

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université -Belhadj Bouchaib-d' Ain-Temouchent
Faculté des Sciences et de Technologie
Département d'Agroalimentaire



MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie Environnement

Spécialité : Ecologie Végétale et Environnement

Thème

**Activité anti-oxydante et anti-microbienne de l'huile
essentielle d'une plante médicinale *Ammoides verticillata*
de la région d'Ain temouchent**

Soutenu le : 06/07/2023 Présenté

Par : ➤ Mr. KADA MOSTEFA Mohamed Amine

Devant le jury composé de :

Dr. BELHACINI Fatima	MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent) Président
Dr. DERRAG Zaineb	MCA	UAT.B.B (Ain Temouchent) Examineur
Dr. RAHMANI Khaled	MCB	UAT.B.B (Ain Temouchent) Encadreur
Dr. BENYOUCEF Fatima	VAC	UAT.B.B (Ain Temouchent) Co-Encadreur

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Allah, Le Tout Puissant et Le Miséricorde dieux, de m'avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme ma formation de Master Ecologie et environnement à l'université Belhadj BOUCHAIB Ain Témouchent.



A mes encadreurs

Dr RAHMANI Khaled Et Dr BENYOUCEF Fatima



Je tiens à remercier,

*Les membres de jury **Dr BELHACINI Fatima et Dr DERAAG Zaineb** professeurs à l'université d'Ain temouchent, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce travail.*



Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en participant à la réalisation de mon travail.

Je porte une grande considération tant pour votre extrême gentillesse que pour vos qualités professionnelles.

Veuillez agréer, Cher Professeur, l'expression de ma vive reconnaissance et de ma respectueuse gratitude



A tous mes Amis, particulièrement ceux de ma promotion, avec qui j'ai passé des meilleurs moments bien que mon parcours avec vous ait été court.

A toutes les personnes qui m'ont aimées et respectées tout au long de ma vie d'étudiant.

Merci...



Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il

Faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que...

Je dédie cette thèse...

ملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة النشاط المضاد للبكتيريا والمضاد للأكسدة لليبي أساسا لنبا طب طرر: Ammoides verticillata، تم استخراج الليبي أساسا طن طريق التقرير المائي.

أظهر النشاط المضاد للأكسدة لليبي المدروس باستخدام طريقة DPPH تأثير مضاد للأكسدة واطد للغاية حيث اننا وجدنا قيمة 50IC تداو: 0.1.5 ملغ / مل . و ه قيمة متقاربة جدا مقارنة 50IC لحمض الاسكوريك (فيتامين C) ف حين أن قدر مضادا أكسدة قوية من تلك الموجود ف BHT.

تم دراسة النشاط المضاد للجراثيم ضد تدع سلالا بكتيرية ثلاث سلالا سالبة الجرام (ATCC 25922، اليانفة الينجارية) (ATCC 27853) والدمونيلا التيفية (ATCC 14028)، ستة سلالا موجبة الجرام المكورا العنقودية

الذهبية (ATCC 43300)، Clostridium sporogenes (ATCC 19404)، Bacillus subtilis (ATCC 6633)، Bacillus cereus و Lactobacillus rhamnosus (ATCC 53103)، Enterococcus faecalis (ATCC 7314) (ATCC14)579 حيث أظهر الليبي نشاطاً مثبراً جداً ضد جميع الدلالا المختبر ، وتنوع النشاط من مدتوى حداس (قرر بين 9 و 11 مم) إلى مدتوى حداس للغاية) < 5. مم. (كسما لاحظنا أيضاً أن هذا الليبي كسان حداساً للغاية ضد بكتيريا الجرام +) (من الجرام) -).

الكلمات المفتاحية: اليبي أساسية ، Ammoides verticillata ، مضادا أكسدة ، مضاد للجراثيم.

Résumé

Le travail de ce Master visait l'étude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle d'une plante médicinale aromatique : *Ammoides verticillata*, l'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation. L'activité antioxydante d'huile étudiée a présenté d'effet antioxydant très prometteur par les méthodes de DPPH. L'HE d'*A. verticillata* a présenté un pouvoir antioxydant très élevé avec des IC_{50} de 0.125 mg/ml. Alors qu'une forte capacité antioxydante que celles des témoins **acide ascorbique** et le **BHT**.

L'activité antimicrobienne d'huiles essentielle a été étudiée contre neuf souches bactériennes : trois à Gram négatif *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *Salmonella typhi* (ATCC 14028), six à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Enterococcus faecalis* (ATCC 7314), *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 53103) et *Bacillus cereus* (ATCC 14579).

L'HE d'*Ammoides verticillata* a montré une très bonne activité inhibitrice vis-à-vis de toutes les souches testées, l'activité variait d'un niveau sensible à un niveau extrêmement sensible. On remarque également que cette huile été extrêmement sensible contre les bactéries à Gram(+) que les Gram(-).

Mots clés : Huiles essentielles, *Ammoides verticillata*, antioxydante, antibactérienne.

Abstract

The work of this Master aimed to study the antibacterial and antioxidant activity of the essential oil of an aromatic medicinal plant: *Ammoides verticillata*, the extraction of essential oils was carried out by hydrodistillation.

The antioxidant activity of the oil studied showed very promising antioxidant effect by DPPH methods. *A. verticillata* EO showed a very high antioxidant capacity with IC50s of 0.125 mg/ml. The antioxidant capacity of *A. verticillata* EO was higher than that of the ascorbic acid and BHT controls. The antimicrobial activity of essential oils was studied against nine bacterial strains: three Gram-negative *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) and *Salmonella typhi* (ATCC 14028), six Gram-positive : *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Enterococcus faecalis* (ATCC 7314), *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 53103) and *Bacillus cereus* (ATCC 14579). *Ammoides verticillata* EO showed very good inhibitory activity against all the strains tested, with activity ranging from sensitive to extremely sensitive. We also note that this oil was extremely sensitive against both Gram(+) and Gram(-) bacteria.

Key words: Essential oils, *Ammoides verticillata*, antioxidant, antibacterial.

Table Des Matières

Remerciement	☐
Dédicace	☐
Résumés.....	☐
Liste des abréviations	☐
Liste des tableaux	☐
Liste des figures	☐
Introduction01
Chapitre 01 : <i>Ammoides verticilata</i> (Synthèse bibliographique)	☐
1. Description botanique.....	.02
2. Noms vernaculaires02
3. Nomenclature et taxonomie04
4. Systématique04
5. Habitat et et répartition géographique05
6. Utilisation en médecine traditionnelle06
7. Toxicité08
Chapitre 02 : Méthodes d'extraction des huiles essentielles	☐
1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau09
1.1. Montages09
1.2. Principe.....	.09
1.3. Avantage et inconvénient09
2. Extraction par solvant organique10
2.1. Montage.....	.10
2.2. Principe.....	.11
2.3. Avantage et inconvénient.....	.11
3. Extraction assistée par micro-ondes11
3.1. Montages.....	.11
3.2. Principe.....	.12
3.3. Avantage et inconvénient.....	.12
4. Extraction par fluide à l'état supercritique12
4.1. Montages.....	.12
4.2. Principe.....	.13
4.3. Avantage et inconvénient.....	.13
5. Extraction par hydro distillation13
5.1. Montages.....	.13
5.2. Principe.....	.14

5.3. Avantage et inconvénient.....	14
Chapitre03:Les huiles essentielles.....	16
1. Généralité sur les huiles essentielles	16
2. Définition	16
3. Utilisation historique et actuelle des huiles essentielles	17
4. Propriétés organoleptiques	17
4.1. La couleur.....	17
4.2. L'odeur.....	17
4.3. La saveur.....	17
5. Propriétés physiques	18
6. Propriétés reconnues des huiles essentielles	18
7. Critères de qualité des huiles essentielles	19
8. Composition chimique	19
9. Activités biologiques	20
Chapitre 04 : Matériel et Méthodes	21
Matériel et méthodes	21
1. Matériel végétal	21
2. Extraction d'huile essentielle (HE)	21
2.1. Principe.....	21
2.2. Mode opératoire.....	21
3. Activité antioxydante de l'huile essentielle	22
3.1. Méthode de réduction du radical libre DPPH.....	23
3.2. Mode opératoire.....	23
3.2.1. Préparation d'une solution de DPPH.....	23
3.2.2. Préparation d'une solution mère d'HE de concentration 10mg/ml.....	23
3.2.3. Préparation des dilutions.....	23
3.2.4. Lecture des résultats d'activité antioxydant	24
4. Etude de l'activité anti microbienne	25
4.1. Matériel utilisé	25
4.2. Appareils	26
4.3. Matériel biologique	26
4.4. Milieu utilisés	26
4.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobiennes	27
4.5.1. Purification	27
4.5.2. Test de l'activité antibactérienne (<i>Méthode de diffusion sur disques</i>)	27

4.5.3. Lecture des résultats	28
Chapitre 05 : Résultats et discussions	
I. Résultats	29
I.1. Résultat d'extraction d'huile essentielle (HE)	29
I.2. Résultats d'activité antioxydant par DPPH	29
I.3. Résultats d'activités antibactériennes	31
2. Discussions	32
Conclusion	
Références bibliographiques	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Introduction

Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (**Mailhebiau, 1994**). L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. A cet effet, on s'est intéressé à l'une des espèces de la famille des Lamiacées : le thym (*Thymus ciliatus*) et d'*Ammoides verticillata* ou (*Ptychotis*) dite Nûnkha, il est important de définir leurs identités, connaître leurs compositions chimiques et rechercher leurs activités biologiques (**Bouhdid et al, 2006**).

Dans ces dernières années, les recherches scientifiques s'intéressaient aux composés des plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. Les molécules issues des plantes dites naturelles sont considérées comme une importante source de médicaments, sachant que plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont appliqués selon leur usage traditionnel (**Bérubé, 2006**). Actuellement l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime environ 80% des habitants de la planète ont recours aux médecines traditionnelles à base de plante en tant que soins de santé primaire (**Bérubé, 2006**).

Depuis des études ont été menées sur le développement de nouvelle application et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine alimentaire, en aromathérapie, pharmacie, parfumer, cosmétique et dans la conservation des aliments. L'utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Cimanga et al., 2002**). L'évaluation sensorielle est aujourd'hui une discipline obligatoire. Si son secteur d'application privilégié est l'industrie agro-alimentaire, aucune démarche commerciale moderne ne saurait se passer de cet irremplaçable instrument en liaison avec les tests consommateurs et ce quelle que soit la nature du produit. Les caractéristiques sensorielles d'un produit et/ou de sa présentation Doivent être prises en compte dès sa conception et suivies en production pour garantir la qualité et le succès du produit (**Jean-François, 2003**).

I. Description botanique

Ammoides verticillata (Nounkha) est une plante herbacée annuelle aux feuilles glauques minces, mesurant en moyenne environ 9 cm à 40 cm de hauteur. Ses tiges sont dressées, rayées et possèdent de nombreuses branches étalées. Ses feuilles pétiolées sont disposées de deux manières. Les feuilles inférieures comportent 3 à 5 segments, très rapprochés, étroits et trilobés, et les feuilles ultérieures sont découpées en bandes velues et apparaissent en verticilles. Ses fleurs sont des inflorescences blanches, rassemblées en petites ombelles, composées de 8 à 15 rayons capillaires très inégaux. Il se caractérise par un cycle dynamique tardif de mai à juillet. Le fruit est diène, brun-gris, petit, moins de 1 mm de long, côtelé, ovale. Couvert de poils épais. Les particules sont petites, ovales, rayées, courbées et gris-vert. Ses racines sont également fines et tournantes. Une fois mûrs, les grains sont récoltés, séchés et battus.

Ammoides verticillata est une plante très aromatique, fortement aromatique et piquante, son odeur (semblable au thymol) est très agréable, mais très diffuse et forte ; une forte odeur balsamique qui persiste même après séchage. Il possède l'odeur caractéristique du thymol et une saveur rappelant le thym.

2. Noms vernaculaires

En Algérie, *A.V* ou *Pusilla* est connue sous le nom de Nounkha et dans les pays d'Afrique du Nord elle porte différents noms tels que Nanoukh, Ridjl El-Ghorab et Gazar Ech-Cheytan (Trabut, 1935 ; Quezel et Santa, 1963 ; Laouer, 2003). On l'appelle Nounkha ou Nûnkha, du nom persan « Nankhah » et est utilisé comme assaisonnement du pain en Iran. En fait, « Nan » et « Khah » signifient respectivement pain et saveur (Baytop et Siltliipinar, 1986). Certains chercheurs en botanique donnent des noms différents (basionymes) en latin. Pour cette **plante**. Ils sont regroupés dans le tableau I.

Tableau I : Regroupement des plantes

<i>Ammoides pusilla</i> (Brot.) B reistr.
<i>Seseli verticillata</i> Desf.
<i>Seseli ammoides</i> L.
<i>Carum ammoides</i> (L.) Ball
<i>Petroselinum ammoides</i> (L.) Rechb.f.
<i>Ptychotis ammoides</i> (L.) W.D.J.Kocck
<i>Apium ammios</i> (Caruel)
<i>Seseli corsicum</i> (Link)
<i>Ptychitis verticillata</i> (Duby)
<i>Corum ammoides</i> (L.) Benth. et Hook. f. ex Arcang.

Cette plante est très rare, mais elle est aussi endémique à certaines régions différentes, chacune étant désignée par son patois ou nom commun.

- Arabe (Algérie) : Nounkha/Nûnkha, Ajowan/Ajawain/Ajwan (Merrad, 1973), Nanoukha (Trabut, 1935), Taleb El Koubs (Abdelouahid, 2004).
- Maroc : Nunkha (Sijelmassi, 1991).
- France : Ajowan (Wehmer, 1931 et Afnor, 1992), Faux Ammi Fuet, Cerfeuil.
- Au Royaume-Uni : graines de carrom, faux persil, Cerfolium.
- Inde : Kamun al-muluki, Nakhwah, Nahwah, thym indien.
- Allemagne : Adiowan, Cumin d'Ethiopie.
- Espagne : Ammoides, Tarajillo.

La plante *Ammoides verticillata* est populairement connue sous le nom de Nounkha. Il provient d'une variante du nom persan « Nankhah », qui provient de son utilisation comme assaisonnement du pain en Iran (Nan et Khah signifient respectivement pain et saveur. (Seddik, 2010).

2. Nomenclature et taxonomie

Selon la classification Angiosperm Phylogeny Group IV (APG IV) (2016), la position systématique de l'*Ammoides verticillata* est la suivante :

Domaine : Eukaryota

(Non classé): Archaeplastida

Règne : Plantae

Clade : Angiospermes

Clade : Eudicots

Clade : Eudicots centraux

Clade : Superastéridés

Clade : Asteridées •

Clade : Euastéridées II

Ordre : Apiales

Sous-ordre : Apineae

Famille : Apiaceae

Sous-famille : Apoideae

Tribu : Pyramidoptereae

Genre : *Ammoides*

Espèce : *Ammoides verticillata* ou *pusilla* (Brot.) Breistr.

3. Systématique

Ammoides verticillata appartient à la famille des Apiacées. C'est une famille très abondante elle comprend plus de 3000 espèces avec 55 genres représentés en Algérie. Le genre *Ammoides* comprend deux espèces : *Ammoides verticillata* (plante annuelle) et *Ammoides atlantica* (plante bisannuelle) D'après Benoit et al. (2016). L'*A. Verticillata* a été classée suivant le tableau II :

Tableau II : classification l'*Ammoides verticillata*

Cladus	Plantae
Cadus	Plasmodesmophytes
Cladus	Embryophytes
Cladus	Stomatophytes
Cladus	Hemitracheophytes
Cladus	Tracheophytes
Cladus	Euphyllophytes
Cladus	Spermatophytes
Cladus	Angiospermes
Cladus	Dicotylédones Vraies
Cladus	Dicotyledones vraies superieures
Cladus	Asteriodes
Cladus	Campanulides
Ordre	Apiales
Famille	Apiacées
Genre	Ammoides
Espèce	<i>Ammoidesverticillata</i>

2. Habitat et répartition géographique

A.P (ou verticillata) est largement répandu en Europe méridionale et centrale, ainsi qu'en Méditerranée et en Afrique du Nord. Cette plante est commune au nord de la Méditerranée, mais est très locale en Afrique du Sud. Rare dans certaines régions du nord. Les habitats typiques comprennent les pâturages, les berges des rivières, les terres incultes ; les landes, les plaines montagneuses, les berges des rivières, les bords des étangs, les lits des rivières, les oliveraies, les broussailles peu profondes, les fossés, les bruyères, les sols rocheux, Clairières forestières, alpages, forêts, littoraux, collines escarpées et forêts méditerranéennes. *Ammoides pusilla* est une plante diurne à feuilles caduques qui pousse sur des sols argileux et calcaires et des substrats profonds, humides à alcalins, humides à bien drainés.

L'espèce préfère les habitats mi- ombragés à ouverts, fleurit de mai à juillet et pousse dans des climats subhumides à subarides et arides (Rankou et al. 2015).

(Synthèse bibliographique)

a-Répartition dans le monde :

Dans le monde, on peut la trouver dans le Nord d'Asie, en Turquie, en Inde, en Iran, en Pakistan et en Afghanistan. Elle pousse spontanément en Afrique du Nord ; en Ethiopie et en Egypte. Elle s'étend également dans la région méditerranéenne. Cependant, les principaux cultivateurs sont les Indous et les Perse pour son pouvoir remarquable antimicrobien (Bekhechi et Abdelouahid, 2004).

b-Répartition en Algérie :

C'est une espèce Algérienne endémique. D'après Quezel et Santa, l'Ammoides verticillata est une plante médicinale Algérienne poussant dans la région de Tlemcen (Nord d'Ouest d'Algérie) et dans la région d'Adrar (Sud d'Ouest d'Algérie). Selon Dahmani (1997), Bouzza et al (2001) et Ayach (2007) ces régions sont caractérisées par des sols calcaires. La plante est abondante dans les champs, les pelouses ou dans les forêts et/ ou sur les altitudes montagneuses d'environ 1190 m d'hauteur.

6. Utilisation en médecine traditionnelle

Les plantes Verticillium sont largement utilisées pour prévenir et traiter diverses maladies. Un grand nombre de propriétés médicinales et thérapeutiques des différentes parties de la plante ont été décrites. Il est principalement utilisé pour traiter les problèmes d'estomac. Ainsi, les graines de cette plante présentent plusieurs effets thérapeutiques, à savoir : diurétique, analgésique, carminatif, antidiarrhéique, antihistaminique, antipyrétique, anthelmintique... et antiasthmatique. (Avicina, 1985) À titre informatif, nous fournissons ci-dessous quelques exemples pour mettre en évidence ses différentes propriétés. Par conséquent, les expériences menées par Kalpana et al. (2001) ont montré l'effet de diverses épices, dont l'A.V., sur la sécrétion d'acides biliaires. Les jeunes rats ont une sécrétion accrue d'acide biliaire, ce qui explique les effets stimulants digestifs de cette épice.

Des études menées sur des cochons ont révélées l'effet antitussif de cette plante (Boskabady et al. 2005) De même, les activités anti hypertensive, antispasmodique,... et brohodilateur (Gilani et al., 2005) et antihistaminique ont été mises en évidence. De plus, Dashti-Rahmatabadi et al. Il a été démontré que les extraits éthanoliques des fruits de cette plante ont des effets analgésiques chez la souris (Dashti et al., 2007). Son huile essentielle possède des propriétés antimycotoxines (Rasooli et al., 2008) et anti-stress (Ashraf et Orooj, 2006). En Ethiopie, ses graines mélangées au poivron rouge ont des propriétés antipyrétiques (Getahum, 1976). De plus, ses feuilles sont utilisées pour traiter les douleurs d'estomac et l'avortement (Jansen, 1992). En Inde, la plante est

(Synthèse bibliographique)

fréquemment utilisée dans les industries pharmaceutique et cosmétique pour fabriquer des produits de beauté. En fait, ses graines sont utilisées dans la fabrication de médicaments ayurvédiques pour traiter les troubles digestifs, les gaz, les coliques et la diarrhée (Watson, 1992). Ses fruits sont utilisés comme agent antibactérien en Turquie, et en médecine traditionnelle ils sont connus pour leurs effets galactagogue et gastrotonique. Il est à noter que cette plante est méconnue dans la flore médicinale algérienne (Mamoudi, 1990). Néanmoins, en médecine traditionnelle la partie aérienne de la plante sèche est préconisée Sous forme de décoction contre la grippe et la fièvre et sous forme d'infusion comme boisson Fraîche associée avec des tranches de citron, en saison chaude, pour éviter toute infection et Particulièrement contre la fièvre typhoïde. L'enquête thérapeutique de Felidj et al. (2010), réalisée auprès des herboristes et des gens Campagne de la région de Tlemcen, confirme les avancements des chercheurs précédents. Les Informations qu'il a pu recueillir sont résumées dans le tableau III

(Synthèse bibliographique)

Tableau III : Enquête thérapeutique d'Ammoides verticillata (Felidj et al. 2010)

Parties utilisées	Indications	Mode d'emploi
Plante entière	Fièvre	Inhalation
	Rhumes et gripes	Inhalation/infusion
	Problèmes respiratoire	citronnée
	Infections rénaux	Inhalation ou infusion
	Parasites intestinales	Infusion
	Cycles douloureux	Infusion ou poudre
	Antispasmodique	miellée
	Laxatif	Infusion
	Migraines et Sinusites	Infusion
	Boisson rafraîchissante	Infusion
Feuilles	Condiment culinaire	Sauces
		Soupes
		Conservateur d'aliment confit (antifongique)
	Abcès et Furoncles	Cataplasme
Racines	Diurétique	Décoction miellé

7. Toxicité

L'A.P n'a provoqué aucun cas d'intoxication et les tests de toxicité n'ont montré aucun effet néfaste lié à l'utilisation de cette espèce. Les tests de toxicité (DL50) n'ont révélé aucun effet négatif lié à l'utilisation de cette plante (Bnouham et al., 2007).

I. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau I.1.

Montages

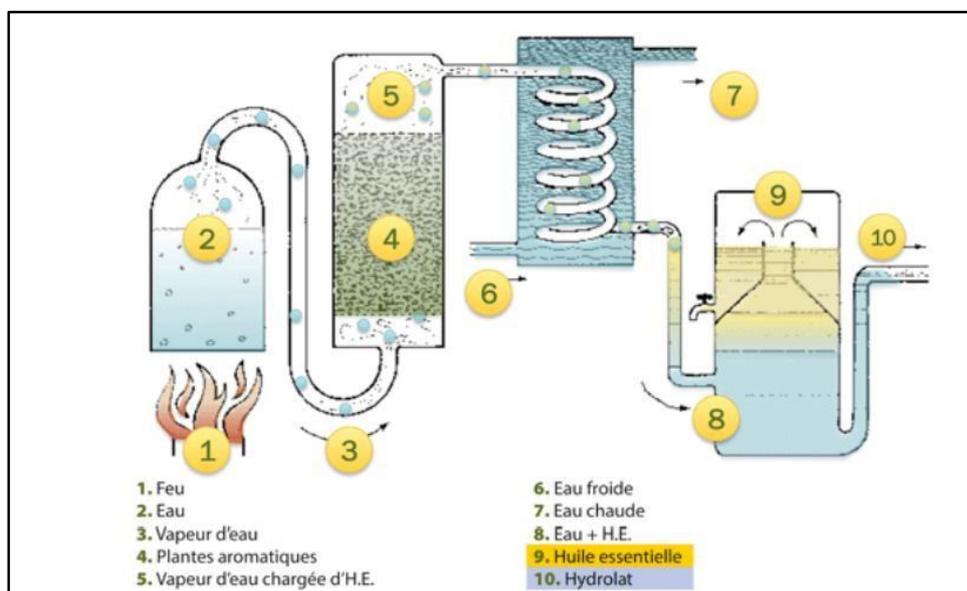


Figure I : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau

I.2. Principe

La distillation à la vapeur (Figure I) est l'une des méthodes officielles d'obtention d'huiles essentielles. Contrairement à l'hydrodistillation, cette technologie n'apporte pas de contact direct entre l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par la chaudière traverse la matière végétale située au-dessus de la grille. Au fur et à mesure que la vapeur traverse la matière, les cellules se rompent et libèrent l'huile essentielle qui s'évapore sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite acheminé vers un condenseur et aromatisateur, où il est séparé en une phase aqueuse et une phase organique : les huiles essentielles. Il n'y a pas de contact direct entre l'eau et les matières végétales, ni entre l'eau et les molécules aromatiques, évitant ainsi certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

I.3. Avantage et inconvénient

L'avantage de cette technique est qu'elle réduit la température de distillation. Par conséquent, le composé aura une température bien inférieure à son point d'ébullition, ce qui évite leur décomposition. Ainsi, des substances ayant de hauts points d'ébullition peuvent être extraites par contre les inconvénients sont dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à

l'ébullition ; Certains organes végétaux, en particulier les fleurs sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par cette technique

2. Extraction par solvant organique

2.1. Montages

Selon la technique et le solvant utilisés, les résultats suivants peuvent être obtenus :

- Hydrolysats : extraction par solvant en présence d'eau.
- Alcools : Extraction à l'éthanol dilué
- Teintures ou solutions non concentrées obtenues à partir de matières premières traitées avec de l'éthanol ou des mélanges éthanol/eau.
- Extrait résinoïde ou éthanolique concentré
- Oléorésine et béton. Extraits à froid ou à chaud avec divers solvants (AFNOR, 1992).

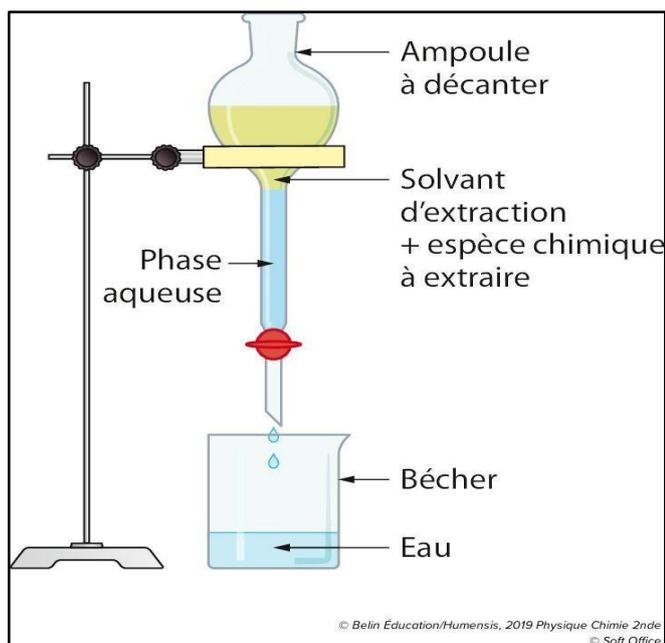


Figure 2 : montage de l'extraction par solvant organique

2.2. Principe

L'extraction avec des solvants organiques volatils reste la méthode la plus utilisée. Les solvants les plus couramment utilisés aujourd'hui sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol et, plus rarement, le dichlorométhane et l'acétone (Kim et Lee, 2002 ; Dapkevicius et al, 1998 ; Legrand, 1993).

2.3. Avantage et inconvénient

Le recours limité à l'extraction avec des solvants organiques volatils est justifié par des problèmes de coût, de sécurité, de toxicité et de réglementation liée à la protection de l'environnement (Laguznez, 2006).

3. Extraction assistée par micro-ondes

3.1. Montages

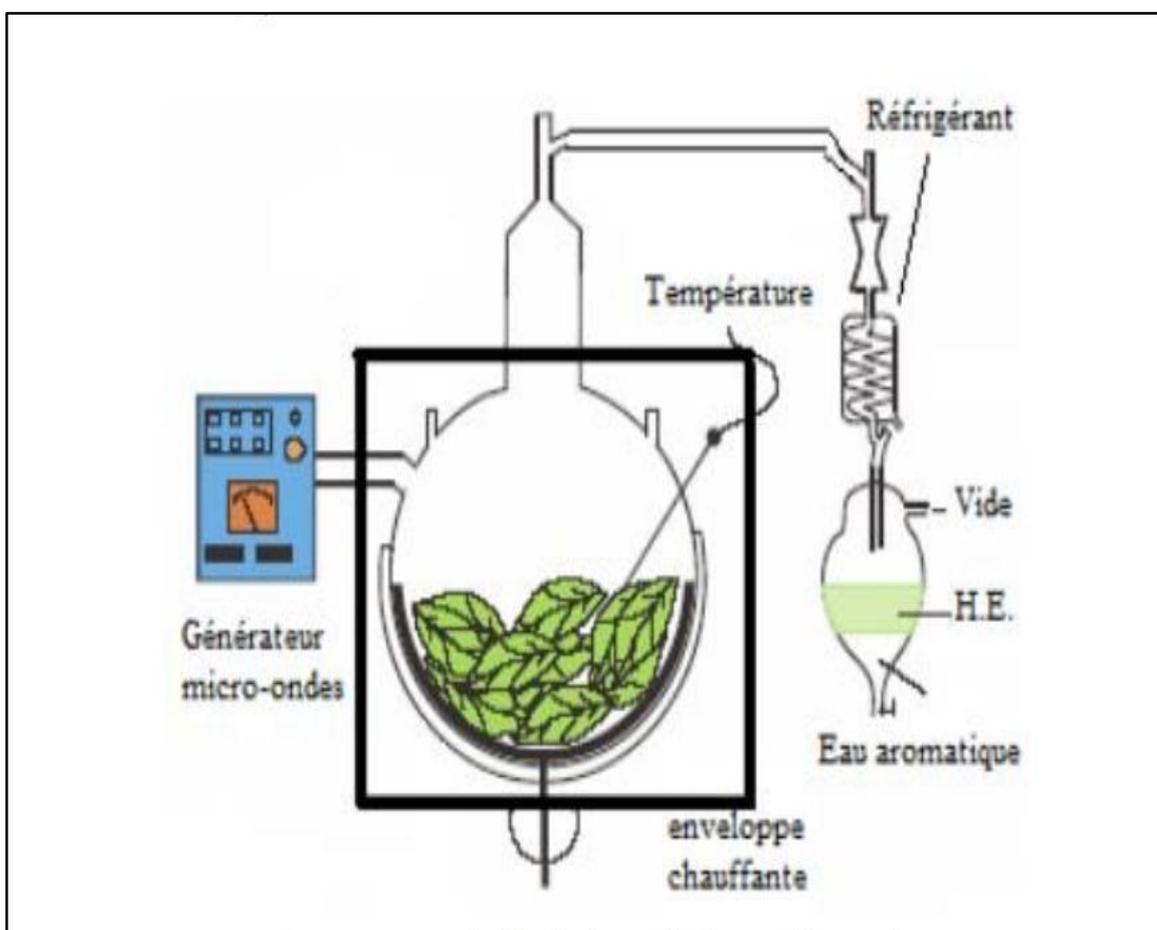


Figure 3 : Hydro distillation assistée par micro-ondes

3.2. Principe

Il s'agit d'une nouvelle technologie développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux huiles essentielles et aux extraits aromatiques. Dans cette méthode, les plantes sont chauffées par rayonnement micro-ondes dans une enceinte où la pression diminue progressivement. Les molécules volatiles sont entraînées dans un azéotrope formé de vapeur d'eau caractéristique des plantes traitées (Brennecke et Eckert, 1989). Cet échauffement évapore l'eau contenue dans les glandes sébacées et crée une pression à l'intérieur de la plante, provoquant la rupture des parois de la plante et la libération de l'huile.

3.3. Avantage et inconvénient

Les auteurs de ce procédé estiment qu'il présente les avantages suivants : Temps d'extraction réduit (10 à 30 fois plus rapide), économies d'énergie et pyrolyse.

4. Extraction par fluide à l'état supercritique

4.1. Montages

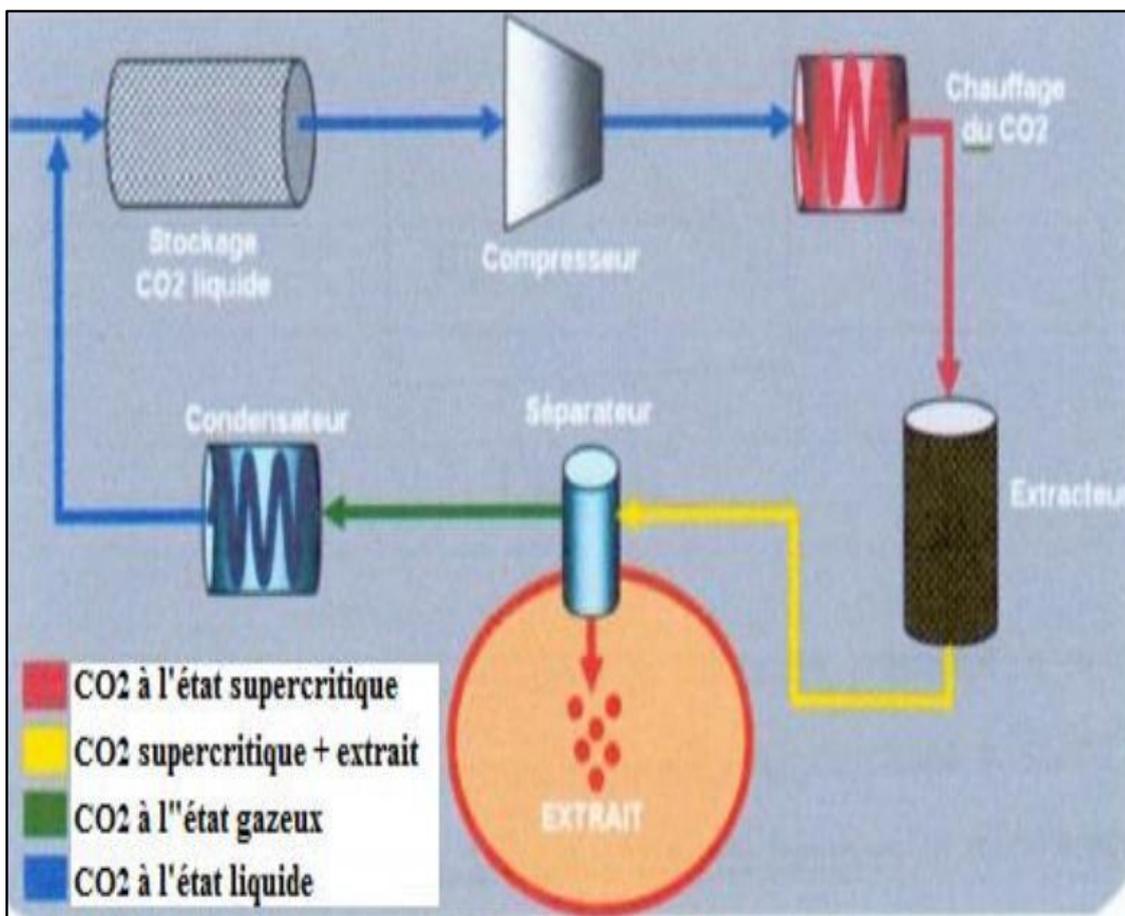


Figure 4 : Schéma de la technique d'extraction par le CO₂ supercritique

4.2. Principe

Cela implique de faire circuler du CO₂ supercritique à travers le matériau sous pression et température, puis de réaliser un vide pour récupérer les extractibles ou les impuretés.

4.3. Avantage et inconvénient

Cette technologie repose sur la solubilité des composants dans des fluides à l'état supercritique. Par rapport aux méthodes traditionnelles, les avantages de cette méthode sont un temps d'extraction court, une sélectivité élevée et une élimination et une récupération faciles du solvant par simple décompression après extraction (Danielski et al., 2006). De plus, le CO₂ est extrait à une température plus basse et n'est pas agressif pour les composants les plus délicats. Cette technologie peut être utilisée pour les arômes difficiles à distiller. La figure 4 montre la technologie d'extraction au CO₂ supercritique (à titre d'exemple).

5. Extraction par hydro distillation

5.1. Montages

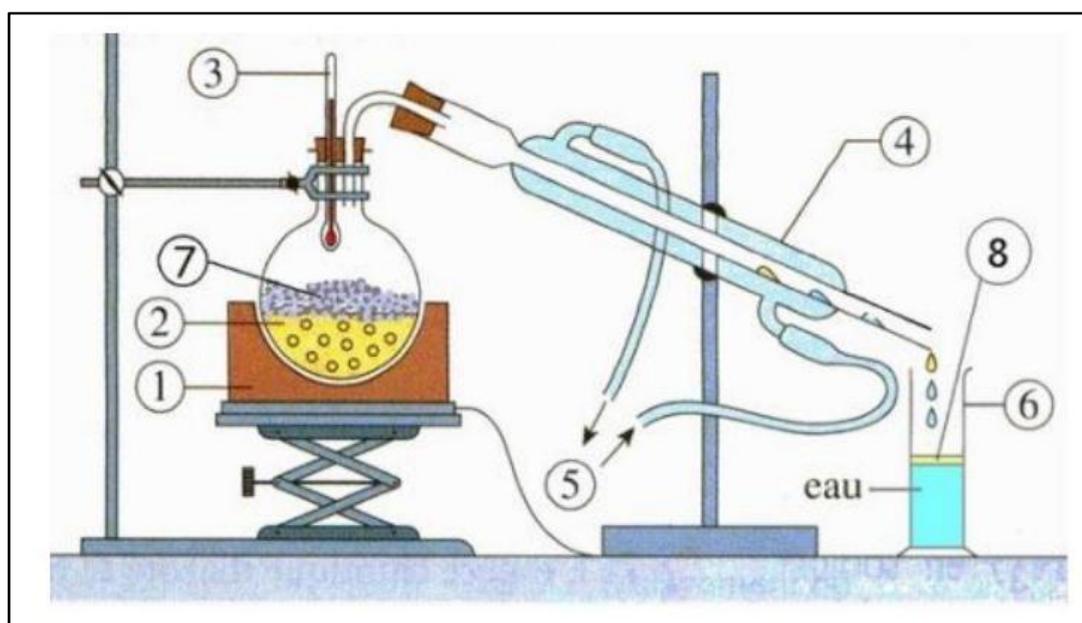


Figure 5 : Schéma de la technique d'extraction par hydro distillation

1-Chauffe ballon 2-Ballon 3-Thermomètre 4-Réfrigérant 5-Entrer et sortie d'eau de refroidissement 6-Eprouvette graduée 7-Matière à extraire l'essence 8-La couche d'HES

5.2. Principe

C'est la méthode la plus simple et donc la plus ancienne. Le principe de la HD correspond à une distillation hétérogène et implique l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult) (Pavida, 1976). Le procédé consiste à immerger le matériel végétal dans un flacon lors d'un processus d'extraction en laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau et placé au-dessus d'une source de chaleur. Portez ensuite le tout à ébullition. La chaleur provoque la rupture des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qu'elles contiennent. Ces molécules aromatiques forment un mélange azéotropique avec la vapeur d'eau. La vapeur se condense dans le réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'eau grâce aux différences de densité. En laboratoire, un système équipé d'un cohobe couramment utilisé pour l'extraction d'huiles essentielles est le Clevenger (Lucchesi, 2005).

5.3. Avantage et inconvénients

Le temps nécessaire à l'hydrodistillation varie considérablement et peut durer plusieurs heures en fonction de l'équipement utilisé et du matériel végétal traité. Le temps de distillation affecte non seulement le rendement mais aussi la composition de l'extrait.

I. Généralité sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont généralement des produits assez complexes contenant des composants volatils (définition pharmacopée) contenus dans les plantes (Andria manantoanina, 1984). Il existe de nombreux types d'huiles essentielles dans le règne végétal et dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, rhizomes, fruits, écorces ou sève résineuse (Bruneton, 1987). Ils sont obtenus par distillation à la vapeur d'eau de plantes ou de parties de plantes ou par pressage d'écorces fraîches. (Burt, 2004 ; Kalumba, 2003). L'AFNOR (Association Française de Normalisation : AFNOR, édition 2000) définit les huiles essentielles comme : « Les produits obtenus à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur, ou à partir d'agrumes par des procédés mécaniques et obtenus par des moyens physiques à partir des produits de la phase aqueuse séparés des produit. » processus.

2. Définition

Les huiles essentielles, appelées essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et sont présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, les écorces, les résines, les brindilles et le bois. Leur quantité est faible par rapport à la masse de la plante : ils sont odorants et très volatils, s'évaporant rapidement dans l'air (Padrini et Lucheroni, 1996). Ce sont des substances volatiles et odorantes obtenues à partir de plantes par entraînement de vapeur d'eau. Ils se forment dans un grand nombre de plantes en tant que produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont des mélanges de liquides très complexes. Ils possèdent des propriétés et des méthodes d'utilisation uniques et ont donné naissance à de nouvelles branches de la phytothérapie et de l'aromathérapie. Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme qui les utilisait autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner (AFNOR, 1987).

3. Utilisation historique et actuelle des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été utilisées depuis longtemps pour leurs propriétés conservatrices, aromatiques et gustatives. Cependant, c'est grâce aux historiens grecs et romains que leur utilisation pour le traitement médical et l'aromathérapie a été documentée pour la première fois. Les effets pharmacologiques des huiles essentielles ont été décrits dans des pharmacopées du XIII^e siècle, mais leur utilisation n'a été largement répandue qu'au XVI^e siècle. En 1881, De La Croix a été la première personne à effectuer une analyse antimicrobienne des vapeurs d'huiles essentielles. Aujourd'hui, les utilisations les plus courantes des huiles essentielles incluent les arômes alimentaires, les parfums, les produits pharmaceutiques et les propriétés antibactériennes, telles que les antiseptiques et les suppléments pour animaux (Cox et al., 2000, Windisch et al., 2008).

3. Propriétés organoleptiques

Ce sont des parfums et ont une date de survie limitée. Très variable et sensible à l'oxydation. Ce sont des substances volatiles, très odorantes, de consistance huileuse, moins liquide, voire résineuse. Il s'agit de produits stimulants utilisés à l'intérieur et à l'extérieur du corps, parfois purs, et le plus souvent dissous dans de l'alcool ou un solvant adapté (Bardeau, 1976 ; Legrand, 1978, Lemberg, 1982, Bruneton, 1999). Vous pouvez contrôler trois aspects :

4.1. La couleur : Chaque HE possède une couleur unique pour confirmer son identification et sa qualité. Il évolue avec l'âge et l'oxydation et a souvent tendance à brunir.

4.2. L'odeur : Ceci est caractéristique de toute HE, mais nécessite de bonnes habitudes olfactives.

4.3. La saveur : Généralement, les HE de qualité inférieure ou contrefaits développent une saveur désagréable avec le temps (Baudoux et al., 2006).

5. Propriétés physiques

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés physiques communes. Les HE sont différentes des huiles dites grasses car elles sont généralement liquides et volatiles à température ambiante. Ils sont plus ou moins colorés et leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau. Il possède un indice de réfraction élevé et est idéal pour dévier la lumière polarisée. Ils sont solubles dans les alcools, les éthers, le chloroforme, les huiles grasses, les émulsifiants et la plupart des solvants organiques, mais peu solubles dans l'eau. Le point d'ébullition varie entre 160°C et 240°C. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau et varie entre 0,75 et 0,99. Ils tournent dans le sens des aiguilles d'une montre ou dans le sens inverse et sont inefficaces en lumière polarisée. Ceux-ci dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels. Ce sont des parfums et ont une durée de conservation limitée. Très variable et sensible à l'oxydation. Ce sont des substances volatiles très odorantes, de consistance huileuse, moins liquide, voire résineuse. Il s'agit de produits stimulants utilisés à l'intérieur et à l'extérieur du corps, parfois purs, et le plus souvent dissous dans de l'alcool ou un solvant adapté (Bardeau, 1976 ; Legrand, 1978, Lemberg, 1982, Bruneton, 1999).

6. Propriétés reconnues des huiles essentielles

Les essences sont utilisées pour leurs effets antioxydants, antiseptiques, curatifs, antiparasitaires, antirhumatismaux, antineuraux, toniques, antispasmodiques et hormonaux. (Padrini et Lucheroni, 1996) sont généralement faibles et ont des effets inhibiteurs ou mortels sur la croissance microbienne (Bruneton, 1999 ; Crémieux, 1981). De plus, des études récentes ont montré que certaines huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales et antiparasitaires. En phytothérapie et en aromathérapie, les HE sont utilisées pour traiter de nombreuses maladies infectieuses et sont également utilisées en pharmacie (Bammi et al., 1997).

7. Critères de qualité des huiles essentielles

Les propriétés des molécules aromatiques et leurs effets synergiques déterminent les propriétés thérapeutiques et les indications des huiles essentielles. La relation étroite entre la structure chimique et l'effet thérapeutique constitue la base de l'aromathérapie scientifique. Il est impossible de définir les propriétés d'une huile essentielle sans considérer toutes les molécules qui la composent. Par conséquent, les normes de qualité des huiles essentielles doivent être établies en fonction de leur influence sur la composition biochimique idéale et globale de l'essence créée par la nature, plutôt que de celles qui ont été artificiellement modifiées ou reconstituées. Ce n'est qu'en adhérant à toutes les normes de qualité que l'authenticité, la sécurité relative et la pleine efficacité thérapeutique des huiles essentielles peuvent être garanties. De petites modifications du profil moléculaire augmentent les effets indésirables (allergie, corrosion cutanée, neurotoxicité, etc.) et réduisent l'efficacité. Les méthodes de culture ont un impact significatif sur la qualité des huiles essentielles. À des fins thérapeutiques, seules les huiles essentielles de plantes sauvages ou cultivées de manière biologique doivent être utilisées. Des expériences ont également montré que le simple ajout de sels inorganiques solubles au sol peut modifier considérablement la composition physico-chimique des huiles essentielles. Seules les plantes saines de l'espèce souhaitée doivent être récoltées...

8. Composition chimique

Les huiles essentielles sont composées de composés organiques volatils de faibles poids moléculaires, généralement inférieurs à 300. Ces composés volatils appartiennent à diverses classes chimiques telles que les alcools, les éthers ou oxydes, les aldéhydes, les cétones, les esters, les amines, les amides, les phénols, les hétérocycles et principalement les terpènes. Les alcools, les aldéhydes et les cétones fournissent une variété de notes aromatiques, notamment des notes fruitées ((E)-néroléol), florales (linalol), d'agrumes (limonène) et végétales (Y-sélinène) (Yi et al., 2014) ; Dhifi et al., 2016). En général, les principaux composants qui déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles comprennent deux groupes d'origines biosynthétiques différentes. Le groupe principal est constitué de terpènes et l'autre est constitué de composants aromatiques et aliphatiques, tous caractérisés par un faible poids moléculaire (voir Figure 2). De plus, d'autres composés présents dans les huiles essentielles tels que les diterpènes, les composants soufrés et azotés et les lactones ont été mentionnés

(Croteau et al., 2000 ; Bowles, 2003 ; Picchersky et al., 2006 ; Baser et Demirci, 2007 ; Zuzarte et Salgueiro, 2015).

9. Activités biologiques

Les essences sont utilisées pour leurs effets antioxydants, antiseptiques, curatifs, antiparasitaires, antirhumatismaux, antineuraux, toniques, antispasmodiques et hormonaux. (Padrini et Luccheroni, 1996). Les HE combattent les épidémies bactériennes, notamment les bactéries pathogènes, notamment les souches généralement résistantes aux antibiotiques, ainsi que les champignons responsables des mycoses et des levures. Le niveau d'activité de ces bactéries est généralement faible, entraînant une inhibition de la croissance microbienne. H. effet mortel (Bruneton, 1999; Crémieux, 1981). De plus, des études récentes ont montré que certaines huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales et antiparasitaires. En phytothérapie et aromathérapie, l'HE est Fethi A., 2015 - Analyse sensorielle de la viande de bœuf supplémentée en huiles essentielles *Thymus ciliatus* et *Ammoids verticillata* Master TIAA. Ils sont utilisés pour traiter de nombreuses maladies infectieuses et sont également utilisés dans les médicaments. (Bammi et al., 1997)

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal

- ✓ **La plante étudiée** : la partie aérienne d'*Ammoides verticulata*
- ✓ **Huile essentielle** : partie aérienne d'*Ammoides verticulata* extraite par Hydrodistillation
- ✓ **Région** : de Sidi safi Wilaya de Ain Temouchent
- ✓ **Les récoltées** ont été effectuées dans différentes périodes.

2. Extraction d'huile essentielle (HE)

2.1. Principe

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple la plus anciennement utilisée (**Mebarki, 2010; Abdelli, 2017**). Le principe consiste à faire bouillir le mélange d'eau et de plantes pour lequel l'huile essentielle est souhaité extraire, les cellules végétales s'éclatent et libèrent des molécules odorantes, qui sont ensuite emportées par la vapeur d'eau générée ils passent dans un refroidisseur d'eau, où ils se condensent, qui sont ensuite collectés dans un récipient

2.2. Mode opératoire

L'extraction d'HE d'*Ammoides verticulata* est réalisée par hydro-distillation pendant 6h et 30 min, l'hydrodistillation a été accomplie à l'aide d'un dispositif de type Clevenger (**Figure 7**).

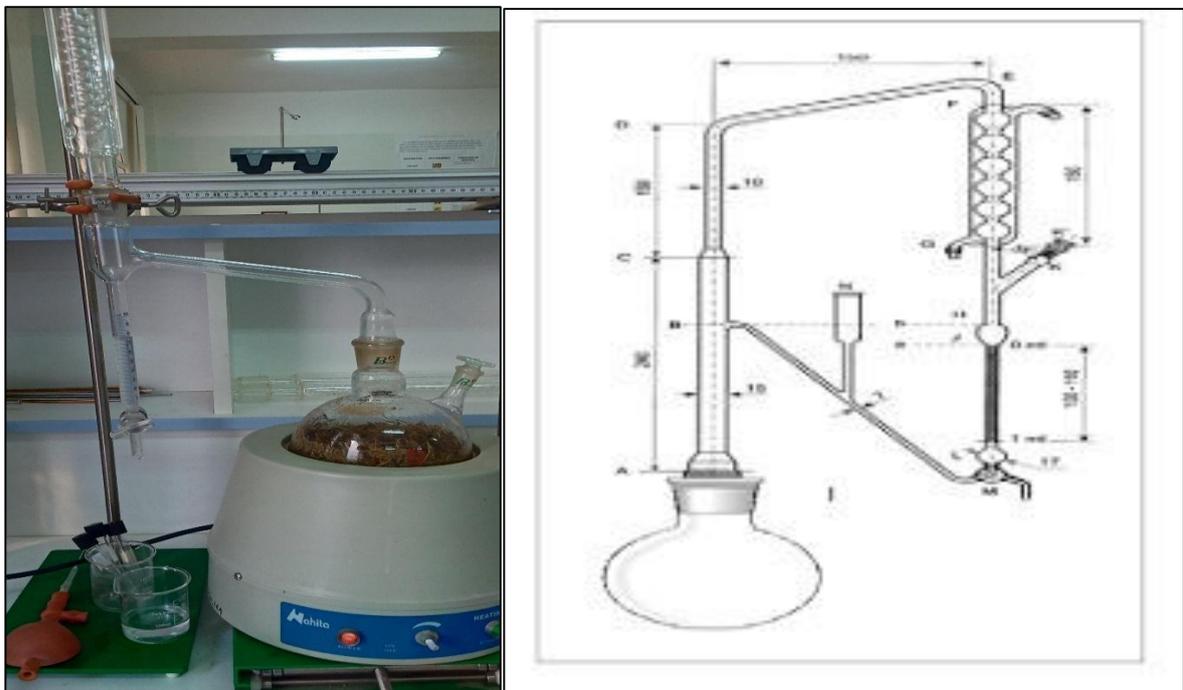


Figure 7: Dispositif de type **Clevenger** utilise pour l'extraction des HEs par hydro distillation.

Dans un ballon de 1 L, une quantité du matériel végétal est mise en contact direct avec 500 ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. L'huile essentielle est séparée de l'eau par décantation comme le montre la figure suivante :



Figure 8 : Séparation des HEs par décantation

Après extraction et la récupération, le volume de l'huile essentielle obtenu a été conservé dans un flacon en verre stérile. Le flacon a été couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière puis conserve dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'à son usage pour l'activité antibactérienne.

3. Activité antioxydant de l'huile essentielle

Les huiles essentielles ont été utilisés pendant des millénaires pour leurs bienfaits pour la santé (**Candan et al., 2003**). Certaines des propriétés bénéfiques supposées, par exemple, antiseptique, antioxydante, antimicrobiennes et antiinflammatoire, ont été soutenues par des recherches scientifiques récentes (**Mendoza-Yepes et al., 1997**). D'autre part, plusieurs huiles essentielles possèdent de bonnes propriétés antioxydantes, qui peuvent être exploitées pour protéger d'autres matériaux, tels que les aliments et leur rancissement (**Schwartz et al., 1992**). Il s'agit dans cette étude d'étudier la propriété antioxydante d'huile essentielle d'*Ammoides verticilatta*, à l'aide d'une méthode d'activité de piégeage radicalaire par DPPH.

3.1. Méthode de réduction du radical libre DPPH

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des antioxydants standards vis-à-vis du radical DPPH a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515 nm. Ce pouvoir réducteur est dû aux substances antiradicalaires et qui entraîne une diminution de l'absorbance.

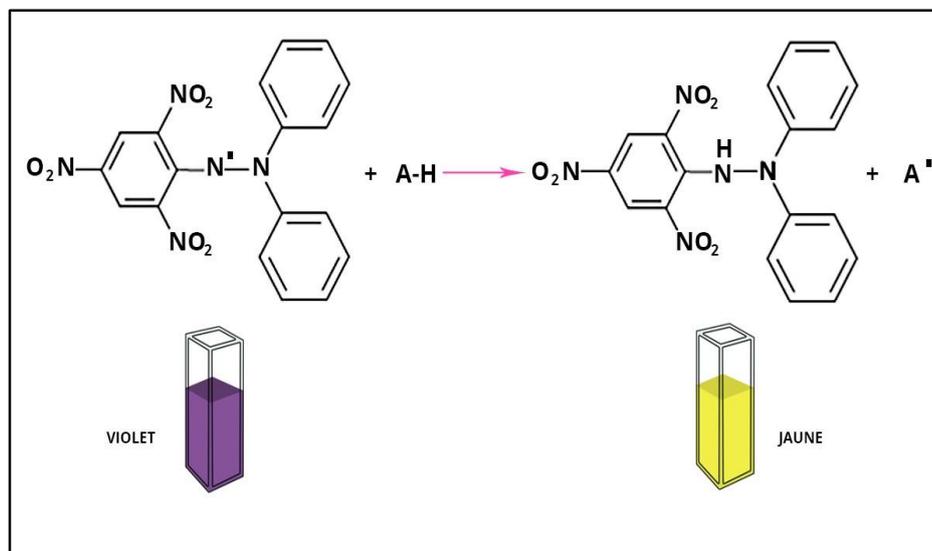


Figure 9 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH

3.2. Mode opératoire

3.2.1. Préparation d'une solution de DPPH

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 7,3 mg de DPPH dans 50 ml de méthanol.

3.2.2. Préparation d'une solution mère d'HE de concentration 10mg/ml Avant

de commencer en détermine la densité d'HE obtenu, $d_{HE}=0.0748$ g/ml.

3.2.3. Préparation des dilutions

Des dilutions de concentrations décroissantes ont été préparées selon le tableau suivant :

Tableau 04 : Préparation des dilutions

N° de tube	01	02	03	04	05	06	07	08	09
Concentration (mg/ml)	10	5	2.5	1	0.5	0.25	0.1	0.05	0.01
Solution zrière (µl)	2000	1000	500	200	100	50	20	10	2
Méthanol (µl)	0	1000	1500	1800	1900	1950	1980	1990	1998
DPPH (µl)	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Do_{control} = 0.705 nm									

Les tubes ont été incubés dans l'obscurité totale pendant 30 minutes, le pourcentage de l'inhibition est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Pourcentage d'inhibition(\%)} = \frac{\text{Do}(\text{control}) - \text{Do}(\text{echantillon})}{\text{Do}(\text{control})} \times 100$$

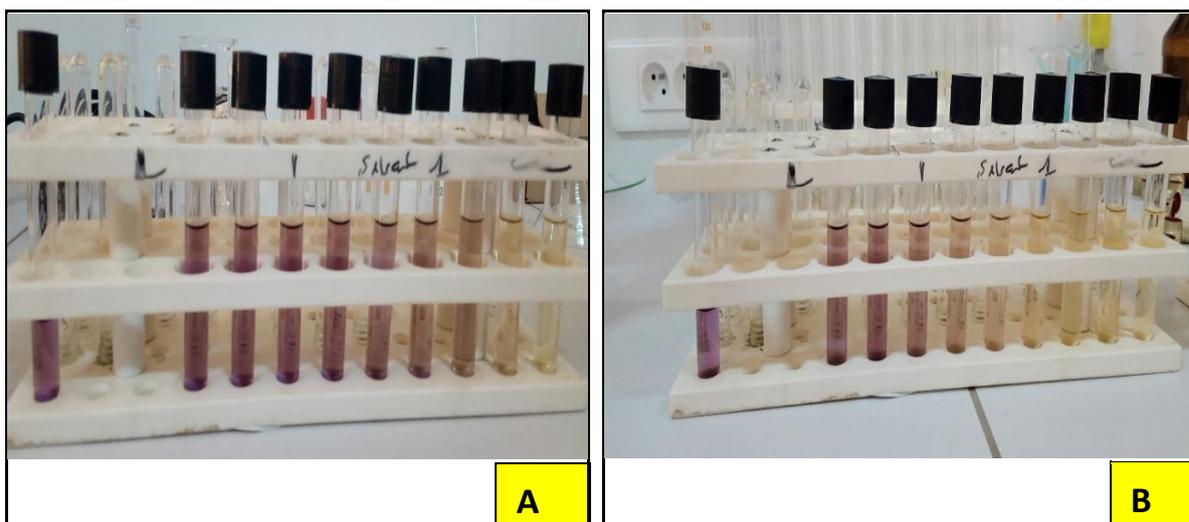


Figure 10 : Coloration des tubes : A) Avant incubation ; B) Après incubation

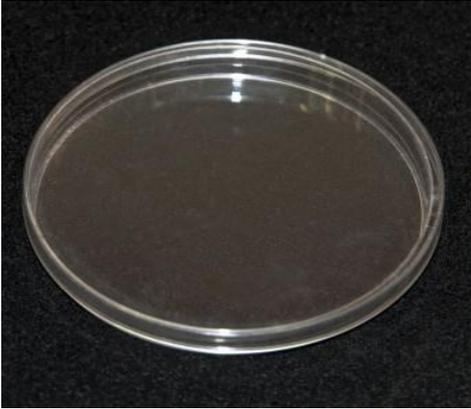
Les mélanges ont été incubés dans l'obscurité pendant 30 minutes et la décoloration comparée au contrôle négatif contenant seulement la solution de DPPH

3.2.4. Lecture des résultats d'activité antioxydant

A 517 nanomètres en fait la lecture par l'utilisation du spectrophotomètre UV visible.

4. Etude de l'activité anti microbienne

4.1. Matériel utilisé

	
<p>Bec bunsen</p>	<p>Les tubes à essai</p>
	
<p>Papier whatman (Ø=6mm)</p>	<p>Les flacons</p>
	
<p>Les boîte de Pétrie</p>	<p>Les Ecouvillon</p>

4.2. Appareils

Plusieurs appareils utilisés pour étudier l'activité antimicrobienne. (**Tableau.**)

Tableau 5 : Appareils de laboratoire utilisés

Matériel	Utilisation
Plaque chauffante agitatrice	Préparation du milieu de culture
Réfrigérateur	Conservation des échantillons
Autoclave	Stériliser les matériels et les milieux de culture
Etuve	Incubation les souches bactériennes

4.3. Matériel biologique

Les souches bactériennes utilisées est composé selon le tableau suivant :

Tableau 6: Les souches utilisées dans les différents tests d'activité antibactérienne.

Souches	Gram	Code
<i>E. coli</i>	Négatif	ATCC 25922
<i>P. aeruginosa</i>		ATCC 27853
<i>S. typhi</i>		ATCC 14028
<i>S. aureus</i>	Positif	ATCC 43300
<i>S. aureus</i>		ATCC 25923
<i>C. sporogenes</i>		ATCC 19404
<i>B. subtilis</i>		ATCC 6633
<i>E. faecalis</i>		ATCC 7314
<i>L. rhamnosus</i>		ATCC 53103

A.T.C.C : American type culture collection.

4.4. Milieu utilisés

Tableau 7 : Milieux utilisés pour l'activité antimicrobienne d'huile essentiell

Milieu	Utilisation
Liquide Bouille Mueller Hinton	Préparation de l'inoculum des souches bactérienne.
Solide Gélose Mueller Hinton	Colé dans des boîtes Pétri pour l'ensemencement des souches bactériennes.

4.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobiennes

4.5.1. Purification

En respectant les conditions d'asepsie, et dans le but de revivifier nos souches de références. Nous avons effectué le repiquage des souches microbiennes à partir d'une culture conservée sur Gélose nutritive inclinée (GNI). Ces souches de microorganismes. Ont été ensemencées séparément dans 10 ml de Bouillon MH, et Incubées à 37°C / 24h.

Ensuite de chaque tube incubé nous avons ensemencé par technique d'épuisement deux boites de Pétri préalablement coulées contenant le milieu spécifique pour chaque souche. puis nous le savons incubées à 37°C / 24h.

4.5.2. Test de l'activité antibactérienne (*Méthode de diffusion sur disques*)

Ce test nous permet d'évaluer simultanément l'activité antimicrobienne d'huile, La technique comprend trois grandes étapes (**P**réparation de l'inoculum ; **E**nsemencement ; **D**épôt de disques). Des disques de papier filtre stérilisés de 6 mm de diamètre imprégnés de 10 µl. 15 µl des huiles essentielles testées sont déposés à la surface d'un milieu de Mueller-Hinton coulé en boite de Pétri préalablement ensemencée en surface à l'aide d'un écouvillon avec une suspension bactérienne préparée dans le bouillon M.H d'une densité optique de 0.08 à 0.1 mesuré à 625 nm (environ 10⁸ UFC /ml). La suspension bactérienne doit être bien étalée sur la surface de la gélose MH séchée : frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée de haut en bas en stries serrées. Répéter l'opération 2 fois en tournant la boite de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

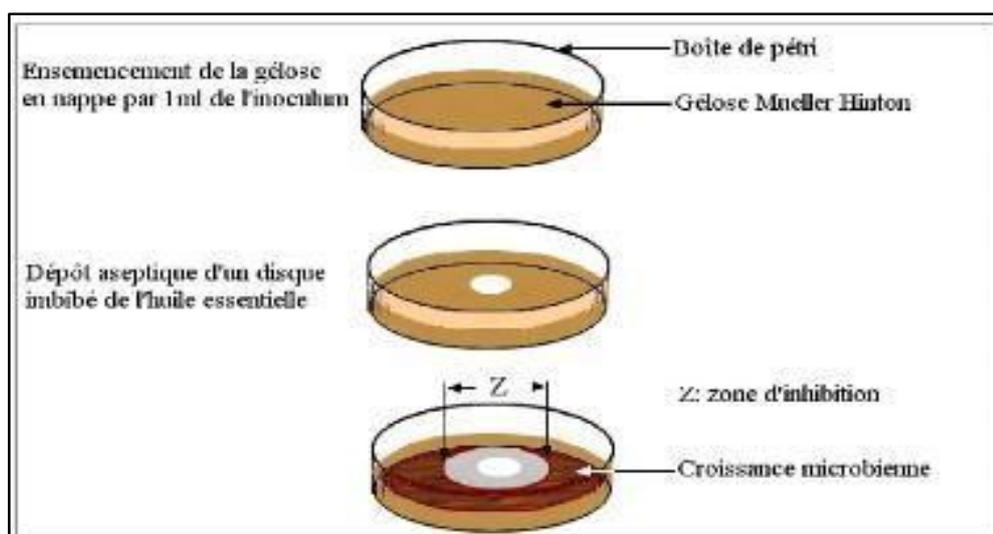


Figure 11 : Méthode de diffusion sur disques. (BENDJABOUR, 2019)

Les boîtes de Pétri sont déposées à 4°C pendant 02 heures pour permettre une diffusion des huiles essentielles. Après incubation à 37°C pendant 24h la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre en mm de la zone d'inhibition. Des disques des antibiotiques ont été utilisés : ampicilline (10µg) comme une molécule de référence.

4.5.3. Lecture des résultats

L'effet d'huile essentielle se traduit par l'apparition autour du disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance bactérienne appeler zone d'inhibition du principe actif (**Choi et al, 2006**). La mesure de la distance millimétrique de la zone est reportée sur l'échelle de concordance afin que la souche soit interprétée comme étant : sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-vis du principe actif étudié.

I. Résultats

I.1. Résultat d'extraction d'huile essentielle (HE)

Tableau 8 : Résultat d'extraction.

Région	Altitude	Climat	Densité	Rendement
Sidi safi	225 m	Humide	0.0748 g/cm ³	1.5 %

I.2. Résultats d'activité antioxydant par DPPH



Figure 12 : Résultats d'activité antioxydant par DPPH

Tableau 9 : Résultat d'activité antioxydant par DPPH.

N° de tube		01	03	05	06	07	08	09
Concentration (mg/ml)		10	2.5	0.5	0.25	0.1	0.05	0.01
DO (nm)	Essai 01							
	Essai 02							
Pourcentage d'inhibition (%)								
DO _{control} = 0.705 nm								

La concentration minimale d'inhibition de 50% de la DPPH (IC_{50}) est calculée graphiquement à partir des courbes de tendance linéaire, puis utilisée pour la comparaison de l'activité antioxydant d'acide ascorbique.

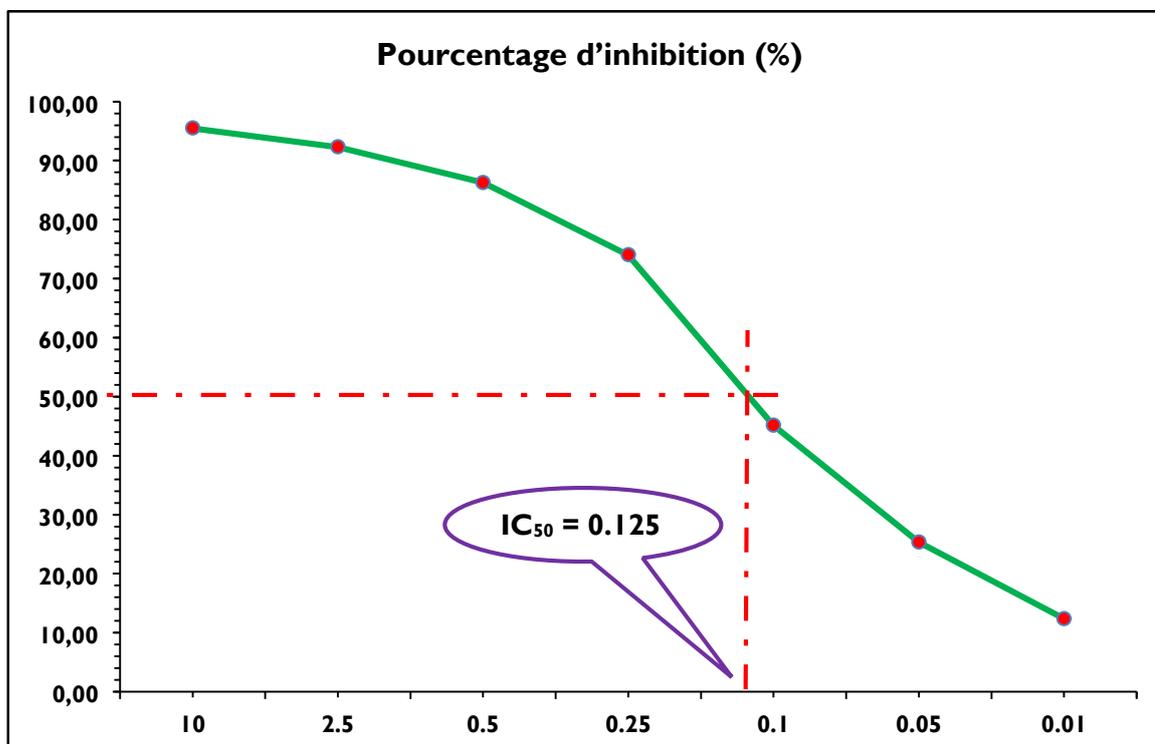


Figure 13 : Courbe d'étalonnage d'activité antioxydant par la méthode DPPH d'HE (*Ammoides verticilata*)

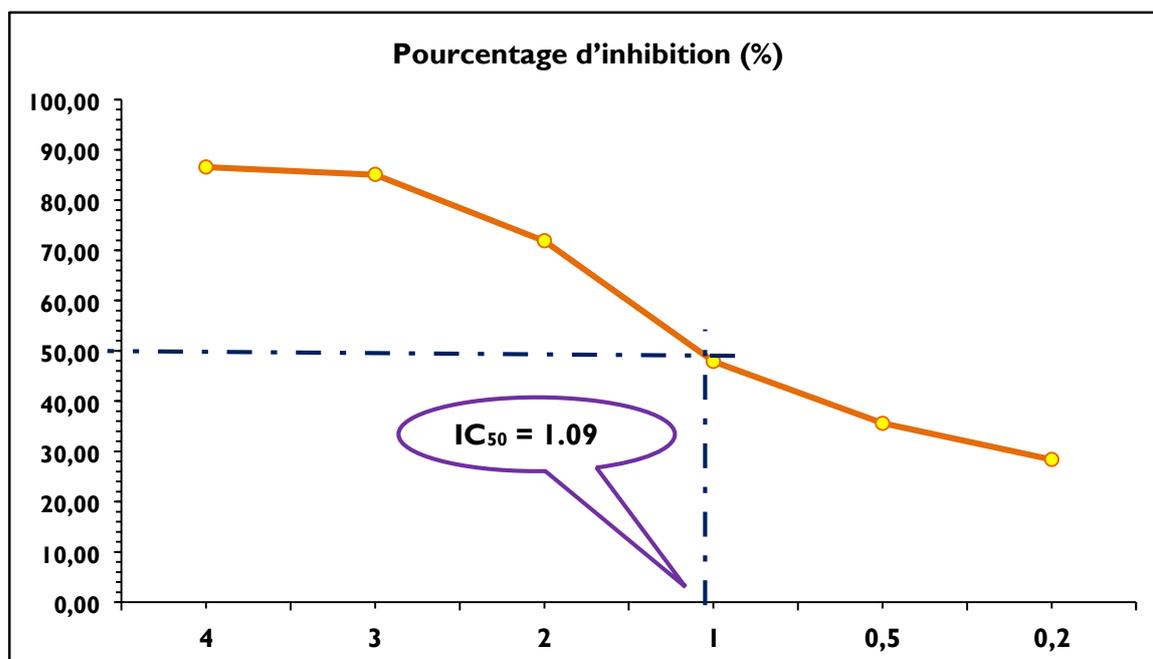


Figure 14 : Courbe d'étalonnage d'activité antioxydant par la méthode DPPH de BHT

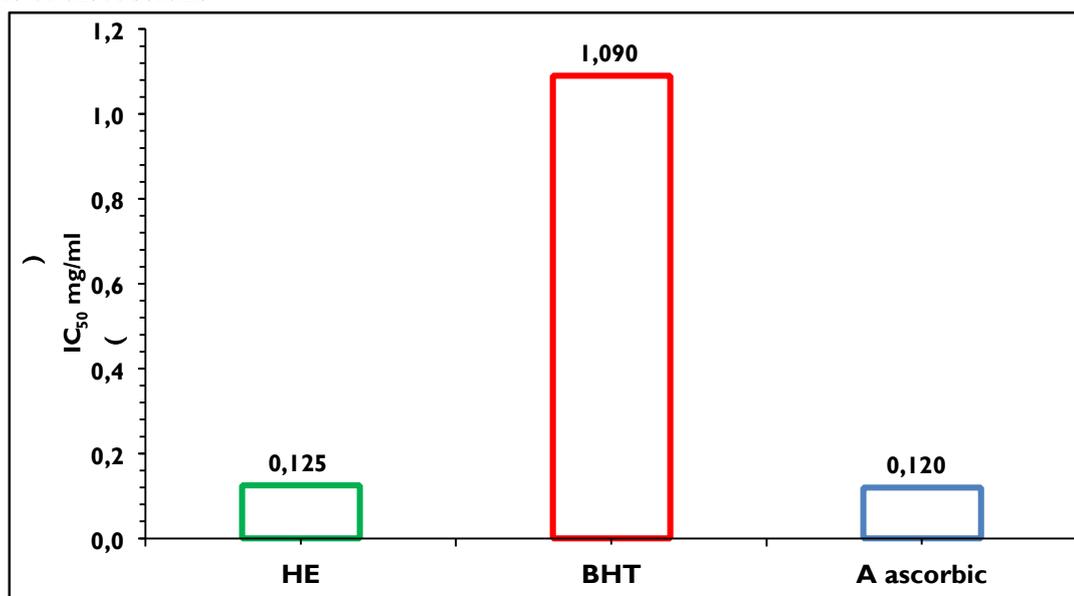


Figure 15 : Comparaison d'IC₅₀ d'HE, Acide ascorbique et de BHT déterminées par la méthode DPPH

Interprétation

Nous remarquons que l'huile essentielle d'*Ammoides verticilata* à montrer une activité antioxydante notable avec une IC₅₀ de **0.125** mg/ml, alors que le **BHT** a montré un pouvoir antioxydant modéré avec une IC₅₀ de **1.09** mg/ml.

I.3. Résultats d'activités antibactériennes

Tableau 10 : Résultats d'activités antimicrobiennes d'huile essentielle.

Microorganismes	Disc diffusion (HE <i>A. verticilata</i>)
	Niveaux d'activité
Gram négative bactéries	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	+
<i>S. typhi</i> ATCC 14028	+++
Gram positive bactérie	
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	+++
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	+++
<i>C. sporogenes</i> ATCC 19404	+++
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	+++

<i>E. faecalis</i> ATCC 7314	+++
<i>L. rhamnosus</i> ATCC 53103	+++

2. Discussions

L'huile essentielle d'*A. verticillata* on présentée d'effets antioxydant très élevé, probablement lié à leur profil chimique. Il est à noter que l'huile essentielle à exercer une excellente activité inhibitrice du radical DPPH avec une IC₅₀ de l'ordre 0.125 mg/ml, qui est nettement plus forte que celle obtenue par **Benyoucef et al** (0.4 mg/ml), néanmoins elle reste moins importante à celle trouver par **El Ouariachi et al** (0.018mg/ml).

L'examen de l'activité antioxydant d'HE d'*A. verticillata* ont exprimé également une forte capacité antioxydante que celles des témoins **acide ascorbique** et le **BHT**.

L'activité antimicrobienne d'huiles essentielle a été étudiée contre neuf souches bactériennes : trois à Gram négatif *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et *Salmonella typhi* (ATCC 14028), six à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Enterococcus faecalis* (ATCC 7314), *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 53103) et *Bacillus cereus* (ATCC14579).

De façon générale le mode d'action des huiles essentielles dépend du type et des caractéristiques des composants actifs, notamment leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation des enzymes de la membrane, une perturbation chémoosmotique et une fuite d'ions (K⁺) .

L'HE d'*Ammoides verticilata* a montré une très bonne activité inhibitrice vis-à-vis de toutes les souches testées, l'activité variait d'un niveau sensible à un niveau extrêmement sensible. On remarque également que cette huile été extrêmement sensible contre les bactéries à Gram(+) que les Gram(-). Selon l'étude réalisée par Attou et al, les HEs de *A. verticillata* ont montré une forte activité antimicrobienne contre cinq souches bactériennes et une souche fongique [82].

Conclusion

Conclusion

L'évaluation de l'activité antioxydante d'huiles essentielle par la méthode DPPH, ont montré que l'huile essentielle d'*Ammoides verticullata* sont doté d'un pouvoir antioxydant très élevé.

L'activité antimicrobienne a présenté également des effets inhibiteurs importants contre toutes les souches testées par l'huile essentielle. Les bactéries testés tel que *E coli* , *P aeruginosa*, *S typhi*, *S aureus*, *C sporogenes*, *B subtilis*, *En faecalis*, *L rhamnosus* et *B cereus* sont des espèces pathogènes responsables le plus souvent des contaminations et des infections nosocomiales chez l'être humain.

Enfin nous proposons d'étudier d'autres activités biologiques (*in vivo* **ou** *in vitro*) de cette huile essentielle comme l'activité anti-inflammatoire, anticancéreuse, antidiabétique, antivirale, insecticide et larvicide.

Références bibliographiques

A

Abdelli W., (2017).Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle LMD : Microbiologie Appliquée : Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 104p

Abdelouahid D.A. et Bekhechi C., 2004 - Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles d'*Amoibes Verticillata* (Nounkha) : Rev, biologie et santé 4(2) :1-10.

ACTIA 1999 - Evaluation sensorielle, guide de bonnes pratiques.

Adesiyun A.A. et Oyindasola O.O., 1989 - Prevalence and antibiograms of *Salmonella* in slaughter cattle, slaughter areas and effluents in Zaria abattoir. J. Food Prot.52 : 232-235.

Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., Abu-Shanab F., 2006 - Antibacterial Effects of Nutritional Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*-Turk J Biol., Vol.30;p.p. 239-242.

AFNOR, 1987 - Huiles essentielles de Romarin (*Romarinus officinalis*). Norme française NFT 75-214.

AFNOR, 1992 - Association Française de normalisation, recueil des normes françaises :huiles essentielles, 3^{ème} Ed. AFNOR. Paris.

AFNOR, 2000 - Norme AFNOR XP V 09-500 – « Directives générales pour la réalisation d'épreuves hédoniques en laboratoire d'évaluation sensorielle ou en salle de conditions contrôlées impliquant des consommateurs » - Août 2000.

Aghel N., Yamini Y., Hadjiakhoondi A. et Mahdi Pourmortasavi S., 2004 –Super critical carbon dioxide extraction of *Menthapulegium* L. essential oil. Talanta. 62, p. 407-411.

Alami M., Barret R., Brion J. D., Enguehard-Gueiffier C., Foliot P., Gaudy C., Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M.,American Society for Testing and Materials, **1986** - Physical requirement guidelines for sensory evaluation laboratories. ASTM STP 913. Eggert, J.; Zook, K., eds. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, Pa. 54 pp.

Amerine M.A., Pangborn R.M. et Roessler E.B., 1965 - Principles of sensory evaluation of food. Académie Press, New York, N.Y. 602 pp.

Références bibliographiques

Anton R. et Lobstein A., 2005 – Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, 522 p.

Ashraf M. et Bhatti M.K., 1975 - Studies on the essential oils of the Pakistan species of the family Umbelliferae .I. *Trachyspermum Ammi* (L) .Spargue (Ajowan) seedoil. Pakistan.J.Sci.

B

Bakkali S., Averbeck S., Verbech D.A. et Idaomar M., 2008 - Biological effects of essential oils –A review .Food and chemical toxicology 46 :446-475.

Bakkali S., Averbeck S., Verbech D.A. et Idaomar M., 2008 - Biological effects of essential oils –A review .Food and chemical toxicology 46 :446-475.

Balbaa I., Huai S. H. et Haggag M. Y., 1973 - The volatile oil from herb and fruits of *Carum copticum* at different stages of growth. *Planta Medica*, 23: 301 - 307.

Bammi J., Khelifa R. et Remmal A., 1997 - Etudes de l'activité antivirale de quelques huiles essentielles. In Benjilali B ; Ettalilbi M ; Ismaili-Alaoui M. et Zrira. Proceedings of the Intern. Congr. Arom. Medicinal Plants et Essential Oils, Actes Edition, Rabat, Maroc, 502

F., 1976 - La médecine par les fleurs. Ed. Robert Laffont.

Barry N., 2011 – Art d'extraire les huiles essentielles : de parfum à faire soi-même. Ed. Tec.& doc. Lavoisier, Paris, p. 125- 128.

Baudoux D., 2001 – Aromathérapie, se soigner par les huiles essentielles 2ème Ed., Atlantica p.p. 25-26-34-35.

Baysal T. and Starmans D.A.J., 1997 - Extraction of Caraway Seed with Super critical Carbon dioxide. The sixth International Congress on Food Industry on "New Aspects on Food processing". 27 April-02 May, Kuşadası, Turkey, 420-432.

Baytop T. et Sultupinar N., 1998 - Characteristics of « *Nanhan* » cultivated in Anatolia and its volatile oil. *J. Fac. Pharm. Istanbul*, 22 :73-76.

Références bibliographiques

Bekhechi C., 2002 - Analyse des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* (Nûnkha) de la région de Tlemcen et l'étude de son pouvoir antimicrobien. Thèse de magister, Département de biologie, université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen. 126 P.

Bekhechi C., Atick-Bekkara F. et Abdelouahid D.E., 2008 - Composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Alger- phytothérapie ;Vol.6 ; p.p.153-159.

Belaiche P., 1979 - Traite de phytothérapie et d'aromathérapie, l'aromatogramme. Edmaloine S.A, Tome I, Paris.

Belyagoubi L., 2006 - Effet de quelque essence végétale sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Thèse de magister. Inédite. Univ. Tlemcen.

Benabid A., 2000 - Flore et écosystème du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité. Paris : Edition Ibis Press., 159-161.

Bendahou M., 2007 - Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de l'ouest Algérien. Thèse de Doctorat d'état, option Biochimie, université Abou Bakr Belkaid.

Beniston N.T. et Beniston W.S., 1984 - Fleurs D'Algérie. Entreprise Nationale du Livre Alger, Algérie, 359 pp.

BENDJABEUR S., 2019 - étude phytochimique et activités biologiques des huiles essentielles et des extraits éthanoliques de *Teucrium polium subsp capitatum*, *Thymus algeriensis* et *Ammoides verticillata* . Thèse de doctorat, école nationale supérieure agronomique - EL HARRACH – Alger. 225pp.

Benjlali B., Hammouni M. & Richard H., 1987a. - Chemical polymorphism of Moroccan thyme essential oils: compound characterization. Sci. Aliments, 7, 77-91.

Benjlali B., Hammouni M., M'Hamedi A. & Richard H., 1987b. - Essential oil composition of different Moroccan thyme varieties: principal component analysis. Sci. Aliments, 7, 275-299.

Benoit B., 2012 - Nomenclature de la flore de la France. Rev Tela Botanica BDNFF v 4.02.

Benyoucef F., 2020 - Extraction et caractérisation des huiles essentielles de six plantes provenant de l'ouest Algérien (*Salvia argentea*, *Ammoides verticillata*, *Satureja candidissima*, *Thymus fontanesii*, *Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis*): Effet de synergisme ou d'antagonisme sur

Références bibliographiques

l'activité antioxydante et antimicrobienne. Thèse de doctorat, Université Abou_Bekr Belkaid Tlemcen - .158pp.

C

Candan. F, M. Unlu, B. Tepe, D. Daferera, M. Polissiou, A. Sokmen, H.A. Akpulat, 2003- Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *chillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 87, 215-220.

Chaouch A., 2010- Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles et antioxydante des huiles essentielles de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytotherapie* 1-9

G

Gerondeau N., Gueiffier A., Lanotte P., Leconte-Astruc V., Mereghetti L., Peyrat J. F., Ratsimbazafy V., Tandé D., 2005 - Antibiotiques: pharmacologie et thérapeutique. Elsevier, pp 14.

M

Mebarki N., 2010- Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse –antimicrobienne. [En ligne]. Magister : Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques Boumerdes: Université M'hamed Bougara Boumerdes, 137p

Mendoza-Yepes M.J., L.E. Sanchez-Hidalgo, G. Maertens, F. Marin, 1997- Iniesta. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and other bacteria by a plant essential oil (DMC) en Spanish soft cheese. *Journal of Food Safety* 17, 47-55.

S

Schwartz. R, R. Davis, T.J, 1992 - Hilton. Effect of temporary cements on the bond strength of resin cement. *the American Journal of Dentistry.*, 5(3), 147-150.