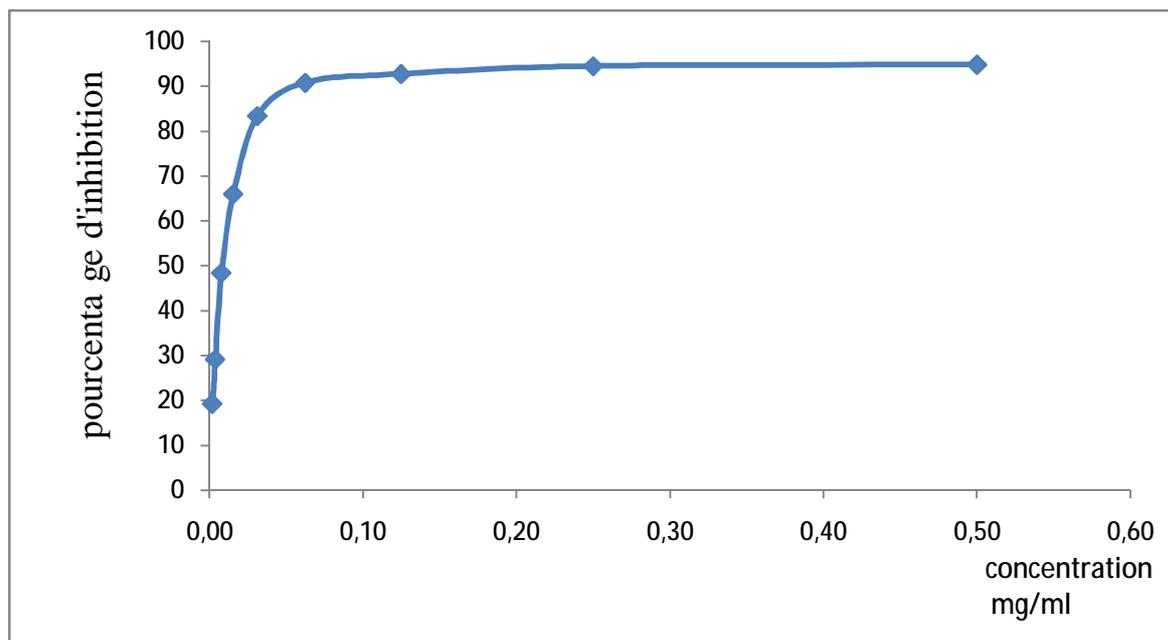


Figure 14: l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*.

On étudiant les huiles essentielles de *Thymus palleseens* et *Thymus algériensis* **Hazzit et al., (2009)** n'ont pas enregistré un bon effet antioxydant et qui ne dépasse pas les 20% à la même concentration de 0,1 mg/ml.

De même Bouvatirou et al. (2007) en étudiant *Thymus capitatus* n'à pas enregistré une forte activité antioxydante à 0,1% mg/ml qui n'à pas dépassé les 20% d'activité, ce qui nous donne une idée sur la bonne efficacité antioxydante des H.E d'*Ammoides verticillata*.

6.2. Activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Ammoides verticillata*

Comparé aux huiles essentielles l'extrait aqueux d'*Ammoides verticillata* n'à pas donné une forte activité mais par rapport aux huiles essentielles de *Thylus pallescens* et *Thymus algériensis* étudiées par **Hazzit et al.(2004)** et *Thymus capitatus* étudiée par **Bouvattious et al. (2007)** l'extrait aqueux d'*Ammoides verticillata* enregistre une bonne activité antioxydante qui double les résultats des deux auteurs précédents cités.

Dans une autre étude faite par **Ozen et al. (2011)** et qui a fait l'objet de mettre en évidence l'activité antioxydante des différents extraits par les solvants organique de *Thymus praecose subsp.scorpilii var.scorpilii* et qui ont enregistré des résultats similaires aux notre.

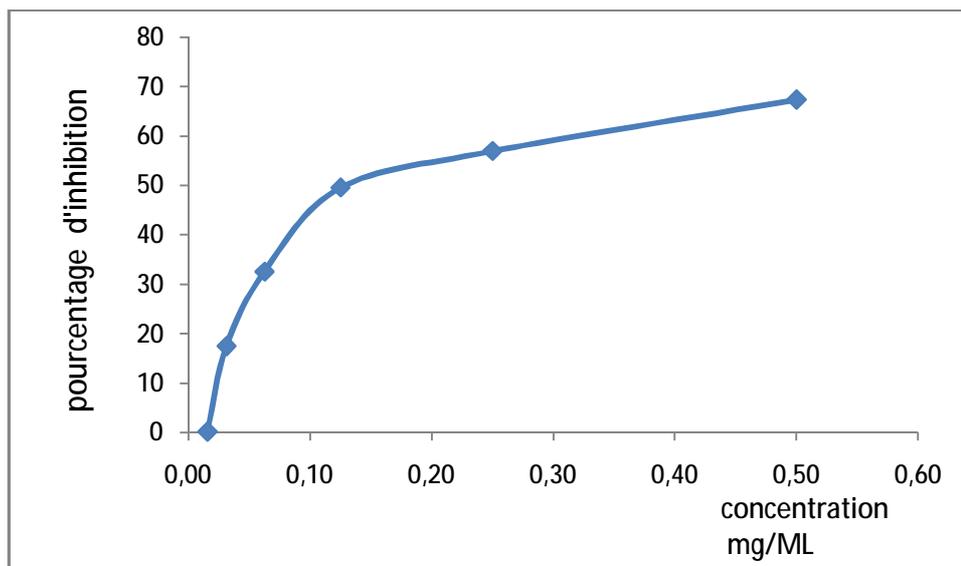


Figure 15 : l'activité antioxydante de l'extrait aqueux d'*Ammoides verticillata*.

6.3. Activité antioxydante de l'hydrodistillat d'*Ammoides verticillata*

D'après les résultats obtenus l'hydrodistillat d'*Ammoides verticillata* ne représente pas une capacité de réduction de radicale DPPH à ces différentes dilutions. Donc elle ne possède pas un effet antioxydant. Par contre **Azza et al. 2011** ont trouvé un effet antioxydant remarquable des hydrodistillats de *Syzygium aromaticum* mais avec d'autres méthodes d'activité antioxydante.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Le présent travail portant sur l'étude des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata*, nous a permis de tirer un certain nombre de conclusions :

Tout d'abord, l'obtention de l'huile essentielle par hydrodistillation reste une méthode simple et efficace, et donne un rendement intéressant. Le calcul de rendement moyen en huile essentielle de notre plante nous a révélé une valeur importante de 2,9%.

D'après les résultats obtenus, le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est très important pour toutes les souches étudiées avec des valeurs des zones d'inhibitions maximales à un volume de 20 µl d'H.E : *E.coli* ATCC 25922 avec $38,5 \pm 4,77$ mm et *S.aureus* ATCC 25923 avec $42,5 \pm 3,90$ mm. Et des valeurs minimales à un volume de 10 µl d'H.E : *E.coli* ECL 3463 avec $15,66 \pm 3,78$ mm et *S.aureus* ATCC 43300 avec $26,66 \pm 2,46$ mm.

La concentration minimale inhibitrice de l'H.E d'*Ammoides verticillata* pour les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 est comprise entre 0,4617 mg/ml et 0,2770 mg/ml. Ainsi pour les souches de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ELC 3463 et *Escherichia coli* ECL 6611 est comprise entre 0,9235 mg/ml et 0,4617 mg/ml.

Donc l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* possède une forte activité antibactérienne vis-à-vis les souches pathogènes étudiées.

L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH a confirmé les propriétés puissantes que possèdent les huiles essentielles à piéger les radicaux libres. Contrairement à l'extrait aqueux qui a un faible pouvoir antioxydant et l'hydrodistillat qui ne possède pas un effet antioxydant.

Cette étude permet la mise en valeur de l'exploitation des huiles essentielles comme conservateur dans le domaine de l'industrie agroalimentaire, ceci montre que la flore algérienne peut constituer une réserve importante d'espèces végétales intéressantes.

L'ensemble de nos résultats obtenus sur la mise en évidence de l'activité antibactérienne in vitro des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* vis-à-vis des souches

pathogènes étudié et l'activité antioxydante par la méthode du DPPH ne constitue qu'une première étape pour valoriser cette plante. Cependant pour la suite de ce travail, des essais complémentaires seront nécessaires sur l'étude de l'activité antimicrobienne sur d'autres souches bactériennes et fongiques par d'autres méthodes ainsi que le changement de substrat et qui sera la viande pour voir dans le comportement de ces huiles vis-à-vis des souches pathogènes dans un substrat viande et si ces huiles essentielles peuvent être utilisées comme bioconservateur et pour compléter cette étude il faut étudier l'activité antioxydante par d'autres méthodes à part le DPPH.

Références bibliographiques

Références

- Abdelouahid, D.E., Bekhchi, C. (2004)** : Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nûnkha). *Rev, Biologie et santé* 4(2) :1-10.
- Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. et Chaouch A. (2010)** : Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. Du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14(1) : 141-148.
- Anonyme1 Ref. Buchanan, Cap.24** (en ligne) :
http://biologie.univmrs.fr/upload/p222/2_Métabolisme_Seceodaire.pdf.
- Atalay S., Gulluce M., Akpulat A. H., Deferera D., Tepe B., Polissiou M., Sokmen M., Sahin F., (2004)**: The *in vitro* antimicrobial and antioxydant activities of the essential oil and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food control*, 15,627-634.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., (2008)**: Biological effects of essential oil. *Food and Chemical Toxicology*, 46,446-475.
- Baudoux D. (2008)** : L'aromathérapie, Se soigner par les huiles essentielles. *Ed Broché*. pp1.
- Benalla W. (2009)** : Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Ammoides pusilla* (Nunkha). Thèse doctorat Faculté des Sciences – Université Mohamed Premier – Oujda.
- 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.
- Benjilali A. (2004)** : Extraction des plantes aromatiques et médicinales : cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. *Le pharmacien du Maghreb*.
- Benoît B . (2011)** : Nomenclature de la Flore de France. *Rev, Tela Botanica* BDNFF v4.02 .
- Betts G. D., Linton P., Betteridge R. J., (1999)**. Food spoilage yeasts: effects of pH, NaCl and temperature on growth. *Food Control*, 10, 27-33.

- Bouhdid S., Idomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S & Abrini J. (2006) :** Thymus essential oils : chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities, Congrès international de biochimie, Agadir, Maroc.
- Bouvateirou S., Suiti S., Miguel M.G., Faliro L., Rejb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G. (2007) :** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chemistry*. 105:146-155.
- Bruneton J., (1993) :** Pharmacognosie – phytochimie, plantes médicinales, 2^e édition. Ed. Tec et Doc Lavoisier.
- Bruneton J., (1999) :** Pharmacognosie – phytochimie, plantes médicinales, 3^e édition. Ed. Tec et Doc Lavoisier.
- Buronzo A-M. (2008).** Grand guide des huiles essentielles. Ed. Hachette pratique. 254 p.
- Burt S. (2004) :** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International Journal of Food Microbiology* 94 223– 253.
- Caillet S., Lacroix M. (2007) :** les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA), INRS-Institut Armand-Frappier. 8p.
- Carde J.P., (1979) :** le fonctionnement des cellules sécrétrices des canaux chez le *Pin maritime* : données du microscope électronique. -104 e Congr. Natl. Soc. savantes, Bordeaux, Sciences, Fasc. II., 275-286.
- Carré P. (1953) :** Précis de technologie et de chimie industrielle. Tome 3., Ed. Ballière J.B. et fils. France. Paris. **In : Bekhchi C. (2002) :** Analyse d'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nunkha) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien. Thèse de magister, Université de Tlemcen.
- Chami F., (2005) :** Evaluation *in vitro* de l'Action Antifongique des Huiles Essentielles d'Origan et de Girofle et de leurs composés majoritaires *in vivo* application dans la prophylaxie et le traitement de la candidose vaginale sur des modèles de rat et de souris

Immunodéprimés .Thèse de Doctorat d'Etat Es-Sciences, Université Sidi Mohamed Ben Abdallah Fès.

Clevenger J.F., (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. J. Pharm. Assoc., 17, 336-341.

Dagan B., (1988) : Les substances de réserve du Pin maritime : rol éventuel des métabolites secondaires. –*Actual. Bot.*, 1,25-40.

Daine E-A., Mostefai N. (1998) : Contribution à l'étude du pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (Nounkha) de la région de Tlemcen et comparaison avec l'effet antiseptique du thymol et des antibiotiques. Mémoire d'ingénieur d'état, Université Aboubakr Belkaid de Tlemcen.

De Billerbeck V. G., (2007) : Huile essentielle et bactéries résistantes aux ATB. Phytothérapie. 5, pp : 249-25.

De Billerbeck V-G, Roques C, Vanière P. et Marquier P. (2002) : Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles .*Rev, hygiènes*, Vol X - N°3, pp248.

Deak T. et Beuchat L. R. (1996) : *Handbook of food spoilage*. NewYork, USA: CRC Press.

Degryse A., Delpla I., Voinier M. (2008) : Risque et bénéfices possibles des huiles essentielles. Ingénieure du Génie Sanitaire, Atelier santé environnement.

Dubey V.S., Bhalla R. Luthra R. (2003) : An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. J. Biosci. 28 (5), 637-646.

Dudariva A., Andersson S., Orlova I., Gatto N., Reichelt M., Rhodes D., Boland W et Gerchenzon J. (2005): The nonmevalonate pathway supports both monoterpene and sesquiterpene formation in snapdragon flowers. Ed. Rodney B. croteau, Washington state University, Pullman, WA. PNAS. 102 (3), 933-938.

El kalamouni C. (2010) : Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse, Délivré par l'Institut National Polytechnique de Toulouse.

- 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.
- Englebin M. (2011) :** Essences et huiles essentielles : Précaution d'emplois et conseils d'utilisations. Centre de formation en aromathérapie.
- Eymard S, (2003) :** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours e la conservation et la transformation chinchard (*Trachurus trachurus*)., choix des procédés. Thèse de doctorat en génie des procédés. Nante.France.
- Felidj M., Bouazza M., Ferouani T. (2010) :** Note sur le cortège floristique et l'intérêt de la plante médicinale *Ammoides pussila (verticillata)* dans le Parc national des Monts de Tlemcen (Algérie occidentale). *Rev, Geo-Eco-Trop.*, 2010, 34 : 147 – 154 .
- Fouché J.G., Marquet A., Hambuckers A., (2000):** les plantes médicinales, de la plante au médicament, Observatoire du Monde des Plantes Exposition du 19 -09- 2000.
- Ghalem B. et Mohamed B. (2008):** Antibacterial activity of leaf oils of *Eucalyptus globules* and *Eucalyptus camaldulensis*. *African Journal of Pharmacology*, 2, 211–215.
- Gleizes M., Pauly G., Carde J.P., Marpeau A., Bernard-Dagan C., (1983):** Monoterpene hydrocarbon biosynthesis by isolated leucoplasts of *Citrofortunella mitis*. –*Planta*, 159, 373-381. 77.
- 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.* (2011) Vol. 13: 203-208.
- Grysole J. (2005) :** Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation –Manuel pratique. 140-162.
- Guignard J.-L., Cosson L., Henry M., (1985) :** Abrégé de phytochimie. *Ed. Masson*. ISBN : 2-225-80436-2.

- Guillier L., Nazer A. I., Dubois-Brissonnet F., (2007):** Growth response of *Salmonella typhimurium* in the presence of natural and synthetic antimicrobials: estimation of MICs from three different models. *J Food Prot* **70 (10):**2243-2250.
- Guinochet M et Vilmorin R. (1975) :** Flore de France fascicules. *Ed.* Centre national de la recherche scientifique France.
- Guinoiseau E. (2010) :** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: Séparation, identification et mode d'action. Thèse Doctorat, Université De Corse-Pasquale Paoli.
- Haddouchi F., (2007):** Contribution à l'étude des huiles essentielles de *Thymus Fontanesii* (*Zaâteur*) de la région de Mostaganem et de *laurus nobilis*(Rend) de la région de Tlemcen (Nedroma). Activités antibactériennes et antifongiques en fonction de leur de leur conservation .Thèse magister, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen .
- Haddouchi F., Benmansour A. (2008) :** Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire – N°8.
- Hatanaka A., Kajiwara T., Sekiya J. (1987) :** Biosynthesis pathway for C6-aldéhydes formation from linolenic acid in green leaves. *Chem phys Lipids.* 44, 341-361.
- Hazzit M., Baalioumer A., Verissimo A. R., Faleiro M. L., Miguel M., G. (2009) :** Chemical composition and biological activities of Algerian Thymus oils. *Food chemistry.* 116, 741-721.
- Hellal Z., (2011) :** Contribution a l'étude des propriétés antibactériennes et oxydantes de certains huiles essentielles extraites de *Citrus*. Application sue la sardine (*Sardina pilchardus*).
- Iserin .P, (2001) :** Encyclopédie des plantes médicinales .2^{ème} *Ed* .pp 18-54.
- Laib. I et Barka. M, (2011) :** Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. *Rev, Revue de génie industriel* 2011, 6, 46-54.
- Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., Carde J.P., (1994) :** Biogénèse des monoterpènes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.,* **133,** 69-78.

Leminor L., Veron M. (1982) : Bactériologie médicale. Ed. Flammarion, Médecine-Sciences, Paris 767.PP.

Lucchesi M. E., (2005) : Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences, Faculté des Sciences et Technologies.

Lucienne A.D, (2010) : les plantes médicinales d'Algérie .Ed. Berti. 239 p.

Madi A. (2010) : caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Thèse de magister. université de Mentouri Constantine.

Mohammedi Z., (2006): Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

Moustardier G. (1968) : Bactériologie médical, 3^{ème} Edition.

Nodorostova L., Kloucek P., Ladislav Kokoska L., Stolcova M., Pulkrabek J. (2009): Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. Food control. 20: 157-160.

Ozen T., Dermirtas I. et Aksit H. (2011) : determination of antioxidant of various extract an essential oil composition of *Thymus praecox subsp .Skorpil var. Skorpil* . Food chemistry 124:58-64.

Pelczar M.J. (1982) : Element de microbiologie, Ed. Hrwltee, P1-14.

Pibiri M.C. (2006) : Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat, Ecole polytechnique fédérale de lausanne. 161p.

Piochon M., (2008) : Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire présenté à Université du Québec comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables.

- Pitt J. I., Hocking A. D., (1997):** Fungi and food spoilage (seconded). UK, London: Blackie Academic and professional, p; 596.
- Quezel P et Santa S. (1963) :** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Ed* Centre National de la recherche scientifique. 663p.
- Rubinstein J.P. (2009) :** La famille des Ombellifères (Apiaceae ou Umbelliferae). Biologie et Multimédia - Université Pierre et Marie Curie - UFR des Sciences de la Vie.
- Sagdic O., Ozcan M. (2003):** Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food control*, 14, 141-143.
- Valnet J., (2001),** la phytothérapie-traitement des maladies par les plantes –Se soigner par les plantes. *Ed. Vigot* . ISBN :2-253-03790-7. **In : Haddouchi F., (2007):** Contribution à l'étude des huiles essentielles de *Thymus Fontanesii* (*Zaâteur*) de la région de Mostaganem et de *laurus nobilis* (Rend) de la région de Tlemcen (Nedroma). Activités antibactériennes et antifongiques en fonction de leur de leur conservation. Thèse magister, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen .
- Veillot M., (2001) :** Etude sur les plantes, usages et statuts juridiques. Le courrier de l'environnement no 44, *Ed. I.N.R.A.*
- Walker S. J., (1988). Major** spoilage microorganisms in milk and dairy products. *Journal of the society of dairy technology*, 41, 91-92.
- Willem J.P. (2002) :** Les huiles essentielles, Médecine d'Avenir. Editions du Dauphin, Paris.
- Zhiri A. (2006):** Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré. Art., Nutra News. 16p.
- Zouari N., Fakhfakh N., Zouari S., Bougatef A., Karraya A., Neffai M., Ayadi M. (2011):** Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxydant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. Et Reut. (Lamaceae). *Food Bioprod. Process.* (Article in press).

Résumé

La composition des huiles essentielles lui confère une activité antibactérienne et antioxydante importante ; souvent rechercher dans le domaine agroalimentaire pour la conservation des aliments. Le présent travail porte sur l'étude de l'effet antimicrobien et antioxydant de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* (NOUNKHA) de la famille des ombellifères, extraite par hydrodistillation avec un rendement moyen de 2,9%. Les résultats de l'activité antibactérienne vis-à-vis les bactéries pathogènes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) par la méthode de diffusion en puits et l'évaluation de la concentration minimale inhibitrice ; ont montré que le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est très important pour toutes les souches étudiées avec des valeurs des zones d'inhibitions maximales à un volume de 20µl d'H.E : *E.coli* ATCC 25922 avec $38,5 \pm 4,77$ mm et *S.aureus* ATCC 25923 avec $42,5 \pm 3,90$ mm. Et des valeurs minimales à un volume de 10 µl d'H.E : *E.coli* ECL 3463 avec $15,66 \pm 3,78$ mm et *S.aureus* ATCC 43300 avec $26,66 \pm 2,46$ mm. La concentration minimale inhibitrice de l'H.E d'*Ammoides verticillata* pour les souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 est comprise entre 0,4617 mg/ml et 0,2770mg/ml. Ainsi pour les souches de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ELC 3463 et *Escherichia coli* ECL 6611 est comprise entre 0,9235 mg/ml et 0,4617 mg/ml. Ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante par DPPH montre que l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* a une forte activité antioxydante.

Mots clé : *Ammoides verticillata* –huiles essentielles – extrait aqueux – hydrolisat - activité antibactérienne – Activité antioxydante.

Abstract

The composition of essential oils gives an important antioxidant and antibacterial activity; often find in the food industry for food preservation. The present work concerns the study of antioxidant and antimicrobial effect of essential oil *Ammoides verticillata* (NOUNKHA) of the Umbelliferae family, extracted by steam distillation with a yield of 2.9 %. The results of the antibacterial activity vis-à-vis the pathogenic bacteria (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) by well diffusion method and evaluation of the minimum inhibitory concentration, showed that the antibacterial activity of essential oil of *Ammoides verticillata* is very important for all tested strains with zones of inhibition values to a maximum volume of 20µl of ET: *E. coli* ATCC 25922 with 38.5 ± 4.77 mm and *S. aureus* ATCC 25923 with 42.5 ± 3.90 mm. And minimum values to a volume of 10 µl of ET: *E. coli* ECL 3463 with 15.66 ± 3.78 mm and *S. aureus* ATCC 43300 with 26.66 ± 2.46 mm. The minimum inhibitory concentration of the ET *Ammoides verticillata* for strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 is between 0.4617 mg / ml and 0.2770 mg / ml. And for strains of *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* 3463 ELC and *Escherichia coli* ECL 6611 is between 0.9235 mg / ml and 0.4617 mg / ml. And the evaluation of antioxidant activity by DPPH shows that the essential oil of *Ammoides verticillata* has strong antioxidant activity.

Key words: *Ammoides verticillata* –essential oils – aqueous extract – hydrosol – antibacterial activity – antioxydant activity.

المخلص :

التركيبية الكيميائية للزيوت الطيارة تزودها بفعالية هامة ضد البكتيريا و ضد الأكسدة. خاصية تبحت في مجال الأغذية الزراعية من أجل الحفاظ على الأغذية. هذا العمل يتعلق بدراسة فعالية الزيوت الطيارة ل *Ammoides verticillata* (NOUNKHA) من عائلة Umbelliferae، ضد البكتيريا و ضد الأكسدة. انتزعت عن طريق التقطير البخار مع تحقيق مردود قدره 2.9%. وأظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا ضد البكتيريا المسببة للأمراض (القولونية والمكورات العنقودية الذهبية) بواسطة طريقة الانتشار بشكل جيد وتقييم التركيز الأدنى للمثبطة، أن النشاط المضاد للبكتيريا من الزيوت الأساسية من *Ammoides verticillata* مهم جدا لجميع السلالات المختبرة مع مناطق تثبيط بقيم أقصى بحجم 20µl من البكتيريا القولونية ATCC 25922 قدرت ب 38.5 ± 4.77 ملم و البكتيريا المذهبة ATCC 25923 ب 42.5 ± 3.90 ملم. وقيم الحد الأدنى بحجم من الزيت 10 µl من البكتيريا القولونية ECL 3463 ب 15.66 ± 3.78 ملم و. البكتيريا المذهبة ATCC 43300 ب 26.66 ± 2.46 ملم. التركيز الأدنى للمثبطة لل *Ammoides verticillata* عن المكورات العنقودية الذهبية سلالات ATCC 25923 والمكورات العنقودية الذهبية ATCC 43300 ما بين 0.4617 ملغم / لتر و 0.2770 ملغم / لتر. وعلى سلالات من البكتيريا مثل *Escherichia coli* ATCC 25922، القولونية ELC 3463 والقولونية ECL 6611 ما بين 0.9235 ملغم / لتر و 0.4617 ملغم / لتر. وتقييم نشاط مضادات الأكسدة من قبل DPPH يدل على أن الزيوت الأساسية ل *Ammoides verticillata* لديه نشاط مضاد للأكسدة قوي.