

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques

Département de Biochimie et Microbiologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master II en sciences biologiques

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

Activité antistaphylococcique de *Cymbopogon schoenanthus*

Présenté par :

DJAROUN DIHIA

AKKACHE IMENE

Dirigé par : D^r Oussaid S.

Jury:

Houali K.

Professeur (UMMTO)

President

Hellal Z.

MCB (UMMTO)

Examinatrice

Sebbane H.

MCB (UMMTO)

Examinateur

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice Dr OUSSAID Saliha pour avoir accepté de nous encadrer, pour la confiance qu'elle nous a faite, pour les conseils qu'elle nous a accordés tout au long de la réalisation de ce modeste travail. Qu'elle trouve ici nos sentiments de gratitude et l'expression de notre vive reconnaissance.

Nous adressons nos remerciements à monsieur le professeur HOUALI Karim d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance.

Nous remercions également Mme HELLAL Zohra et Mr SEBANE Hilal d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions Monsieur Benhamou Karim, du haut-commissariat au développement de la Steppe d'avoir identifié la plante étudiée.

Nos Vifs remerciements pour les membres du laboratoire de recherche LABAB, et les membres des laboratoires pédagogiques (Microbiologie et analyses physicochimiques) pour leur disponibilité, leur sympathie et leur gentillesse, ainsi que tous les enseignants qui ont contribué à notre formation, qu'ils retrouvent à travers ce mémoire le fruit de leurs longues années de travail.

Nos sentiments de reconnaissances et nos remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Résumé

Ce présent travail a pour objectif la valorisation de la plante *Cymbopogon schoenanthus* par évaluation de ses activités antioxydante et antibactérienne. Les résultats portant sur l'optimisation indiquent que l'extrait éthanolique est le plus riche en polyphénols, alors que l'extrait méthanolique donne le meilleur rendement en flavonoïdes. L'huile essentielle a été aussi extraite par hydrodistillation et le rendement est de 0,8 %. Le meilleur pouvoir antioxydant a été enregistré avec l'extrait acétonique. Le méthanol 70% donne la plus faible valeur de IC50 avec le test scavenger du radical DPPH. Les résultats de l'activité indiquent que l'huile essentielle de *C. schoenanthus* exerce une forte activité vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* 25923 et *S. aureus* MU50 avec un diamètre de la zone d'inhibition de $39,33 \pm 4,496\text{mm}$ et $43,33 \pm 2,494\text{mm}$, respectivement. Ces résultats laissent suggérer l'utilisation des extraits de la plante étudiée comme alternative aux agents chimiques.

Mots clés : *Cymbopogon schoenanthus*, huile essentielle, polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne.

Abstract

This work aims to valorize *Cymbopogon schoenanthus* plant by evaluating its antioxidant and antibacterial activities. The optimization results indicates that the methanolic extract is the richest in polyphenols, while the ethanolic extract gives the best flavonoids yield. The essential oil was also extracted by hydrodistillation and the yield is 0,8 %. The best antioxidant power was recorded with the acetone extract. 70% methanol gives the lowest value of IC50 with the scavenger test of the DPPH radical. The activity results indicate that the essential oil of *C. schoenanthus* has a strong activity against *Staphylococcus aureus* 25923 *S. aureus* and MU50 with an inhibition diameter of $39,33 \pm 4,496\text{mm}$ and $43,33 \pm 2,494\text{mm}$, respectively. These results encourages the use of extracts from the studied plant as alternative to chemicals products.

Key words: *Cymbopogn schoenanthus*, essential oil, polyphenols, antioxidant activity, antibacterial activity.

Sommaire

Remerciements

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Chapitre I Synthèse bibliographiques

I.1. Généralité sur <i>Staphylococcus aureus</i>	3
I.1.1. Définition	3
I.1.2. Pouvoir pathogène de <i>Staphylococcus aureus</i>	4
I.1.3. Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques	5
I.2. Les métabolites secondaires	5
I.2.1. Les composés phénoliques	5
I.2.2. Classification des composés phénoliques	6
I.3. Les huiles essentielles	10
I.3.1. Répartition, localisation et fonction	11
I.3.2. Composition chimique des huiles essentielles	11
I.3.3. Propriété physi-cochimique des huiles essentielles	13
I.3.4. Technique d'extraction des huiles essentielles.....	14
I.4. <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	17
I.4.1. Taxonomie.....	17
I.4.2. Utilisation traditionnelle.....	18
I.4.3. Profil phytochimique de la plante	18
I.4.4. Travaux ultérieurs	19
I.5. Activité antioxydant	20
I.5.1. les radicaux libres.....	20
I.5.2. Le stress oxydant.....	20
I.5.3. Le pouvoir antioxydants des métabolites secondaires	21
I.6. Activité antibactérienne	22

I.6.1. Mécanismes d'action.....	22
I.6.2. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne.....	23

Chapitre II Matériels et Méthodes

II.1. Matériels végétale	25
II.2. Méthodes.....	25
II.2.1. Extraction des polyphénols	25
II.2.2. Effet de la combinaison des solvants : dosage des polyphénols.....	25
II.2.3. Dosage des flavonoïdes.....	26
II.2.4. Combinaison des solvants.....	27
II.2.5. Extraction de l'huile essentielle de <i>C.schoenanthus</i>	27
II.2.6. Détermination de l'activité antioxydant.....	28
II.2.7. Activité antibactérienne	30
II.2.8. Analyse statistique	31

Chapitre III Résultats et Discussion

III.1. Préparation de l'extrait phénolique	32
III.1.1. Etude préliminaire des conditions d'extraction.....	32
III.1.2. Teneur en polyphénols totaux.....	32
III.1.3. Teneur en flavonoïdes.....	33
III.1.4. Effet de combinaison des solvants.....	35
III.2. Extraction de l'huile essentielle de <i>C.schoenanthus</i>	37
III.3. Activité antioxydante.....	37
III.4. Activité antibactérienne.....	41
Conclusion et perspectives	45

Annexes

Références bibliographiques

Liste des abréviations

- **HE** : Huile essentielle
- **HECs** : Huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*
- **DPPH** : 2' 2-Di Phenyl-1-Picryl hydrazyl
- **Cs** : *Cymbopogon schoenanthus*
- **CMB** : Concentration Minimale Bactéricide
- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- **Mg EAG** : Milligramme équivalent d'Acide Gallique
- **Mg EQ** : Milligramme équivalent de Quercétine
- **IC50** : Concentration inhibitrice de 50% des radicaux
- **ATCC** : American Type Culture Collection
- **Ph. Eur** : Pharmacopée Européenne
- **MoO4²⁻** : Molybdate
- **Mo** : Molybdène

Listes des figures

- **Figure 01** : Structure de l'acide benzoïque..... 06
- **Figure 02** : Structure de l'acide hydroxycinnamique..... 07
- **Figure 03** : Structure de base des coumarines..... 07
- **Figure 04** : Structure de base des flavonoïdes..... 08
- **Figure 05** : Structure des tannins condensés09
- **Figure 06** : Structure chimique de quelques terpènes des huiles essentielles 12
- **Figure 07** : Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles..... 13
- **Figure 08** : Schéma de montage de la distillation..... 14
- **Figure 09** : Extraction des huiles essentielles par Hydrodiffusion... .. 15
- **Figure 10** : Méthode d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation..... 15
- **Figure 11** : Extraction assistée par micro-onde..... 16
- **Figure 12** : *Cymbopogon schoenanthus* 18
- **Figure 13** : Les principaux composants de la citronnelle..... 19
- **Figure 14** : Quelques composants de l'huile essentielle de la citronnelle..... 19
- **Figure 15** : Le stress oxydant..... 21
- **Figure 16** : Mécanisme d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne..... 23
- **Figure 17** : Protocole de dosage des polyphénols 26
- **Figure 18** : Appareil d'extraction de l'huile essentielle..... 28
- **Figure 19** : Structure chimique du radical DPPH et de sa forme réduite 29
- **Figure 20** : Effet des solvants sur la teneur en flavonoïdes..... 33
- **Figure 21** : Dosage des polyphénols des différentes combinaisons 35
- **Figure 22** : Combinaison des flavonoïdes..... 36
- **Figure 23** : Evaluation de l'activité antioxydant des différents extraits par le test de phosphomolybdate 38
- **Figure 24** : Activité antioxydante de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* 39
- **Figure 25** : Activité antiradicalaire des extraits phénoliques de *Cymbopogon schoenanthus* 40

- **Figure 26** : Antibiogramme de *HECs sur staphylococcus aureus ATCC2592*.....42
- **Figure 27** : Antibiogramme de *HECs sur staphylococcus aureus MU50*..... 42

Listes des tableaux

- **Tableau I** : La classification bactérienne de l'espèce *Staphylococcus aureus*03
- **Tableau II** : Les principales classes des composés phénoliques 10
- **Tableau III** : Teneur en polyphénols totaux en fonction des solvants 32
- **Tableau IV** : Rendement d'extraction et teneur en polyphénols de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*..... 37
- **Tableau V** : Valeurs des IC50 des extraits phénoliques de *Cymbopogon schoenanthus* 41
- **Tableau VI** : Diamètre des Zones d'inhibition obtenues avec l'HECs et la Lincomycine43
- **Tableau VII** : les valeurs des CMI et la CMB de l'HECs vis-à-vis *S. aureus* ATCC 25923 et *S. Aureus* MU50...44

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, les plantes jouaient un rôle important dans la vie de l'homme. Afin de subvenir au besoin de base; nourriture, abris, vêtements et besoins médicaux, toutes les civilisations connues ont eu références aux plantes qu'elles soient sauvages ou cultivées. Cette utilisation s'est évoluée progressivement avec l'évolution des besoins de l'homme. Au fil des siècles, il a réussi à distinguer les plantes toxiques des plantes comestibles Cette distinction lui a permis d'adapter ces plantes comme source de guérison et d'usage médicinal régulier.

Les plantes doivent leurs activités biologiques aux métabolites secondaires, notamment les huiles essentielles et les polyphénols. Les huiles essentielles représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans la pharmacologie vue leur effet spécifique sur d'autres organismes (Remmal et *al.*, 1993), en cosmétologie, comme base de fabrication de parfum et de produits dermatologiques. En agroalimentaire, elles servent pour rehausser le goût, parfumer et colorer les aliments et leur conservation. Les études menées sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ont révélé qu'elles exercent une activité antifongique (El Ajjouri et *al.*, 2008), antiviral et antibactérienne (Bouzouita et *al.*, 2008).

Les polyphénols, par leur capacité à piéger les radicaux libres, constituent de véritables molécules antioxydants. Cette propriété pourrait être exploitée pour remédier aux problèmes engendrés par le stress oxydatif tels peroxydation lipidique et les maladies cardiovasculaires. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes, surtout fongiques (Bruneton, 1999).

Le genre *Cymbopogon* est très répandu au Sahara Algérien. Ses particules florales servent à préparer des infusés fébrifuges. Ses racines sont odoriférantes et sont utilisées en parfumerie. Traditionnellement, la plante *Cymbopogon schoenanthus* est utilisée par les populations de plusieurs régions Sahariennes (Ouargla, Ghardaïa, Djelfa, etc.) pour traiter les maladies digestives, diminution urinaire et aérophagie (Hammiche et *al.*, 2006).

Quoique certains auteurs de pays méditerranéens ou autre ont entrepris des études sur cette plante (Koba et *al.*, 2004 ; Khadri et *al.*, 2010 ; Ben Othman et *al.*, 2013 ; Hashim et *al.*, 2016), en Algérie, du moins à notre connaissance, cette espèce végétale est très peu étudiée.

Le but de ce présent travail est d'évaluer les activités antioxydantes et antibactérienne de *C. schoenanthus*. Ce document est composé de deux parties. La première est une revue de littérature qui consiste en un état de l'art sur les huiles essentielles, les polyphénols, leurs structures et activités biologiques. La deuxième partie concerne le travail personnel effectué et qui porte sur l'extraction des huiles essentielles et des polyphénols de *C. schoenanthus* évaluation des activités antioxydante, antiradicalaire et antibactérienne vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus*.

Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur *Staphylococcus aureus*

I.1.1. Définition

Les staphylocoques ont été isolés pour la première fois en 1878, dans un pus d’abcès par Robert Koch en Allemagne. La dénomination de *Staphylococcus* a été introduite en 1883 par Ogston, son nom provient de l’association des termes grecs Staphylê : grappe de raisin et Kokkos: grain.

Le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) est l’espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. Elle produit de nombreuses toxines, ainsi responsable d’intoxications alimentaires, d’infections localisées suppurées et, dans certains cas extrêmes, d’infections potentiellement mortelles (patient immunodéprimé, prothèses cardiaques). *S. aureus* se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase et coagulase positives. Sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l’origine de son nom.

Ci-dessous, la classification bactérienne de l’espèce *Staphylococcus aureus*, selon Bergey’s manual of systematic bacteriology (Prescott, 2010) :

Tableau I : Classification bactérienne de l’espèce *Staphylococcus aureus* (Prescott, 2010).

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Staphylococcaceae
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

I.1.2. Pouvoir pathogène des *Staphylococcus aureus**

La maladie humaine d'origine alimentaire est une intoxication due à l'ingestion d'entérotoxines staphylococciques (SE), protéines thermorésistantes préformées dans l'aliment, dans lequel *S. aureus* (ou tout autre staphylocoque) producteur de SE a pu se développer et produire sa (ou ses) toxine(s).

Les staphylocoques sont des bactéries ubiquitaires présentes sur la peau, les muqueuses et la sphère rhinopharyngée chez les animaux à sang chaud (mammifères, oiseaux) et en particulier chez l'Homme.

Ces bactéries sont également isolées du sol, eau douce et eau de mer, poussière, air. Ainsi que l'environnement domestique de l'Homme (cuisine, réfrigérateur), dans le milieu hospitalier et des ateliers de préparation alimentaire et à partir de denrées alimentaires. La peau et les muqueuses de l'Homme et des animaux constituant l'habitat de *S. aureus*. La présence de ce micro-organisme dans l'environnement est vraisemblablement due à une contamination par l'Homme ou les animaux.

Les intoxications au SE décrites à ce jour sont d'origine alimentaire. La contamination de l'aliment est le plus souvent d'origine humaine qui peut avoir lieu par contact direct ou indirect (squames contaminées, gouttelettes issues des voies respiratoires contenant le micro-organisme). La contamination des aliments peut aussi être d'origine animale, la plus fréquente étant la contamination du lait matière première à partir des mammites. *S. aureus* peut aussi causer des infections, parfois mortelles (panaris, etc.).

Quatre conditions sont requises pour que survienne la contamination d'un aliment par *S. aureus* et ses entérotoxines :

- Une source de staphylocoques producteurs d'entérotoxines (matière première, porteur sain ou malade, etc.)
- Un moyen de transmission à l'aliment (outil de découpe souillé, porteur sain ou malade, etc.)
- Un aliment présentant des caractéristiques physico-chimiques favorables à la croissance de *S. aureus* et à la toxinogénèse (cf. les aliments les plus « à risque »)

* <https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2011sa0117Fi.pdf>

➤ Une température favorable pendant le temps nécessaire à une multiplication bactérienne importante et à la toxinogénèse.

I.1.3. Résistance de *S. aureus* aux antibiotiques

L'introduction de la méticilline, dérivé semi-synthétique de la pénicilline, pour le traitement des infections staphylococciques était l'alternative thérapeutique espérée. Mais à peine un an plus tard, les premières souches hospitalières de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) sont apparues dans un hôpital de Grande-Bretagne (Oliveira et al., 1961). Le principal mécanisme de résistance à la méticilline est lié à la modification de cible des β -lactamines. En effet, *S. aureus* produit naturellement 4 PLP, les SARM synthétisent une 5^{ème} : la PLP2a (ou 2'), ayant une faible affinité pour les β -lactamines. (Daurel et Leclercq, 2008 ; Ghernaout, 2013)

La résistance à la méticilline est croisée entre les différentes β -Lactamines : il s'agit d'une résistance à la famille entière, seule une molécule reste active : la ceftaroline.

La résistance acquise des staphylocoques aux aminosides est surtout due à la production d'enzymes inactivatrices (Daurel et Leclercq, 2008). Les aminosides inhibent la synthèse protéique en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien. Les études ont aussi révélé la résistance des souches de *Staphylococcus* aux macrolides, lincosamides, streptogramines B, fluoroquinolones, tétracyclines (Jehl et al., 2012) et aux chloramphénicol.

I.2. Les Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes. Ils permettent aux plantes de mieux s'adapter à leur environnement et jouent des rôles divers tel que la défense ou la signalisation. Ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Lutge et al., 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007).

I.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent le groupe le plus répandu et le plus largement distribué chez les végétaux. Ils sont représentés par plus de 8000 structures connues (Lugasi et al., 2003) et sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (Boizot et Charpentier., 2006).

Leurs structures sont caractérisées par la présence d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction (éther, ester, hétéroside...etc.) (Bruneton, 1999 ; Lugasi *et al.*, 2003).

I.2.2. Classification des composés phénoliques

La classification de ces composés est basée sur la complexité du squelette de base, le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...), et le type de liaisons possibles avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006 ; Chira *et al.*, 2008).

I.2.2.1. Les composés phénoliques simples

Ils présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C6 aux flavonoïdes en C15 et à des molécules proches (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006 ; Chira *et al.*, 2008).

a. Les acides phénoliques

Ils possèdent une fonction acide en plus de la fonction phénol. Ce sont des substances phytochimiques incolores (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

b. Les acides hydrobenzoïques Les acides hydroxybenzoïques sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6-C1. Ils sont particulièrement bien représentés chez les Gymnospermes et les angiospermes d'où ils sont souvent libérés après hydrolyse alcaline du matériel végétal, en particulier de la lignine et de certains tannins (Herrmann, 1989).

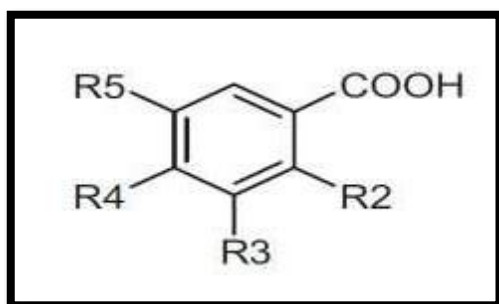


Figure 01 : Structure de l'acide benzoïque (Chira *et al.*, 2008)

c. Les acides hydroxycinnamiques

Les acides hydroxycinnamiques dont la structure de base est (C6-C3) est dérivée de celle de l'acide cinnamique. Les molécules les plus fréquentes sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide sinapique.

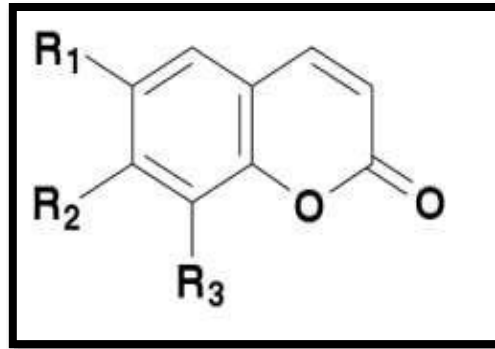


Figure 02 : structure de l'acide hydroxycinnamique (Laguerre *et al.*, 2007)

d. Les coumarines

Les coumarines sont des composés aromatiques avec une structure de base (C6-C3) dérivant des acides ortho hydrocinnamiques (Collin et Crouzet., 2011), Les coumarines participent dans diverses activités biologiques : activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes, hypotensives. Ils sont très utilisés en parfumerie et dans les produits cosmétiques (Gonzalez *et al.*, 1997)

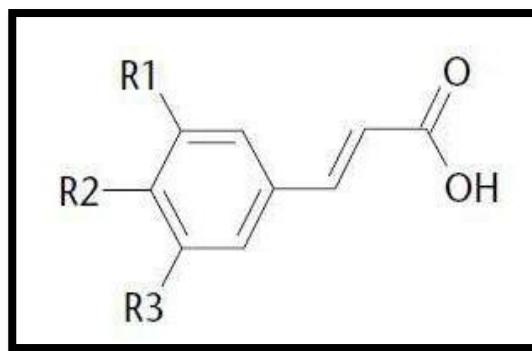


Figure 03 : Structure de base des coumarines (Bruneton, 2009)

e. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de polyphénols (Seyoum et *al.*, 2006). Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Bruneton, 1999 ; Ghestem et *al.*, 2001).

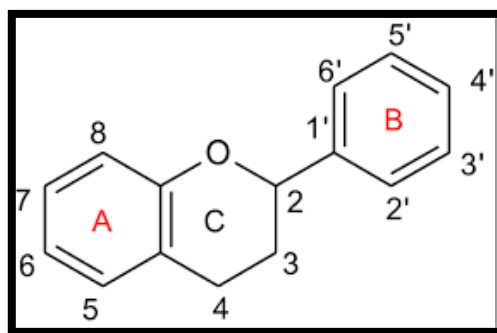


Figure 04 : Structure de base des flavonoïdes (Lamaison et Carnet, 1990)

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiols, flavanols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanins (Effendi et *al.*, 2008).

Les structures des flavonoïdes sont des dérivés benzo-γ-pyrane. Leur structure de base est celle d'un diphenyle propane à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), constitué de deux noyaux aromatiques que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné, désigné par la lettre C. Les flavonoïdes sont substitués sur différentes positions et peuvent être liés à des sucres pour former des hétérosides.

I.2.2.2. Les composés phénoliques complexes

Ces composés résultent de la condensation de certaines formes simples (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). Les formes condensées sont particulièrement difficiles à étudier et dans la plupart des cas il faut les dégrader chimiquement ou enzymatiquement avant de pouvoir les analyser. Il y a deux grands groupes de formes phénoliques condensées : les tannins et les lignines.

a. Les tannins

Il existe deux grands groupes de tannins différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tannins hydrolysables et les tannins condensés (Haslam, 1989 ; Santos-Buelga et Scalbert, 2000).

➤ Les tannins hydrolysables

Ils sont d'abord caractérisés par leur aptitude à être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique soit un dimère de ce même acide, acide ellagique (Macheix *et al.*, 2005).

Ces composés sont présents dans les plantes sous formes de gallotannins et d'ellagitannins (Smith *et al.*, 2005).

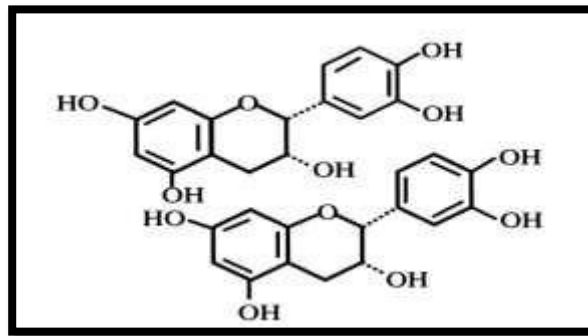


Figure 05 : Structure de tanins condensés (Cowan, 1999)

➤ Les tannins condensés

Les tannins condensés sont des oligomères ou des polymères de flavanes-3-ol (éventuellement de flavane-3,4-diols) dérivés de la (+) - catéchine ou de ses nombreux isomères. Ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader. Ainsi, par traitement acide à chaud, ils se transforment en pigments rouges et pour cette raison, les formes dimères et oligomères sont dénommées « proanthocyanidines » (Macheix *et al.*, 2005)

b. Les lignines

Les lignines sont caractérisées par leur importance quantitative et biologique et de leur signification dans l'évolution des plantes. Elles doivent être logiquement rattachées aux composés phénoliques en raison de leur structure chimique et des voies de leur biosynthèse qui sont directement liées à celle des phénylpropanoïdes (Macheix *et al.*, 2005).

Le tableau II présentent les différentes classes de polyphénols et leurs origines

Tableau II : les principales classes des composés phénoliques (Harborne, 1980 ; Macheix et *al.*,1990)

Squelette carbonée	Classe	exemple	Origine (exemple)
C6	Phénols simples	catéchol	/
C6-C1	Acides hydroxybenzoïque	<i>p</i> -Hydrobenzoïque	Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxycinnamique	Acide caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	coumarines	Scopolétine	citrus
C6-C3-C6	flavonoïdes	catéchine	Fruits, légumes, fleurs
(C6-C3) _n	lignine	/	Bois, noyaux de fruits
(C15) _n	Tannins	/	Raisin rouge, kaki

I.3. Les huiles essentielles

Le terme « huile essentielle » (HE) a été inventé au 16^{ème} siècle par le médecin Suisse *Parascelsus Von Hohenheim* pour désigner le composé actif d'un remède naturel (Burt, 2004).

Evans (1998) définit les HEs comme étant des substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties d'arbres, de plantes et d'épices. Elles sont volatiles, odorantes et sensibles à l'effet de la chaleur

Selon la pharmacopée européenne (Ph. Eur.), une huile essentielle est un « *produit odorant, généralement de composition complexe, obtenue à partir d'une matière végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage* ».

I.3.1. Répartition, localisation et fonction

Les HES n'existent presque que chez les végétaux supérieurs et sont réparties dans de nombreuses familles (Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Poaceae, Rutaceae, etc.) (Bruneton, 2009). Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux, à savoir les fleurs [oranger, rose, lavande ; le bouton floral (girofle)], les feuilles (eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin), les racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore), les fruits (anis, fenouil, badiane), les graines (noix de muscade, coriandre), le bois et les écorces (cannelle, santal, bois de rose.) (Bruneton, 1993 ; Anton et Lobstein, 2005).

Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule. Elles sont alors soit stockées dans une cellule transformée en cellule à essence, ou dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs (Bruneton, 2009).

Le rôle exact des HES dans le processus de vie de la plante reste inconnu. Cependant, ils ont un rôle écologique bien établi dans le domaine des interactions végétales (agents allélopathiques) par inhibition chimique de la germination que dans les interactions végétales animales comme la protection contre les prédateurs tel que les insectes et les champignons et attraction des pollinisateurs (Bruneton, 1999). Ainsi que la protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores (Porter, 2001 ; Guignard *et al.*, 2004).

I.3.2. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de molécules, souvent volatiles, appartenant au groupe chimique des terpénoïdes qui se compose principalement de monoterpènes et de sesquiterpènes. Ainsi que des composés aromatiques, dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquents (Bruneton, 2009).

I.3.2.1. Composés terpéniques

Ils sont représentés principalement par les terpènes les plus volatiles : les monoterpènes (en C10) et les sesquiterpènes (en C15), qui sont classés selon leur nombre de cycle (composés acycliques, mono et bicycliques) et selon la nature des fonctions qu'ils portent (éther-oxyde) (figure06) (Bekkali *et al.*, 2008).

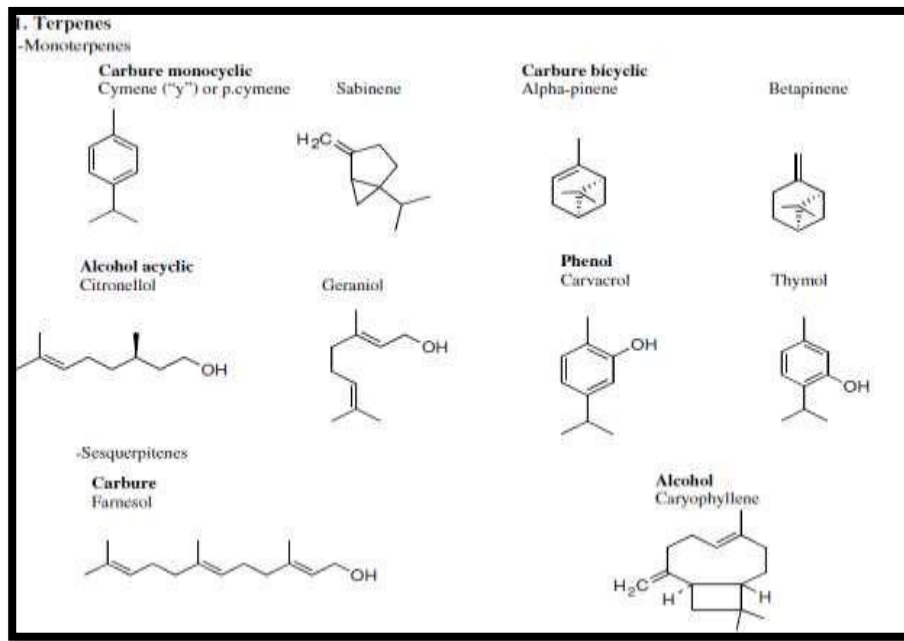


Figure 06 : Structure chimique de quelques terpènes des huiles essentielles (Bekkali *et al.*, 2008).

a. Les monoterpènes

Les monoterpènes contiennent plus de 900 composés connus, ils se trouvent principalement dans 3 catégories structurales :

- Les monoterpènes linéaires (acycliques) : (myrcène, ocimènes)
- Les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) : (α - et γ -terpinène).
- Avec deux cycles (bicycliques) : (pinènes, camphène, sabinène).

Ils sont caractérisés par différentes fonctions : alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols.

b. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes peuvent être également comme les monoterpènes :

- Acycliques (farnésol),
- Monocycliques (humulène, α -zingibèrene)
- Polycycliques (matricine, artéannuine, β -artémisinine).

Ils renferment aussi des fonctions comme l'alcools (farnésol, carotol, β -santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, cis-longipinane-2.7-dione, β -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) (Bruneton, 1999 ; Laouer, 2004).

I.3.2.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont souvent des allyles, des propénylphénols et parfois des aldéhydes (Bekkali et *al.*, 2008). La figure 07 représente les principaux composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

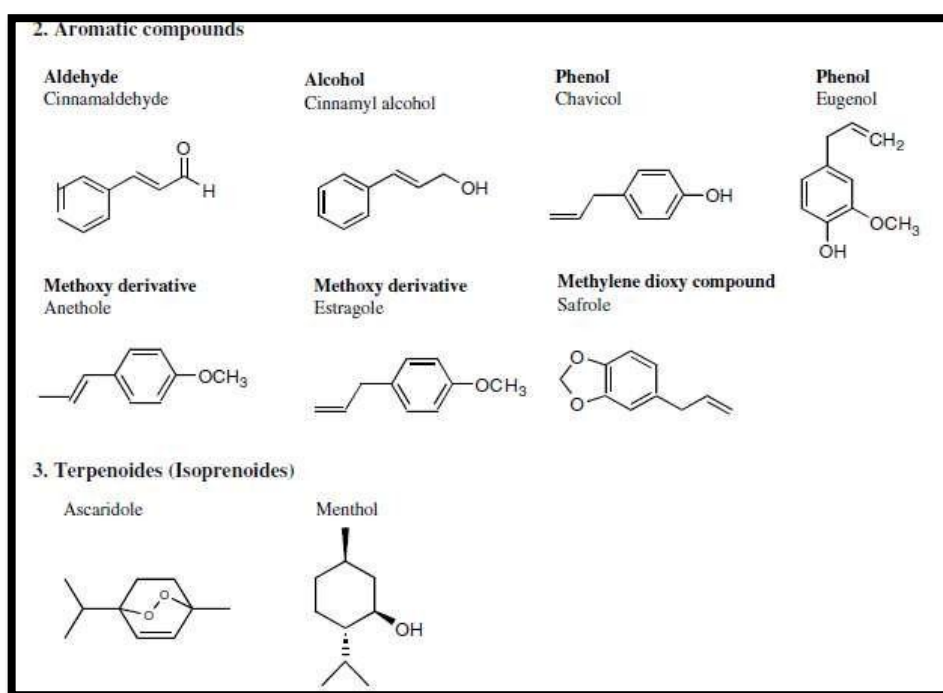


Figure 07 : structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles (Bekkali et *al.*, 2008)

I.3.3. Propriétés physico-chimiques

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques : Elles sont liquides à température ambiante ; volatiles et entraînaibles à la vapeur d'eau. Elles sont habituellement incolores ou jaunes pâles lorsqu'elles viennent d'être préparées et leur densité est inférieure à 1.

Les huiles essentielles sont insolubles dans l'eau, mais solubles dans la plupart des solvants organiques et les huiles végétales. Elles sont sensibles à l'oxydation et donc de conservation limitée (Catier et Roux, 2007).

I.3.4. Techniques d'extraction des huiles essentielles

La sensibilité de certains constituants des huiles essentielles et la variété des matières premières donnent différentes méthodes d'extraction :

I.3.4.1. La distillation et entraînement à la vapeur d'eau

Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Une vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille, à une distance du fond de l'alambic, remplie d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'huile essentielle est vaporisée pour former un mélange « eau + HE », ce mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur. Le produit de distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'HE et l'eau condensée qui sont séparées par décantation pour donner l'huile essentielle (Belaiche, 1979 ; Garnero, 1991 ; Bendjilali, 2004).

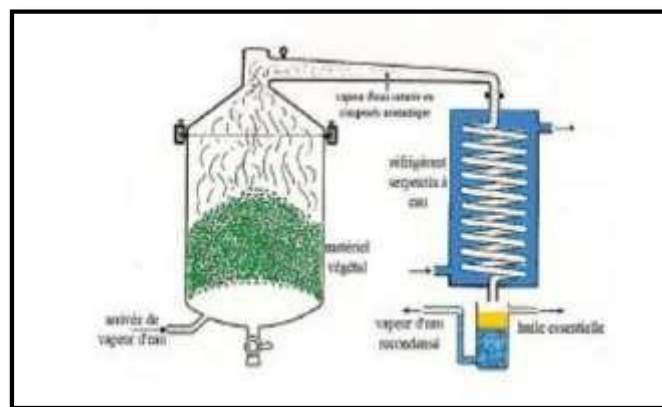


Figure 08 : Schéma de montage de la distillation (Anonyme)

I.3.4.2. Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0.02-0.15 bar) à travers la masse végétale du haut vers le bas, en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur. L'HE dans cette méthode a une appellation spéciale : « essence de percolation ». L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide, elle permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation. Elle est moins dommageable pour les composés volatils. (Franchomme et *al.*, 1990).

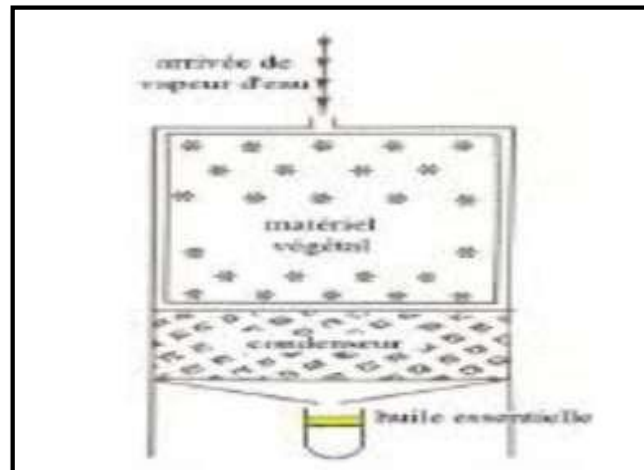


Figure 09 : extraction des huiles essentielles avec hydrodiffusion (Anonyme)

I.3.4.3. Hydrodistillation ou distillation à l'eau

C'est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Elle consiste à immerger directement le matériel végétal dans un bain d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Bruneton, 1999). L'HE forme avec la vapeur d'eau un mélange qui est séparé ensuite par décantation. Cependant, la température inconnue, la modification de couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle posent un majeur problème (Chalchat, 1997).

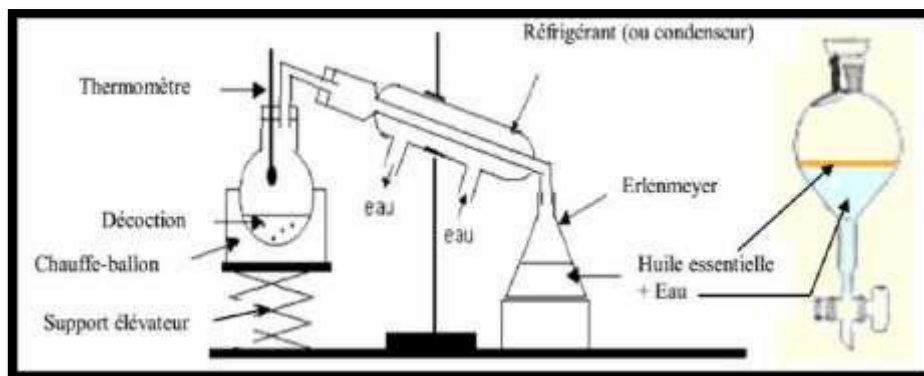


Figure 10 : Méthode d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (Anonyme)

I.3.4.4. Extraction par les solvants organiques volatils

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut pas extraire par distillation. Dans ce procédé, un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil, grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques dont l'évaporation laisse un résidu très coloré et très aromatique concrète qui pourra être par la suite brassé avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales (Belaiche, 1979 ; Duraffourd *et al.*, 1990).

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement (Lagunez Rivera, 2006).

I.3.4.5. L'extraction par micro-ondes

Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). L'extraction par micro-ondes a un grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (France Ida, 1996).

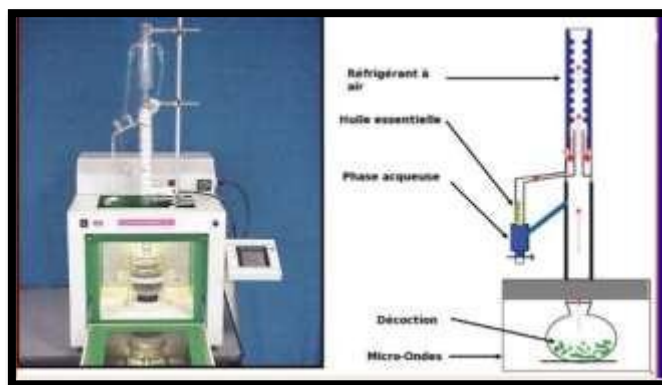


Figure 11 : Extraction assistée par micro-onde (Anonyme)

I.3.4.6. Extraction par ultrasons

L'extraction par les ultrasons est une technique de choix, pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction, d'augmenter le rendement en extrait et de faciliter l'extraction de molécules thermosensibles (Lagunez-Rivera, 2006).

I.4. *Cymbopogon schoenanthus*

Le genre *Cymbopogon* regroupe 140 espèces (Khanuja *et al.*, 2004), avec une grande différence morphologique et chemotypique (Nathet *al.*, 2002).

I.4.1. Taxonomie

Selon Sahki et Sahki Boutamine (2004), la systématique de la plante est la suivante :

- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Sous embranchement** : Angiosperme
- **Classe** : Monocotylédones
- **Ordre** : Poales
- **Famille** : Poaceae
- **Genre** : *Cymbopogon*
- **Espèce** : *Cymbopogon schoenanthus*(L)

➤ **Nomenclature**

- **Noms arabe** : Lammad, Sounboul el Arabe
- **Nom français** : jonc aromatique, citronnelle (Sahki et Sahki Boutamine, 2004).

C. schoenanthus une plante en touffes épaisses, serrée dépassant 1 mètre de hauteur. Les feuilles sont étroites, souples puis coriaces et s'enroulant sur elles même (Sahki et Sahki Boutamine, 2004). Les tiges florales sont dressées et nombreuses. Les inflorescences sont en forme de panicules aux épis plus ou moins teintés de violet semblent voltiger au-dessus de la touffe. En dehors des périodes humides, elle se présente sous forme de paille jaunâtre. Toute la plante, mais surtout la partie inférieure, dégage une odeur puissante et très agréable

en se desséchant (Benchalah *et al.*,2004). La plante colonise les sols caillouteux, les lits d'oueds et les ravins, et une période de végétation en avril-mai.



Figure 12 : *Cymbopogon schoenanthus* (chehma, 2002)

I.4.2. Utilisation traditionnelle

C. schoenanthus est très réputée pour ses vertus médicinales. Ses gaines foliaires et sont utilisées en infusion comme diurétique et pour donner de l'appétit (Benchalah *et al.*, 2000 ; Sahki et Sahki Boutamine, 2004). En décoction, elle sert pour soigner les troubles intestinaux, soulager les maux de reins et les intoxications alimentaires (Ketoh *et al.*,2006).

I.4.3. Profil phytochimique de la plante

L'huile essentielle de citronnelle contient des monoterpènes. Elle contient également des aldéhydes monoterpéniques comme le citral, le gèranial et le néral. Le gèranial a une très forte odeur de citron tandis que le néral a une odeur plus douce. Le myrcène est classé comme un hydrocarbure et plus précisément comme un monoterpène. Sa formule brute est C₁₀H₁₆.

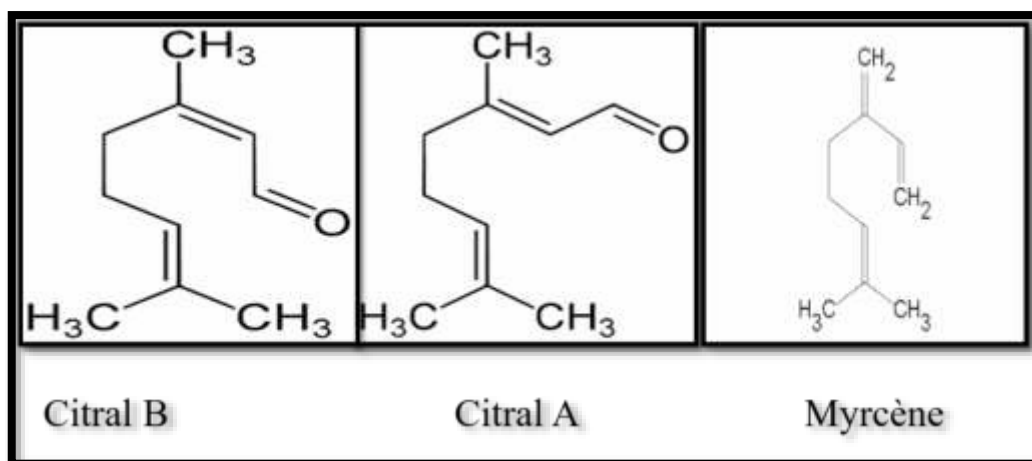


Figure 13 : les principaux composants de la citronnelle (De-Oliveira et al., 1997)

Le géranol et le citronellol, de la famille des alcools terpéniques, sont des composants que l'on obtient par la distillation des essences de citronnelle. Les essences de citronnelle comportent entre 20% et 40% de géranol et entre 10% et 20% de citronellol

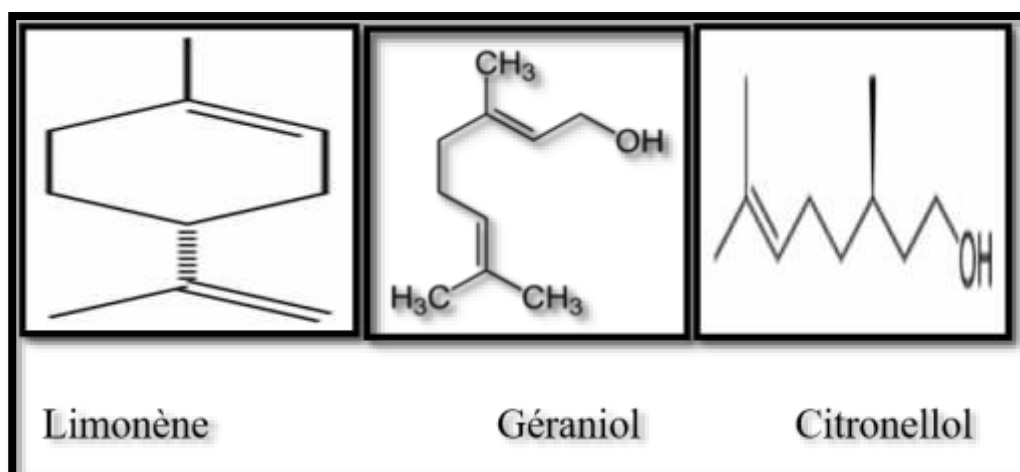


Figure 14 : Quelques composants de l'huile essentielle de la citronnelle. (De-Oliveira et al., 1997)

I.4.4. Travaux antérieurs

Des recherches sont menées sur les vertus hypoglycémiantes des feuilles de citronnelle, qui ont une propriété eupeptique. Même s'il n'est pas encore question de traitement, l'utilité de la citronnelle, pour les personnes diabétiques, semble être démontrée. Des travaux portent également sur les effets du citral, principal composant de l'huile essentielle de citronnelle, pour empêcher les cellules cancéreuses de provoquer des morts

cellulaires. Des recherches *in vitro* ont été effectuées dans ce sens, mais leurs résultats n'ont pas été vérifiés sur des espèces animales ou sur l'homme. Des résultats plus prometteurs ont d'ores et déjà été obtenus en matière de prévention de certains cancers, particulièrement du côlon, du tube digestif, du poumon, du foie et de la peau.*

I.5. Activité antioxydante

I.5.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des particules très petites, très actives et Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons manquant, ce qui le rend extrêmement réactive et pouvant causer beaucoup de dégâts. (Vansant, 2004). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé « *espèces réactives de l'oxygène* » (Favier, 2003).

Les dérivés réactifs de l'oxygène incluent les radicaux libres de l'oxygène proprement dit dont les principaux sont (l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), le radical peroxyde (ROO^{\bullet}) et l'oxygène singulet ($O^{\bullet 2}$), mais aussi certains ~~dérivé~~ oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxynitrite ($ONOO^-$) (Mata et *al.*, 2007).

I.5.2. Le stress oxydant

À doses raisonnables les radicaux libres sont utiles pour l'organisme et la balance antioxydants/ pro-oxydants est en équilibre.

La surcharge des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides et aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés lors de l'oxydation des lipides (Favier, 2003).

En cas de déficit en antioxydants ou surproduction de radicaux, l'excès de ces radicaux provoque le stress oxydatif (Favier, 2003).

Le stress oxydant, est la principale cause de plusieurs maladies humaines chroniques : cancer, maladies cardiovasculaires et neurodégénérative, vieillissement, diabète, rhumatismes, inflammations gastro-intestinale (Uttara, 2009).

* <http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/citronnelle.htm>

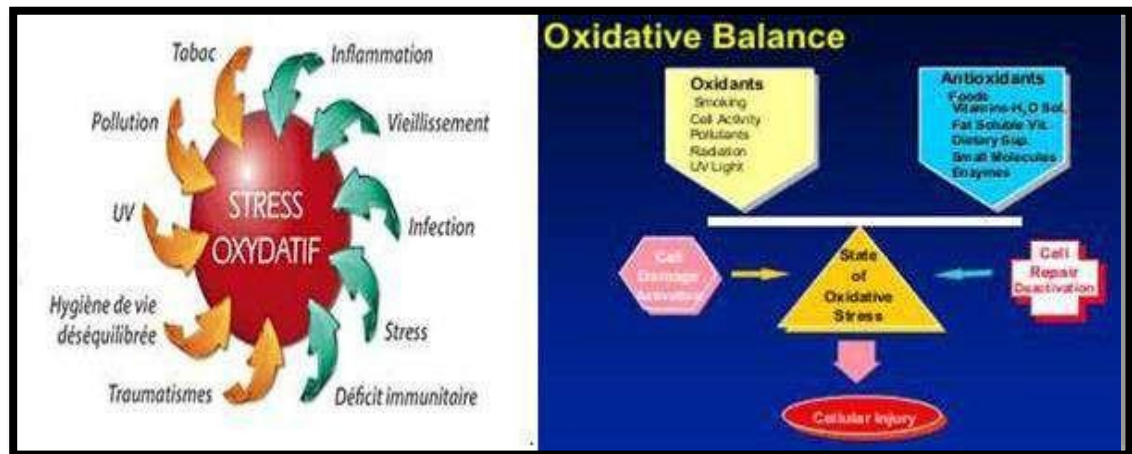


Figure 15 : le stress oxydant (Christophe *et al.*, 2011)

I.5.3. Le pouvoir antioxydants des métabolites secondaires

Les polyphénols sont capables de piéger les radicaux libres et empêcher le déclenchement des chaînes radicalaires en décomposant les hydroperoxydes, inhiber certaines enzymes comme exemple le xanthine oxydase et chélater les catalyseurs d'oxydation (cuivre, fer...) (Yang *et al.*, 2007).

Les antioxydants sont des molécules ou des microconstituants capables d'interférer avec les radicaux libres (Rezaire, 2012). Ils peuvent empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant eux même plus rapidement que celui-ci. À cause de leur structure stable les antioxydants peuvent carrément arrêter la réaction (Boyd *et al.*, 2003).

Selon (Rezaire, 2012), un bon antioxydant se devra de respecter quelques critères :

- Être capable de piéger directement et spécifiquement les radicaux libres.
- Chélater des ions de métaux de transition (Fe^{2+} , Cu^{+}) d'importance biologique capables de promouvoir la production de radicaux libres par la réaction de Fenton.
- Interagir avec d'autres antioxydants, et, dans la mesure du possible, les régénérer.
- Avoir un effet positif sur l'expression génique.
- Être rapidement absorbé.
- Avoir une concentration qualifiée de « physiologique » dans les tissus et les fluides biologiques.
- Être efficace en milieu aqueux et/ou dans le milieu membranaire.

L'activité antioxydante des polyphénols présents dans la plante est liée à leur structure chimique, qui dépend essentiellement du nombre et de la position de groupes hydroxyles dans la molécule (Han *et al.*, 2007).

Il est rapporté que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que quelques antioxydants synthétiques (Hussain *et al.*, 2008, 2010). L'activité antioxydant des HEs est associée à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques : le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol/nérol, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes : α -terpinène et γ -terpinène (Edris, 2007).

I.6. Activité antibactérienne

Les constituants des extraits de plantes sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons. Les polyphénols sont connus par leur toxicité vis-à-vis d'une large gamme de microorganismes (Cowan, 1999 ; Basli *et al.*, 2012). Chez les végétaux, une contamination par des microorganismes pathogènes entraîne une forte augmentation des teneurs en composés phénoliques, ce qui correspond à la mise en place de mécanisme de défense de la plante (Macheix *et al.*, 2006 ; Meziani *et al.*, 2015).

I.6.1. Mécanismes d'action

Les métabolites secondaires exercent deux effets différents sur les microorganismes ; soit un effet bactéricide (activité létale) ou un effet bactériostatique qui est une inhibition de la croissance. Toutefois, l'effet bactériostatique est plus répandu (Zekri, 2017)

Les composants bioactifs des HEs ont des actions antibactériennes spécifiques. Ils agissent en particulier au niveau de la membrane et du cytoplasme, et dans certains cas, modifient complètement la morphologie des cellules (figure 16) (Bouyahya *et al.*, 2017).

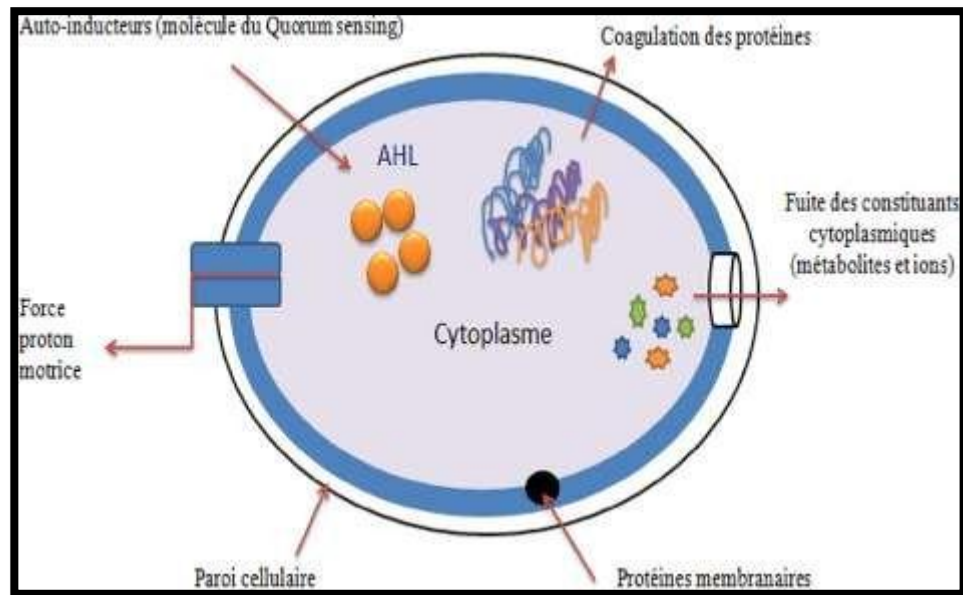


Figure 16 : Mécanisme d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne
Bouyahya et al, (2017)

I.6.2. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne

Il existe différentes méthodes pour déterminer l'activité antibactérienne des HEs :

a. Méthode de micro-atmosphère

Cette méthode consiste à déposer un disque de papier filtre imprégné d'HE au centre du couvercle d'une boîte de pétri, sans que l'HE entre en contact avec la géloseensemencée par les micro-organismes. La boîte est hermétiquement fermée. Les substances volatiles s'évaporent dans la boîte et les cellules sensibles de l'inoculum s'inhibent. La lecture du test repose sur la croissance ou non de l'inoculum (Menaceur, 2015)

Toutefois cette méthode ne mesure pas la vraie activité antibactérienne des HEs, mais uniquement l'activité des composés volatiles à la température d'incubation. (Bouchiki,1994).

b. Méthode de diffusion (Aromatogramme)

Cette méthode consiste à déposer des disques de papier imprégnés de produit à tester sur la surface d'une gélose uniformémentensemencé. L'effet antibactérien se traduit par une zone circulaire indemne de colonie autour des disques, dite zone d'inhibition et dont le diamètre est proportionnel à la sensibilité de la souche testée (Fauchère et Avril, 2002).

c. Méthode des puits

Elle consiste à découper un trou circulaire dans la géloseensemencée de la suspension bactérienne et y versé l'extrait d'une concentration connue. L'extrait diffuse crée une zone d'inhibition circulaire à la surface de la gélose (Dorman et Deans, 2000)

d. Méthode de dilution (CMI et CMB)

Cette technique consiste à inoculer une gamme de concentration décroissante de l'extrait à tester. Après incubation l'observation des dilutions permet de déterminer la CMI. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est dite la plus faible concentration qui inhibe la croissance de l'inoculum bactérien (Perry et *al.*, 2004). Les résultats de la CMI permettront de définir la concentration minimale bactéricide (CMB) qui est la plus faible concentration en extrait qui peut tuer 99,9% de l'inoculum bactérien initial (Menaceur, 2015).

Matériel et méthode

II.1. Matériel végétal**II.1.1. Préparation du matériel végétal**

La citronnelle (*Cymbopogon schoenanthus*) a été récoltée dans la wilaya de Djelfa, au mois de Mars 2019. L'identification de la plante a été faite par Monsieur Benhamou Karim, du haut-commissariat au développement de la Steppe.

La plante a été séchée à l'air libre et à l'abri de l'humidité. Les feuilles sèches ont été utilisées pour l'extraction de l'huile essentielle. Les racines ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre est obtenue à l'aide d'un tamis ayant un diamètre inférieur à 200µm est conservé dans un sac en papier jusqu'à son utilisation.

II.2. Méthodes**II.2.1. Extraction des polyphénols**

Les composés phénoliques sont été récupérés par macération. Afin d'avoir un extrait le plus riche possible, l'extraction a été optimisée comme suit :

Effet de la teneur en eau : trois solvants organiques (acétone, méthanol et éthanol) ainsi que leurs mélanges avec l'eau à différents rapports sont utilisés (20%, 50%, 70%, 98%). 0.5 g de la poudre sont macérées dans 25mL de solvant extracteur pendant 3h, selon le protocole de Oussaid et *al.*, 2017 (avec quelques modifications). Après filtration, les filtras sont centrifugés à 9000 tours/min pendant 30 minutes.

II.2.2. Effet de la combinaison des solvants : Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols est réalisé par la méthode du Folin-Ciocalteu (Figure 17). Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans le milieu réactionnel (Ribéreau-Gayon et Gautheret 1968). Le protocole expérimental utilisé est celui décrit par (Georgea *et al.*, 2005).

L'absorbance de la couleur bleue obtenue est mesurée au spectrophotomètre à 760 nm contre un blanc. Les résultats obtenus sont rapportés à une courbe d'étalonnage préalablement réalisée avec un polyphénol témoin qu'est l'acide gallique (annexe I).

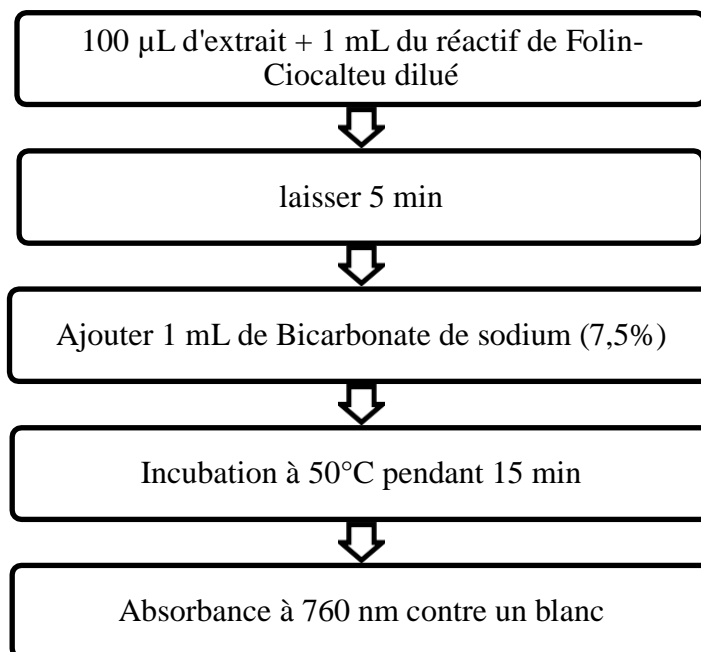


Figure 17 : Protocole de dosage des polyphénols (Georgea *et al.*, 2005).

II.2.3. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes sont déterminées par la méthode de chlorure d'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5 susceptible de donner en présence de chlorure d'aluminium un complexe jaunâtre, par chélation de l'ion Al^{+3} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribéreau-Gayon et Gautheret 1968).

Le protocole utilisé est celui de Bahorun *et al.*, (1996) : 1,5 mL d'extrait sont mélangé avec le même volume d' $AlCl_3$ (2%), après incubation à température ambiante pendant 10 min, les absorbances sont mesurées à 415 nm. La quercétine est utilisée comme standard et la courbe d'étalonnage est présentée dans l'annexe II.

II.2.4. Combinaison des solvants

Une fois que les meilleurs rapports des trois solvants organiques utilisés sont déterminés (Acétone 70%, Ethanol 50%, Méthanol 70%), une extraction solide/liquide est réalisée en combinant les trois différents solvants. Les combinaisons sont :

- 1 : méthanol 70%.
- 2 : éthanol 50%.
- 3 : acétone 70%.
- 4 : $\frac{1}{2}$ ((méthanol ; acétone)70%)
- 5 : $\frac{1}{2}$ (méthanol 70%, éthanol 50%)
- 6 : $\frac{1}{2}$ (acétone 70%, éthanol 50%)
- 7, 11, 12 : $\frac{1}{3}$ (méthanol 70%, acétone 70%, éthanol 50%)
- 8 : $\frac{4}{6}$ (méthanol 70%) $\frac{1}{6}$ (acétone 70%, éthanol 50%)
- 9 : $\frac{4}{6}$ (acétone 70%) $\frac{1}{6}$ (méthanol 70%, éthanol 50%)
- 10 : $\frac{4}{6}$ (éthanol 50%) $\frac{1}{6}$ ((méthanol, acétone) 70%).

II.2.5. Extraction de l'huile essentielle (HEc)

L'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* est extraite par hydrodistillation (fig01). Les feuilles sèches sont mises dans un ballon à fond rond, additionnées d'une quantité d'eau distillée. L'HEc est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le réfrigérant. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'HE mince à la surface qui sera par la suite séparée à l'aide d'une ampoule à décanter. L'HEc obtenue est gardée au réfrigérateur à l'obscurité jusqu'à son utilisation.



Figure 18 : Appareil d'extraction de l'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle s'exprime par le rapport entre la quantité d'huile extraite et la quantité de matière végétale utilisée pour l'extraction. Il est calculé de la manière suivante :

$$R (\%) = \frac{\text{masse de l'huile essentielle obtenu (MHE)}}{\text{masse de la matière végétale utilisée (MVE)}} \times 100$$

II.2.6. Détermination de l'activité anti-oxydante

II.2.6.1. Activité antioxydante totale

Le test de molybdate d'ammonium est une méthode quantitative pour évaluer la capacité antioxydant. Il est basé sur la réduction du Mo^{+6} en Mo^{+5} avec la formation d'un complexe phosphate- Mo^{+5} de couleur verte en milieu acide (Bougatef et *al.*, 2009).

Une dilution décimale a été réalisée pour les extraits phénoliques. Selon les recommandations de Prieto et *al.*, (1999) 3 ml de la solution de molybdate (La solution a été préparée en mélangeant 16,31 ml d'Acide sulfurique, 494 mg de molybdate d'ammonium, 498 mg de sulfate de sodium dans 100 ml d'eau distillé) sont ajoutés 300 μ l d'extrait phénolique à différentes concentrations. Après incubation à 95°C pendant 90 min, une lecture au spectrophotomètre à 595 nm contre un blanc est réalisée. L'acide ascorbique est utilisé comme standard.

II.2.6.2. Activité anti-radicalaire (DPPH)

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH[•]) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH[•] est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydant, il y'a formation de la forme réduite (Figure 19). Ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm (Brand-Williams, 1995). Plus la perte de couleur est rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort.

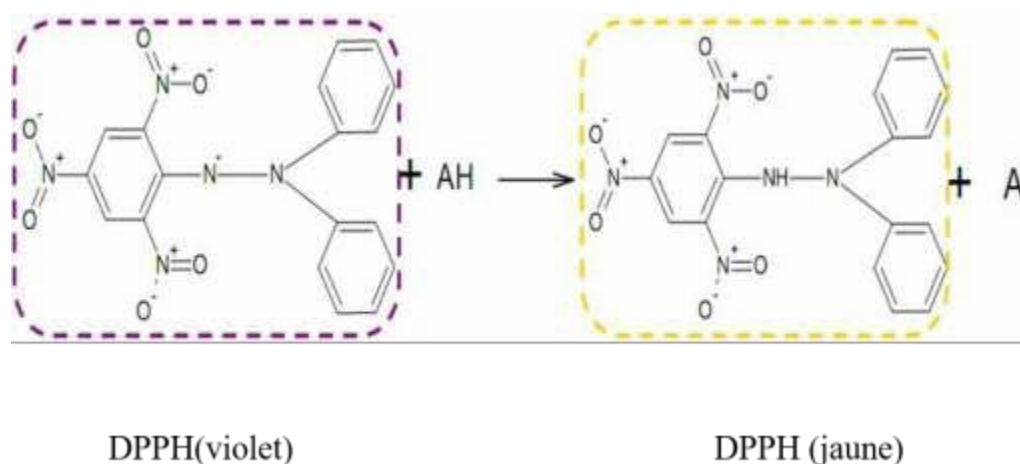


Figure 19 : Structure chimique du radical DPPH[•] et de sa forme réduite (**Haddouchi et al., 2016**)

Le test du pouvoir anti radicalaire est réalisé en ajoutant 1 mL de la solution méthanolique de DPPH à 1 mL d'extrait à différentes concentrations. Le mélange est incubé à 37°C pendant 20minutes. Un contrôle est préparé avec 1 mL du solvant utilisé (méthanol) et 1 mL de la solution méthanolique de DPPH. Les absorbances sont lues à 517 nm. (Shirwaikar, Shirwaikar, Rajendran, et Punitha, 2006). La capacité antioxydante de nos échantillons est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH en suivant l'équation suivante :

$$\% \text{ inhibition} = \frac{\text{Absorbance du contrôle} - \text{absorbance de l'échantillon}}{\text{absorbance du contrôle}} \times 100$$

II.2.6.3. Calcule des IC50s

Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la concentration effective EC50 ou IC50. Ce paramètre IC50 est défini comme étant la concentration d'extrait nécessaire qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. L'IC50 est calculée graphiquement par la régression linéaire de graphe tracé ; pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (Molyneux, 2004).

II.2.7. Activité antibactérienne**II.2.7.1. Souches bactériennes utilisées**

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été gracieusement fournies par le laboratoire pédagogique de microbiologie de l'université Mouloud Mammeri Tizi- Ouzou. Les souches utilisées sont : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* MU50.

II.2.7.2. Détermination de l'effet antibactérien

La méthode de diffusion sur milieu gélosé est utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits. Elle consiste en la diffusion de l'extrait à partir des disques imbibés déposés sur le milieu solide, en créant un gradient de concentration faisant apparaître une zone circulaire claire épargner de colonies appelées zones d'inhibition.

L'inoculum bactérien a été préparé à partir de colonies de moins de 24 heures dans l'eau physiologique stérile. Une colonie isolée de la culture bactérienne a été prélevée à l'aide d'un écouvillon et homogénéisée dans l'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est ajustée jusqu'à obtention d'une densité optique de 0,08 à 0,1 dans une longueur d'onde de 625 nm.

Une quantité de la suspension est étalée à la surface de la gélose Mueller- Hinton (MH) à l'aide d'un écouvillon, selon les recommandations du CASF (2009). Des disques stériles sont imprégnés chacun avec 20µL de chaque extrait à différentes concentrations et déposés sur la gélose. Les disques témoins sont imprégnés de 20µL du DMSO. Les boîtes de Pétri préparées sont mise au réfrigérateur pendant 4h pour une pré-diffusion, puis incubées à 37°C pendant 24 heures. Les mesures des diamètres des zones d'inhibition sont

effectuées à l'aide d'une règle millimétrée sur la surface inférieure de la boîte, sans ouvrir le couvercle. La Lincomycine est utilisée comme un standard.

II.2.7.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne après 18 à 24 heures d'incubation (Caquet, 2004). Les CMI des extraits vis-à-vis des souches bactériennes cibles sont déterminées selon la technique de dilutions sur milieu liquide en utilisant les microplaques 96 puits.

Les puits sont remplis avec 95µL de BHIB, 5µL de l'inoculum ayant une concentration de 10^5 UFC/mL, et de 100µL de l'huile essentielle à différentes concentrations (Djenane et al., 2011) Les microplaques sont incubées à 37°C pendant 24h. Deux témoins sont réalisés : un témoin négatif (sans l'inoculum) : 100µL BHIB + 100µL d'extrait et un témoin positif : 195µL BHIB + 5µL de l'inoculum. La CMI de chaque extrait est déterminée par une inspection visuelle des fonds des puits et la croissance bactérienne est indiquée par la présence d'une pelote blanche au fond du puits.

II.2.7.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible concentration de substance qui laisse au plus 0,01% de germes survivants (Toty, 2013).

La CMB a été déterminée en ensemençant la gélose nutritive par écouvillonnage à partir des puits dans lesquels aucun trouble n'a été observé. La plus faible concentration ne donnant pas de colonies après 24 h d'incubation à 37°C, correspondra à la CMB.

II.3. Analyse statistique

Toutes les données représentent la moyenne de trois essais et les résultats sont exprimés par la moyenne \pm l'écart type. Les résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) suivie d'une comparaison multiple des moyennes par le biais du logiciel STATISTICA et la comparaison des données est prise à la probabilité ($P < 0,05$)

Résultats et discussion

III.1. Préparation de l'extrait phénolique : Optimisation d'extraction

III.1.1. Etude préliminaire des conditions d'extractions

Le type de solvant extracteur (éthanol, méthanol ou acétone) et le ratio solvant/ eau (20%, 50%, 70% et à 98 %) ont été étudiés afin d'optimiser l'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes. L'extraction est réalisée par macération pendant 3h.

III.1.2. Teneurs en polyphénols totaux

Une analyse quantitative des composés phénoliques est réalisée selon la méthode du Folin-Ciocalteu. La teneur en phénols totaux de chaque extrait de la plante a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en mg EAG/g Ms.

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux sont exprimés dans le tableau N° III

Tableau III : Teneur en polyphénols totaux en fonction des solvants

Ratio solvant/ eau	Ethanol	Acétone	Méthanol
20%	1,572 ± 0,316	0,023 ± 0,056E-02	0,026 ± 6,262E-05
50%	3,286 ± 0,107	0,018 ± 0,001	0,026 ± 0,001
70%	0,024 ± 0,001	0,024 ± 0,012E-02	0,027 ± 0,108E-03
98%	0,011 ± 6,26E-05	0,015 ± 0,002	0,026 ± 0,497E-03

L'analyse statistique (ANOVA a un facteur par NEWMAN et KEULS) indique que les teneurs en polyphénols présentent une différence significative ($p < 0,05$) entre les différentes concentrations de l'éthanol et l'acétone et aucune différence significative n'est notée entre les extraits méthanoliques ($p > 0,05$).

L'Ethanol 50% donne la teneur la plus élevée en polyphénols ($3,286 \pm 0,107$ mg EAG/g Ms), suivi de l'éthanol 20% ($1,572 \pm 0,316$ mg EAG/g MS). Les plus faibles teneurs sont enregistrées dans les extraits acétoniques. Ces résultats sont inférieurs à ceux enregistrés par Haddouchi et al. (2016) dont la valeur est de $7,17 \pm 0,2$ mg EAG/g MS. Pour l'extrait méthanoïque, khadri et al. (2009) ont trouvé une valeur de $0,0475 \pm 1,5$ mg /g MS).

Cette différence peut être due à sa composition chimique qui varie en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (Boukhebt et *al.*, 2011), les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante (Park et Cha ; 2003) et la température (Sousa et *al.*, 2008 ; Conde et *al.*, 2009).

De plus, le solvant extracteur est un paramètre important dans l'extraction des composés phénoliques. Brahmi et *al.* (2012) rapportent que l'éthanol 50% est le meilleur solvant extracteur des polyphénols à partir de *Mentha spicata L.*, alors que Oussaid et *al.*, (2016) ont obtenu de meilleures concentrations avec l'acétone à partir des racines de *Scirpus holoschoenus*.

III.1.3. Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de chlorure d'aluminium en utilisant comme standard la quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en $\mu\text{g EQ/g Ms}$ (figure 20).

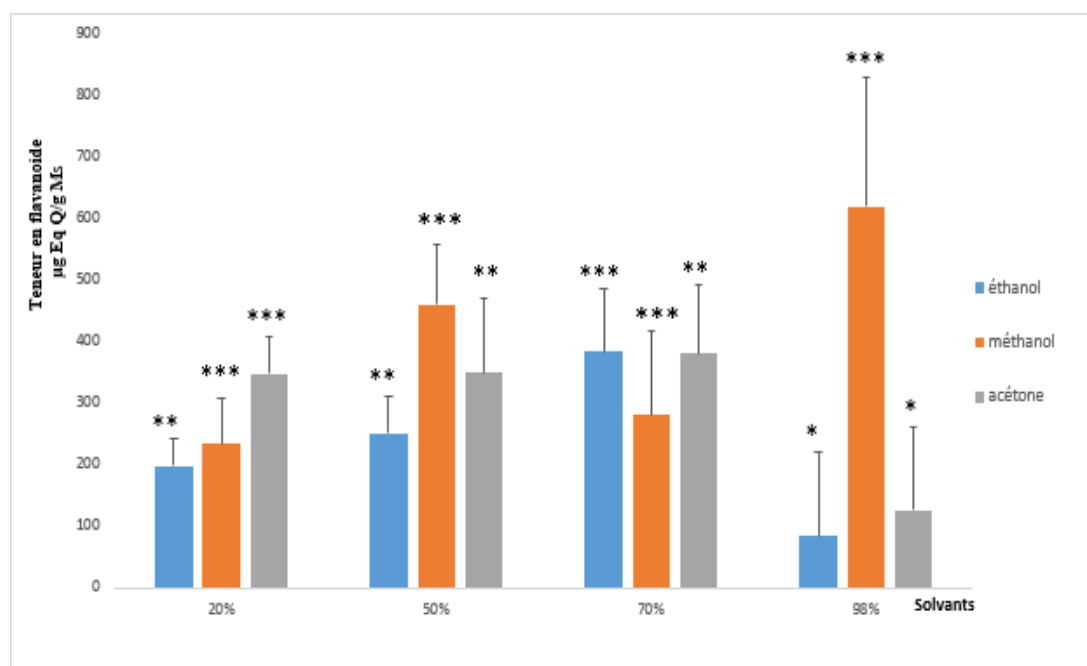


Figure 20 : Effet des solvants sur les teneurs en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes varient en fonction des solvants et de leurs concentrations. D'une manière générale, les mixtures solvants organique avec l'eau distillée permettent d'améliorer l'extraction. Ce phénomène s'explique par l'augmentation de la solubilité des composés dans les solvants à polarité modérée (Trabelsi et *al.*, 2012).

Comme l'indique la figure ci-dessus, la meilleure teneur en flavonoïde est obtenue avec le méthanol 98 % ($619.77 \pm 210,52 \mu\text{g EQ/g MS}$), et la plus faible est enregistrée dans l'extrait éthanoïque ($84.64 \pm 137,07\mu\text{g EQ/g MS}$).

Nos résultats sont meilleurs que ceux de Haddouchi et *al.* (2016), indiquant une valeur de $1,41 \pm 0,06 \text{ mg EQ/g MS}$ de la partie aérienne de la plante. Par contre, Khadri et *al.* (2009) ont enregistré une teneur supérieure en flavonoïdes ($922 \pm 15 \mu\text{g/ mg MS}$) dans l'extrait méthanoïque la même plante récoltée le sud saharien de la Tunisie.

Les résultats de la présente étude sont en désaccord avec ceux de Brahmi et *al.* (2012) ayant obtenu une meilleure teneur en flavonoïdes avec l'acétone 75% ($7,68 \pm 0,02 \text{ mg EQ/g MS}$), et la plus faible avec le méthanol 50% ($1,98 \pm 0,22 \text{ mg EQ/g MS}$).

III.1.4. Effet de la combinaison des solvants

II. 1.4. 1. Effet de la combinaison sur la teneur en polyphénols totaux

En se basant sur les résultats de l'étude préliminaires, différentes extractions sont réalisées en combinant les trois solvants organiques qui (acétone 70%, éthanol 50%, méthanol 70%).

Les résultats du dosage des polyphénols dans les différentes combinaisons sont exprimés dans la figure 21.

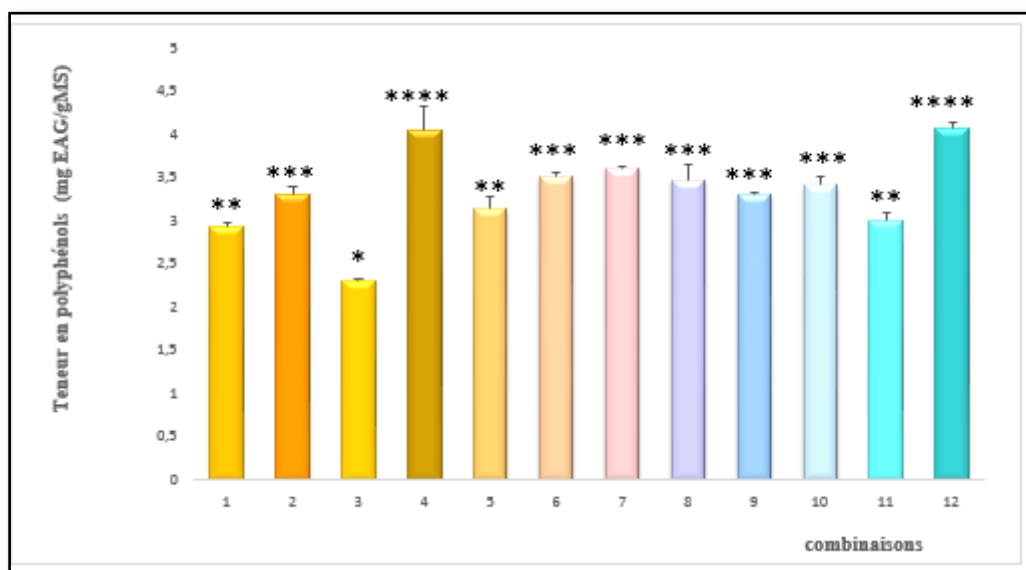


Figure 21 : Teneurs en polyphénols récupérés avec différentes combinaisons

1 : méthanol 70%. 2 : éthanol 50%. 3 : acétone 70%. 4 : ½ ((méthanol ; acétone)70%) 5 : ½ (méthanol 70%, éthanol 50%) 6 : ½ (acétone 70%, éthanol 50%) 7, 11, 12 : 1/3 (méthanol 70%, acétone 70%, éthanol 50%) 8 : 4/6 (méthanol 70%) 1/6 (acétone 70%, éthanol 50%) 9 : 4/6 (acétone 70%) 1/6 (méthanol 70%, éthanol 50%) 10 : 4/6 (éthanol 50%) 1/6 ((méthanol, acétone) 70%).

L'analyse statistique pour les teneurs en polyphénols des différentes combinaisons montre qu'il y a une différence significative et nous a permis d'établir cet ordre :

Combinaison 12 = combinaison 4 > combinaison 7 > combinaison 6 > combinaison 8 > combinaison 10 > combinaison 9 > combinaison 2 > combinaison 5 > combinaison 11 > combinaison 1 > combinaison 3

La teneur la plus élevée en polyphénols totaux est obtenue avec la combinaison n°04 (1/2 méthanol + 1/2 acétone 70%) avec une valeur de 4.059 ± 4.037 mg EAG / g MS, et la plus faible teneur est récupérée par la mixture n°03 (acétone 70%) dont la valeur est de $2,293 \pm 0,031$ mg EAG/ g MS.

L'extrait le plus riche en polyphénols (extrait brut optimisé) est utilisé pour déterminer l'activité antioxydante.

II. 1.4. 2. Effet de la combinaison sur la teneur en flavonoïdes

La figure 22 montrent les teneurs en flavonoïdes dans les différents extraits

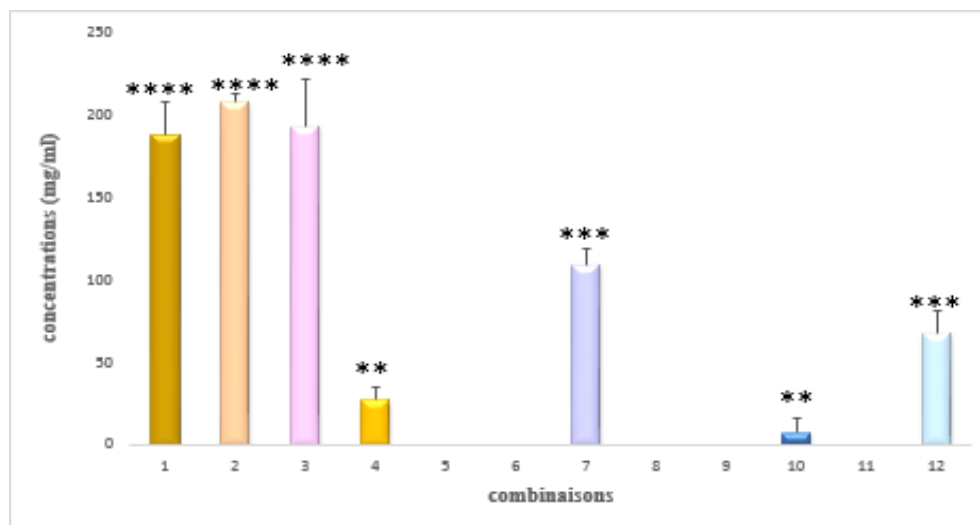


Figure 22 : combinaison des flavonoïdes

1 : méthanol 70%. **2 :** éthanol 50%. **3 :** acétone 70%. **4 :** ½ ((méthanol ; acétone)70%) **5 :** ½ (méthanol 70%, éthanol 50%) **6 :** ½ (acétone 70%, éthanol 50%) **7, 11, 12 :** 1/3 (méthanol 70%, acétone 70%, éthanol 50%) **8 :** 4/6 (méthanol 70%) 1/6 (acétone 70%, éthanol 50%) **9 :** 4/6 (acétone 70%) 1/6 (méthanol 70%, éthanol 50%) **10 :** 4/6 (éthanol 50%) 1/6 ((méthanol, acétone) 70%).

D'après les résultats obtenus, l'éthanol 50% est le solvant le plus favorable pour l'extraction des flavonoïdes ($207,18 \pm 5,03$ mg EQ/ g MS), suivi de l'acétone 70% ($192,48 \pm 29,02$ mg EQ/ G MS) puis le méthanol 70% ($186,76 \pm 20,01$ mg EQ/ g MS)). Toutefois, l'absence de flavonoïdes a été notée dans certaines combinaisons.

L'analyse statistique pour les teneurs en flavonoïdes des différentes combinaisons montre qu'il y a une différence significative et nous a permis d'établir cet ordre :

Combinaison 2 > combinaison 3 > combinaison 1 > combinaison 7 > combinaison 12 > combinaison 4 > combinaison 10 > combinaison 9 > combinaison 8 > combinaison 11 > combinaison 5. Nos résultats sont en désaccord avec ceux de Mohammedi et Atik (2011), indiquant que l'utilisation de solvants mixtes aboutit à un enrichissement des extraits en composés phénoliques.

III.2. Extraction des huiles essentielles

III.2.1. Rendement d'extraction

L'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* (HECs) est extraite par hydrodistillation. Elle est d'une couleur jaune claire et une odeur forte et agréable. Le rendement d'extraction est calculé à partir du poids de H.E par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée. Le rendement d'extraction et la teneur en polyphénols de l'huile essentielle sont montrés dans le tableau IV

Tableau IV : Rendement d'extraction et teneur en polyphénols dans HECs

<i>C. schoenanthus</i>	Teneur en polyphénols (mg EAG/g Ms)	Rendement d'extraction (%)
	0,264 ± 0,034	0.8

Le rendement en HECs varie selon l'origine de la plante. En effet, le même rendement est obtenu par Khare (2007), mais est significativement inférieur aux taux d'extraction de l'huile essentielle à partir *C. schoenanthus* récoltée en Tunisie et qui varie entre 1.1 % et 2.6 % (Khadri et al., 2008). La même plante récoltée dans la wilaya d'Illizi donne un rendement de 2.03 % (Hellali et al, 2008), et celle de la wilaya de Tamanrasset a un taux de 0,91 à 0,95 % (Ramadane, 2018). Des études ont été portées sur d'autres plantes du même genre. Le rendement de *C. nardus* du Brésil est de 0,24 % (Silva et al., 2011), *C. giganteus* 1.4 %, *C. schoenanthus* 2.6%, *C. citratus* 1.7% (Boussouet al, 2013).

III.3. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'HE et des extraits phénoliques de *C. schoenanthus* a été déterminée par deux méthodes : test de Phosphomolybdate et le test de DPPH (2,2- diphenyle-1-picrylhydrazyle).

III.3.1. Test de Phosphomolybdate

La capacité anti-oxydante totale a été mesurée par spectrophotomètre en utilisant la méthode de Phosphomolybdate. Les résultats obtenus sont exprimés dans les figures ci-dessous :

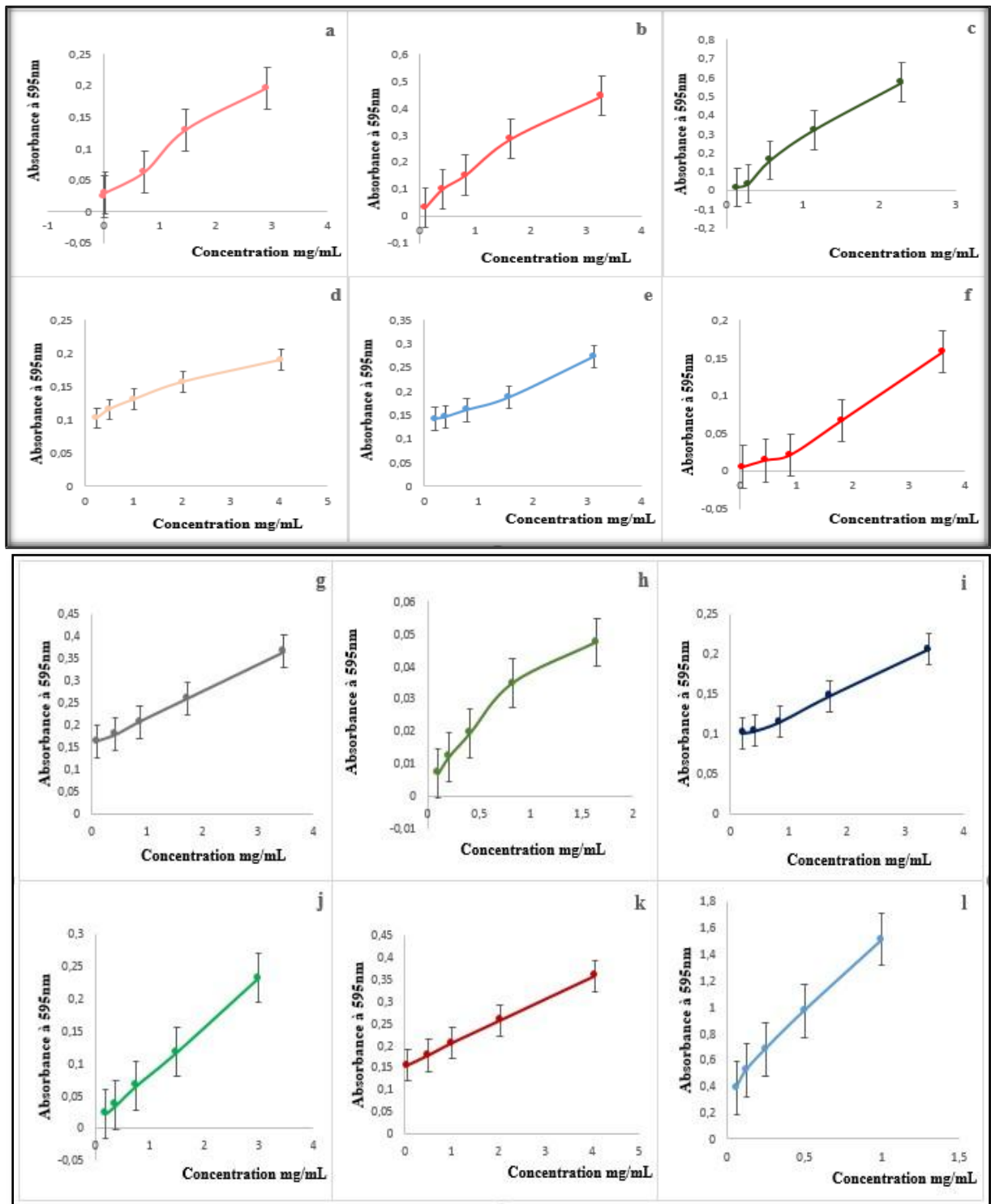


Figure 23 : Evaluation de l'activité antioxydant des différents extraits avec le test de Phosphomolybdate

a : Méthanol 70%. **b** : Ethanol 50%. **c** : Acétone 70%. **d** : 1/2 ((Méthanol, Acétone) 70%). **e** : 1/2 (Méthanol 70%, Ethanol 50%). **f,j,k** : 1/3 (Méthanol 70%, Acétone 70%, Ethanol 50%). **g** : 4/6 (méthanol 70%) 1/6 (acétone 70%, éthanol 50%). **h** : 4/6 (acétone 70%) 1/6 (méthanol 70%, éthanol 50%) **i** : 4/6 (éthanol 50%) 1/6 ((méthanol, acétone) 70%) **l** : Acide ascorbique.

L'Acétone 70% possède la plus forte capacité antioxydante à $0,572 \pm 0,031$ mg/mL, alors que le mélange ½ (acétone 70%, éthanol 50%) est doté de la plus faible activité antioxydant.

Il ressort de l'analyse des données une bonne corrélation l'activité antioxydante et teneurs en polyphénols. Ces résultats sont en accord avec ceux annoncés dans la littérature attribuant le potentiel antioxydant aux composés phénoliques (Amriet *al.*, 2015; Guettafet *al.*, 2016). Les polyphénols avec un nombre élevé du groupements hydroxyles présentent l'activité antioxydante la plus élevée donc l'activité antioxydante est en corrélation avec la structure des polyphénols (Heim *et al.*, 2002), la position et de la nature des substituant sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation (Popovic *et al.*, 2010).

La capacité antioxydante totale de l'HECs évaluée par le même test donne la courbe de la figure 24.

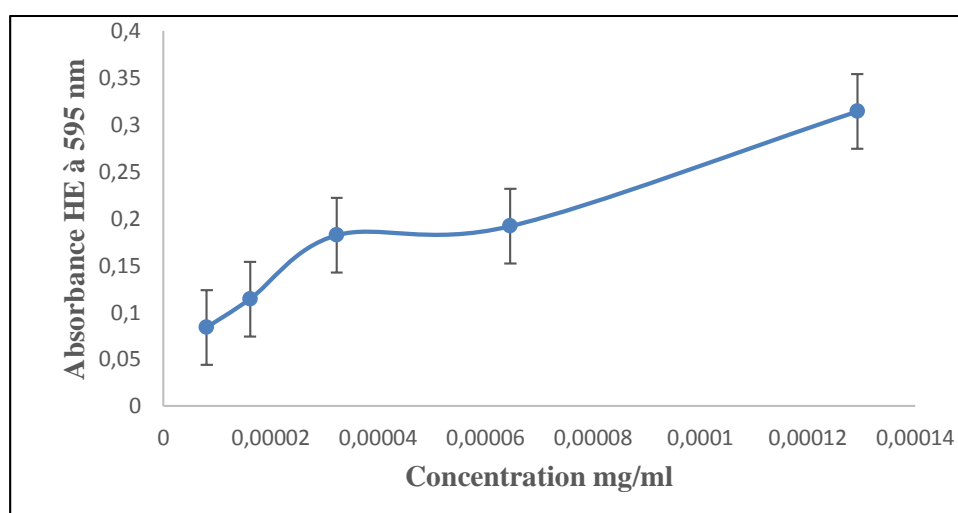


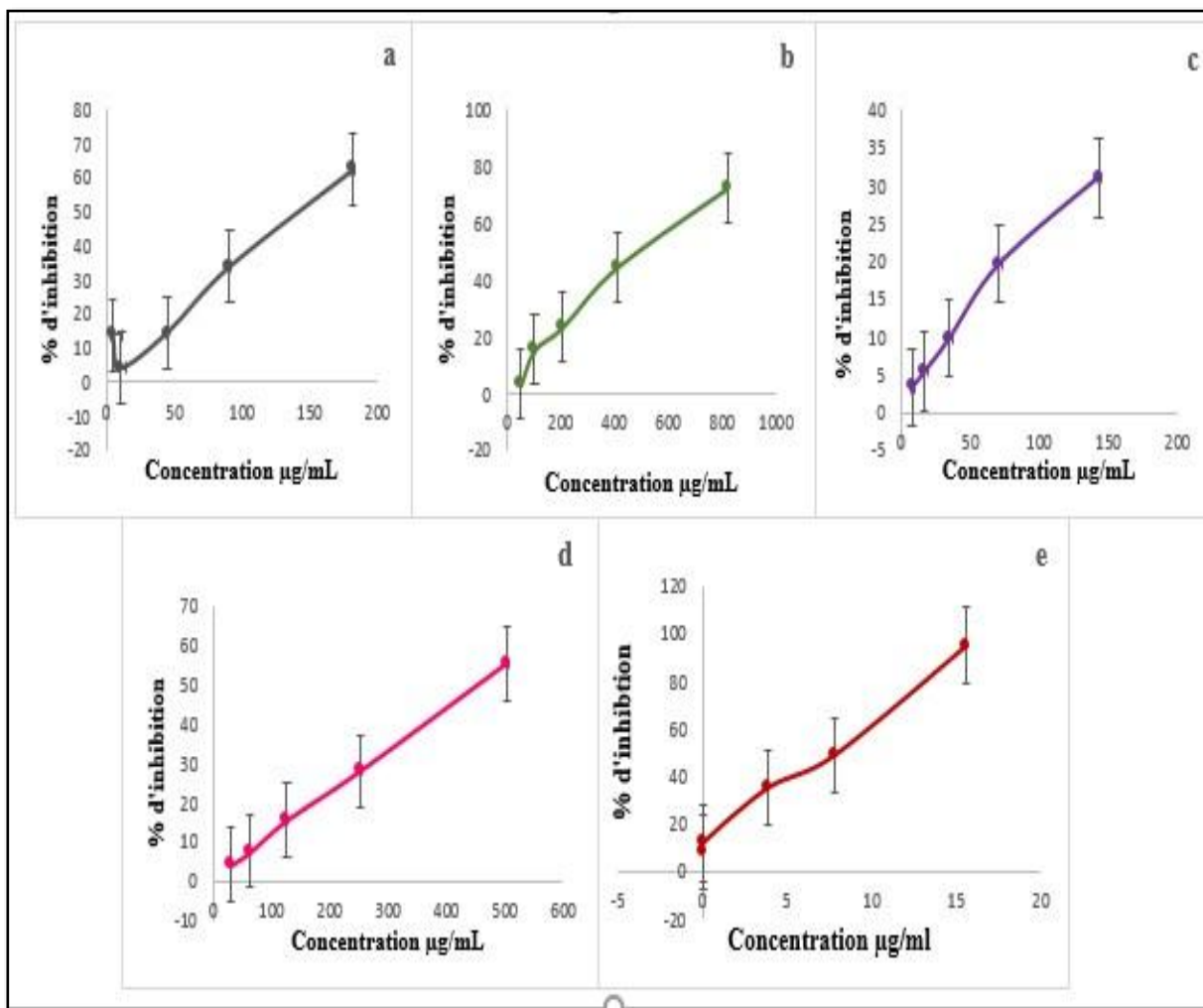
Figure 24 : activité antioxydante de l'huile essentielle de HECs

Le teste de Phosphomolybdate montre que l'activité antioxydante de l'HE exerce une faible activité par rapport à l'acide ascorbique, utilisé comme standard.

III. 3. 2. Pouvoir antiradicalaire du DPPH

Le principe de ce teste repose sur la lecture d'absorbance à des longueurs d'ondes différents par spectrométrie UV visible en suivant la réduction de ce radical avec un passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517nm. Les résultats obtenus sont

exprimés dans les figures ci-dessous et en concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50) (Tableau V).



A : Méthanol 70% **b** : Ethanol 50% **c** : Acétone 70% **d** : ½ ((Méthanol, Acétone) 70%) **e** : Acide Ascorbique

Figure 25 : Activité antiradicalaire des extraits phénoliques de *Cymbopogon schoenanthus*

Le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits et de l'acide Ascorbique. On constate que L'éthanol 50% à 821 µg/m L a le plus fort pouvoir scavenger des radicaux libres (72,371 %).

Haddouchi et *al.* (2016) ont trouvé un pourcentage d'inhibition de 68,61% à une concentration de 100µg/ml, ce qui prouve la forte activité de *Cymbopogon schoenanthus*.

L'IC50 est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante, elle exprime la quantité d'antioxydante requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %.

Les valeurs des IC50 sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau V : Valeurs des IC50 des extraits phénoliques de *Cymbopogon schoenanthus*

Extrait	Ic50 ($\mu\text{g/mL}$)
Méthanol 70%	$144 \pm 0,0023$
Ethanol 50%	$528 \pm 0,0067$
Acétone 70%	$229 \pm 0,0066$
Extrait optimisé	$456 \pm 0,0307$
Acide Ascorbique	$7 \pm 0,0739$

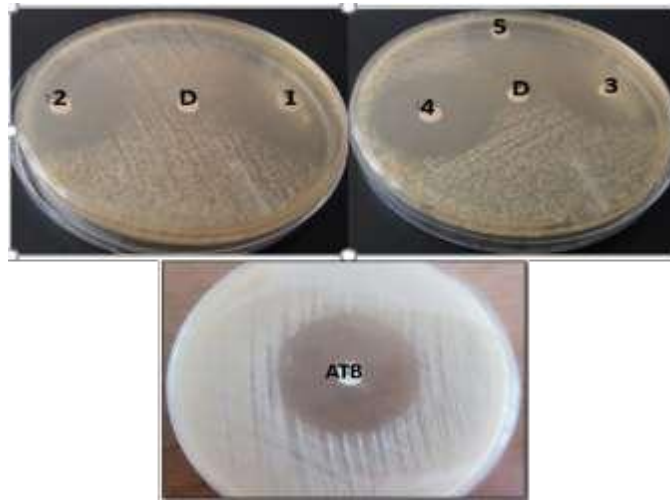
Les valeurs d'IC50 présente une différence significative entre les différents extraits ($p < 0.05$). La meilleure activité antioxydante est celle de l'extrait hydrométhanolique (méthanol 70 %) avec une valeur de $144 \pm 0,0023 \mu\text{g/ml}$. Les extraits exercent une activité faible par rapport à celle du standard.

De plus, les valeurs enregistrées dans cette étude sont supérieures à celles obtenues par Haddouchi et al, (2016) et Khadri et al., (2010) qui sont respectivement de $56,83 \pm 1,53 \mu\text{g/mL}$ et $17,9 \mu\text{g/mL}$. Selon Sun et al (2007), le méthanol reste le solvant de choix pour extraire les antioxydants d'une plante.

III.4. Activité antibactérienne

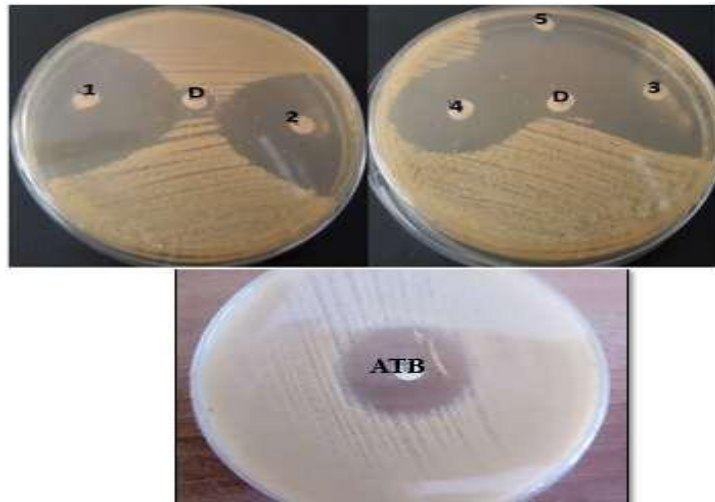
III.4.1. Méthode des disques

L'activité antibactérienne de HECs a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis de deux souches bactériennes à savoir *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* MU50. 5 concentrations ont été testées et le diamètre des zones d'inhibitions est mesuré en mm à l'aide d'une règle. La Lincomycine est utilisée comme standard.



1 : 100 %. 2 : 50 %. 3 : 25 %. 4 : 12,5 %. 5 : 6,25 %. D : DMSO (témoin)

Figure 26 : Antibiogramme de HECs sur *staphylococcus aureus* ATCC2592



1 : HE pure 100%. 2 : 50 %. 3 : 25%. 4 : 12,5 %. 5 : 6,25%. D : DMSO (témoin)

Figure 27 : Antibiogramme de HECs sur *staphylococcus aureus* MU50

Tableau VI : Diamètre des Zones d'inhibition obtenues avec l'HECs et la Lincomycine

Concentration de l'HECs	<i>S.aureus ATCC25923</i>	<i>S. aureus MU50</i>
C ₁ : 100%	39,33 ± 4,496	43,33 ± 2,494
C ₂ : 50%	34 ± 2,943	37,66 ± 1,885
C ₃ : 25%	35 ± 0,816	36,33 ± 2,624
C ₄ : 12.5%	33,33 ± 2,624	34,66 ± 2,494
C ₅ : 6.25%	33 ± 2,160	ND
Lincomycine (15 µg/mL)	35,66 ± 0,942	27,66 ± 0,942

Les résultats indiquent une forte activité exercée par l'huile essentielle de la plante sur les deux souches avec un pouvoir plus prononcé sur *S. aureus* MU50 (43,33 ± 2,494). L'activité antibactérienne de l'huile est supérieure à celle de Lincomycine, utilisée comme témoin positif. De plus, l'effet antibactérien est dose dépendant.

Ramadane (2018) a étudié l'effet de l'HECs vis-à-vis *S. aureus* ATCC 25923 et a obtenu une zone d'inhibition ayant un diamètre de 15±0.10 mm.

L'effet antibactérien de la plante sur d'autre souche de *S. aureus* a été rapportée par Hellali et al. (2015), qui ont enregistré une zone d'inhibition de 19,5 ± 0,7 mm sur *S. aureus* ATCC 6538. Toutefois, une faible activité a été obtenue par Hashim et al. (2016) sur *S. aureus* ATCC6538 (12,5 ± 0,6) et *S. aureus* ATCC 33591 (11 ± 0,4). Koba et al. (2004) ont aussi noté une faible activité antimicrobienne qui est probablement due aux pertes des composés volatiles de l'huile essentielle durant le stockage ou l'extraction.

Selon (Ramadane, 2018), l'activité de l'HECs pourrait être attribuée à la présence d'un composé majoritaire *piperitone*. Ce qui explique en partie l'utilisation de cette espèce dans le soulagement des maux de reins ainsi que les troubles intestinaux et les intoxications alimentaires (Sahki et Sahki Boutamine, 2004).

III.3.2. Détermination de la CMI & de la CMB

Les valeurs des CMI et des CMB de HE vis-à-vis *S. aureus* ATCC25923 et *S. aureus* MU50 sont exprimées dans le tableau suivant :

Tableau VII : les valeurs des CMI et la CMB de l'HECs vis-à-vis *S. aureus* ATCC 25923 et *S. Aureus* MU50

	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> MU50
CMI	0,78%	6,25%
CMB	1,56%	ND
CMB/CMI	2	ND
Effet	Bactéricide	ND

Les valeurs des CMIs indiquent que *S. aureus* ATCC 25923 est plus sensible à l'HECs que *S. aureus* MU50.

Hashim et al. (2016) en utilisant la méthode de diffusion sur gélose ont obtenu une valeur de CMI de 4,69 µg/mL vis-à-vis de *S. aureus* (MSSA) et 2,34 µg/mL vis à vis *S.aureus* (MRSA).

Le rapport CMB/CMI de la souche bactérienne *S. aureus* ATCC 25923 égale à 2. Le rapport CMB/CMI est donc inférieur à 4 ce qui fait que notre extrait exerce une activité bactéricide.

Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail est de valoriser la plante médicinale saharienne *Cymbopogon schoenanthus* de la région de Djelfa.

La première partie est consacrée aux dosages des composés phénoliques et flavonoïdes des différents extraits obtenus par macération. La meilleure teneur en polyphénols est obtenue avec l'éthanol 50% ($3,286 \pm 0,107$ mg EAG/g Ms) et celle des flavonoïdes extraits avec le méthanol 98 % ($619,77 \pm 210,52$ µg EQ/g MS).

L'extraction de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* de la partie aérienne est réalisée avec la méthode d'hydrodistillation. Le rendement obtenu est de 0,8 % avec une teneur en polyphénol de $0,264 \pm 0,034$ Mg EAG/g Ms.

L'activité antioxydante a été évaluée par deux méthodes différentes afin de combiner et comparer les résultats des deux tests. Le test de Phosphomolybdate a été réalisé sur les extraits obtenus avec combinaisons de solvants. La meilleure capacité est enregistrée avec l'extrait acétonique. L'huile essentielle donne une valeur de 0,314 mg/mL, l'activité antioxydante testée avec le DPPH montre que la meilleure capacité antioxydante est celle de l'extrait hydrométhanolique (méthanol 70 %) avec une valeur d'IC₅₀ de $144 \pm 0,0023$ µg/ml.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* a été évaluée avec la méthode des disques vis-à-vis de deux souches de *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et MU50. Les résultats révèlent une considérable sensibilité avec un diamètre de 39,33 mm pour *Staphylococcus aureus* 25923 et 43,33 mm pour *Staphylococcus aureus* MU50.

En conclusion, les résultats obtenus ouvrent plusieurs perspectives pour compléter notre travail comme :

- La caractérisation moléculaire des extraits phénoliques et de l'huile essentielle.
- Elargir le domaine des tests biologiques : activité anti-inflammatoire, antifongique, antidiabétique et d'autre.
- Réaliser des tests *in vivo*

Enrichir des produits alimentaires dans le but de mieux les conserver

Références bibliographiques

Référence bibliographiques

Abderrazak M., et Joël R. (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris.177p.

Amri O., Elguiche R., Tahrouch S., Zekhnini A. et Hatimi A. (2015). Antifungal and antioxidant activities of some aromatic and medicinal plants from the southwest of Morocco. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 7(7): 672- 678.

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

Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C, Dine T., Locks M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. and pinkas M (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimtte-Forschung/ Drug Res.* 46 (11): 1086-1108.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.

Basli A., Chibane M., Madani K. and Oukil N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytother.* 10 (1) : 2-9.

Belaiche P. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. L'aromatogramme Tome I.

Ben Othman M., Han J., El omri A., Ksouri R., Neffati M., Isoda H., (2013). Antistress Effects of the ethanolic extract from *Cymbopogon schoenanthus* Growing Wild in Tunisia. Hindawi Publishing Corporation :1- 9.

Benchalah A.C., Bouzian H., Maka M. (2000). Fleurs du Sahara, Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. Edition IBIS press. Paris. 255P.

Benchalah A.C., Bouziane H., Maka M. (2004). Fleur du Sahara arbres et arbustes voyage au coeur de leurs usages avec les Touaregs du Tassili. *Phytothérapie* 6: 191- 197.

Benjlali B. (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales. Cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 17-59.

Boizot N., & Charpentier J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, 79 – 82.

Bossou A. D, Mangelinckx S., Yedomonhan H., Boko P.M., Akogbeto M.C., Kimpe N.D., Avlessi F., Sohounhloue D.C.K. (2013). Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from Benin against *Anopheles gambiae* (Giles). *Parasites & Vectors* 6: 1-17

Bouchiki T., (1994). Activités antimicrobiennes de quelques huiles essentielles. Thèse de doctorat, université Blaise Pascal, Clermont Ferrand.

Référence bibliographiques

Bougatef A., Hajji M., Balti R., Lassoued I., Triki-Ellouz Y. and Nasri M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chem.* 114 (4): 1198-1205

Bougatef A., Hajji M., Balti R., Lassoued I., Triki-Ellouz Y. and Nasri M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chem.* 114 (4): 1198-1205.

Boukhebti H., Chaker A. N., Belhadj H., Sahli F., Ramdhani M., Laouer H., & Harzallah D. Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium*. L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharm. Lett* 2011; 3: 267-75.

Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni M.M. (2008). Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phœnicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 2008, 10, 119-125

Boyd B, Ford C, Koepke M, Gary K, Hom E, Analley S, and Analley B (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience et Nutrition.* 4 (6) : 7.

Brahmi F, Samia H A, A Zarrouk, M Bezine, T Nury, K Madani, M Chibane, A Vejux, P Andreoletti, L Boulekbache-Makhlouf & G Lizard. Evidence of biological activity of *Mentha* species extracts on apoptotic and autophagic targets on murine RAW264.7 and human U937 monocytic cells. *Pharmaceutical Biology*, 2016 VOL. 55, NO. 1, 286–293.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E. and Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* 28: 25-30.

Bruneton J. (1993). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *Tec. & Doc.* Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie- phytochimie- plante médicinales 3eme éd. *Technique et Documentation Lavoisier.* Paris : 310-506.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie phytochimie. Plantes médicinales, fourth ed. *Tec and Doc,* Paris, 1269 p.

Burt S. (2004). Huiles essentielles : leurs propriétés antibactériennes et leurs applications potentielles dans 398 nourritures. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 94 (3), 223-253.

Caquet R. (2004). 250 Examens de laboratoire : Prescription et interprétation. *Ed. Masson.* Paris. 453p.

Catier O., Roux D. (2007). Cahiers du préparateur en pharmacie : Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie. 3ème édition Wolters Kluwer. 81p.

Référence bibliographiques

Chalchat JC., Garry RP., Menut C., Lematy G., Malheurt R and Chopineau J. (1997), Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *Journal of Essential Oil Research* 2000.

Chehema A. (2006). Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Editions Dar El Houada, Ain Mlila.

Chehema A. Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien, Laboratoire de protections des écosystèmes en zones arides et semi arides, Université de Ouargla, 2005/2006, 146 p. (en cours d'édition).

Chira K., Suh J-H., Saucier C., et Teissedre PL. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*. 6: 75–82.

Christophe P. & Christophe S. (2011). Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. *Edition Springer*, p 84.

Cowan MM., (1999). Produits végétaux comme agents antimicrobiens. *American Society for Microbiology*, 12 (4), 564-582.

Daurel C., et Leclercq R. L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *Rev. Fr.Lab.* (2008) ; 407 : 81-90.

De-Oliveira AC, Ribeiro-Pinto LF, Paumgartten JR, et al. (1997). In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by β -myrcene and other monoterpenoid compounds. *Toxicol Lett* 92 : 39–46

Djenane D., Yangüela J., Montanés L., Djerbal M., Roncalés P., (2011). Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Saturejamontana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control* 22, 1046–1053.

Dorman HJD., Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 2000; 88 (2): 308-316.

Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz JC. (1990) Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.

EDQM Council of Europe, Pharmacopée Européenne 8.0, Drogue Végétales et préparation à base de drogue végétales, Tome 1, Strasbourg, 2014.

Edris A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research* 21(4): 308- 323.

Effendi L., Yajun Y. et al., (2008). Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab.Eng.*8: 172-181.

Référence bibliographiques

Evans W.C., (1998). Trease and Evan's Pharmacognosy, 14th edition SANDERS, pp. 48-65, 612 p.

Faucher J.L. et Avril J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale. Tome 1, Ellipses (Ed.), Paris.

Favier A., (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, Mécanismes biochimiques, p 108-115.

Franchomme P., Pénoël D., (1990). L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. 445p.

Garnero J. Phytothérapie-aromathérapie. Encycl. Méd. Nat 1991, p :20.

Gasal M., Hashim., Saad B., Almasaudi., Esam Azhar., Soad K., Al Jaouni., Steve Harakeh. (2016), Biological activity of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil. Saudi Journal of Biological Sciences (2017) 24, 1458–1464

Ghestem A., Orecchioni A., Paris M., et Seguin E. (2001). Le préparateur en pharmacie, dossier 2: botanique, pharmacognosie, phytothérapie et homéopathie ». Ed. TEC et DOC, 273 P.

Gonzalez A. G., Jiménez I. A., Ravelo A. G., Coll J., González J. A., and Guignard J.L., Dupont F. (2005). Botanique systématique moléculaire. 13 ed. Masson. Paris: 247-249.

Haddouchi F., Chaouche TM., Halla N., (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie.

Hammiche, V., Maisa K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. Journal of Ethnopharmacology 105: 358-367.

Harborne J.B. Plant phenolics. In : Secondary Plant Products Encyclopedia of Plant Physiology, Vol 8, Bell EA, Charlwood BV, eds, Springer-Verlag, Berlin, 1980, pp. 329-402.

Haslam E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. J. Nat Pro. 59: 205-215.

Heim E. K., Tagliaferro A. R., & Bobilya D. J. (2002). Flavonoïds antioxydants : chemistry ; metabolism and structure-activity relationships. *The journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572 – 584.

Hellali N., Hadj-Mahammed M. (2008). Analyse par GC-MS de l'huile essentielle de la plante *Cymbopogon schoenanthus* de la région d'Illizi, obtenue par hydrodistillation assistée par microondes. *PhytoChem & BioSub Journal* 2 (1):5

Hellali N., Hadj-Mahammed M., Ramdane F., Telli A. (2015). Antimicrobial and antioxidant activities of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) spreng. Essential oil, growing in Illizi–Algeria. *Journal of Medicinal Plant research* 10 (14):188-194.

Référence bibliographiques

Herrmann K. M., Weaver L. M., (1999). The shikimate pathway. Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. vol.50, p.473–503.

Hussain A. (2009). Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae. In *Chemistry & Biochemistry*. Thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Chemistry. University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan. 257p.

Hussain A.I., Anwar F., Nigam P.S., Ashraf M., Gilani A.H. (2010). Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **90**: 1827–1836.

Jehl F., Chomarat M., Tankovic J., Gérard A., Schrenzel J., Gutmann L., & Stahl, J.-P. (2012). De l'antibiogramme à la prescription (3ème édition). Marcy- l'Étoile, France: BioMérieux

Ketoh G.K., Koumaglo H.K., Glitho I.A., Huignard J., (2006). Comparative effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil and piperitone on *Callosobruchus maculatus* development. *Fitoterapia* **77**: 506–510.

Khadri A., Serralheiro M.L., Nogueira J.M., Neffati M., Smiti S., Araújo M.E. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC-mass spectrometry and ¹³C NMR. *Food Chem.* 2008, **109**, 630–637.

Khadri A., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Neffati M., Smiti S., Araújo M.E.M. (2008). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC mass spectrometry and ¹³C NMR. *Food Chemistry* **109**: 630–637.

Khanuja SPS., Shasany A K., Pawar A., Lal PK., Darokar MP., Naqvi A A., Rajkumar S., Sundaresan V., Lal N., Kumar S. (2004). Essential oil constituents and RAPD markers to establish species relationship in *Cymbopogon* Spreng. (Poaceae) *Biochemical Systematics and Ecology* **33**: 171–186

Khare C.P., (2007). Indian medicinal plants an illustrated dictionary. Springer p :836

Koba K., Sanda K., Raynaud C., Nenonene YA., Millet J., Chaumont J. (2004). Activités antimicrobienne de trois *Cymbopogon* sp. Africains vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie. *Ann. Med. Vet.* **148**:202-206

Lagunez Rivera L., (2006). Étude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat. N° 2360. Institut National Polytechnique de Toulouse, 64p.

Lamaison J. L., & Carnat A. (1990). Teneurs en acide rosmarinique, en dérivés hydroxycinnamiques totaux et activités antioxydantes chez les Apiacées, les Borraginacées et les Lamiacées. *Plantes médicinales. Pharmaceutica Acta Helvetiae*, **65**,315–320.

Référence bibliographiques

- Laouer H. (2004).** Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- Le Loir Y., Gantier M. (2009).** *Staphylococcus aureus* pages Edition, Tec & Doc, Paris pp 129.
- Lloria, J. (1997).** Antifeedant Activity of Sesquiterpenes from *Celastraceae*. *Biochem.Syst. Ecol.* 25:513–519.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K. V., & Biro L. (2003).** The rol of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47, 119 – 125.
- Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002).** Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier.Paris. 211p.
- Macheix J.J, Fleuriet A. and Jay-Allemand C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires Romandes*. CH-1015 Lausanne. 192p
- Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux. Edition Lausanne : 1-20.
- Mata A.T., Proença C., Ferreira A.R., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Araújo M.E.M. (2007).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry* **103** (3): 778-786.
- Meziani S., Oomah B.D., Zaidi F., Simon-Levert A., Bertrand C., Zaidi-Yahiaoui R. (2015).** Antibacterial activity of carob (*Ceratonia siliqua* L.) extracts against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium atrosepticum*. *Microb. Pathog.* 78. 95-102.
- Mohammedi Z, Atik F (2011).** Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* (L.) karst. *Inter J Pharma Bio Sci* 2:609-615.
- Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn. Journal of Science and Technology* 26(2): 212-218.
- Mustapha El Ajjouri, Mohamed Ghanmi , Badr Satrani , Fatiha Amarti , Mohamed Rahouti , Abderrahman Aafi , My Rachid Ismaili & Abdellah Farah (2010).** Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth contre les champignons de pourriture du bois, *Acta Botanica Gallica*, 157:2, 285-294, DOI: 10.1080/12538078.2010.10516206
- Nath S C, Sarma K K, Vajejikova I, Leclercq P A, (2002).** Comparison of volatile inflorescence oils and taxonomy of certain *Cymbopogon* taxa described as *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Wats. *Biochemical Systematics and Ecology* 30: 151–162.

Référence bibliographiques

National Institute of Standards and Technology : (NIST) (2013)
<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C481345>. Consulté le 13/05/19

Oussaid S., Chibane M., Madani K., Amrouche T., Achat S., Dahmoune F., Houali K., Rendueles M., Diaz M., (2017). Optimization of the extraction of phenolic compounds from *Scirpus holoschoenus* using a simplex centroid design for antioxidant and antibacterial applications. *LWT—Food Sci. Technol.* 86, 635–642.

Perry J.J., Staley J.T. and Lory S. (2004). Microbiologie. Cours et questions de révision. Ed. Dunod

Popovici C., Saykova I., et Tylkowski B., (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, (4):8.

Porter N. (2001). Essential oils and their production. *Crops and Food Research*. Number 39.

Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A., (2010). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition. Pp : 1088.

Prieto P., Pineda M., et Aguilar M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex, Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*. 269: 337-341.

Ramadane Farah (2018). Contribution à l'étude des activités biologiques de quelques plantes médicinales du Sahara Algérien: *Nauplius graveolens*, *Ziziphus lotus* et *Capparis spinosa*, Thèse de doctorat

Remmal A., Bouchikhi T., Tantaoui-Elaraki A., Ettaybi M., (1993). Inhibition of antibacterial activity of essential oils by tween 80 and ethanol in liquid medium. *Journal de pharmacie de Belgique* [01 sept 1993, 48(5) : 352-356]

Rezaire A. (2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse pour le doctorat en Phytochimie. École doctorale pluridisciplinaire : Santé, Environnement et Sociétés dans les Amériques. Université des Antilles et de la Guyane. 215p.

Ribéreau-Gayon P. (1968). Notions générales sur les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, Paris. 254p.

Sahki A., Sahki- Boutamine R. (2004). Le Hoggar- promenade botanique. Atelier Ésope. Lyon : 233-234.

Sarni M. P. and Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc, p 398). ISBN 2-7430-0805-9)

Sarni M. P. and Cheynier V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 398 p). ISBN 2-7430-0805-9)

Référence bibliographiques

Scalbert A., Williamson G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*, 130: 2073-2085.

Shirwaikar A., Shirwaikar A., Rajendran K., & Punitha I. S. R. (2006). In Vitro tioxidant Studies on the Benzyl Tetra Isoquinoline Alkaloid Berberine. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29 (9), 1906-1910.

Silva C. F., Moura F. C., Mendes M. F., P. Pessoa F. L. (2011). Extraction of citronella (*Cymbopogon nardus*) essential oil using supercritical CO₂: experimental data and mathematical modelling. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 28 (02): 343– 350.

Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart Â.T., Hotchkiss S.A. (2000). Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 168,189-99

Sun J., Yao J., Huang S., Long X., Wang J. et Garcia-Garcia E. (2009). Antioxidant activity of polyphenol and anthocyanin extracts from fruits of *Kadsura coccinea* (Lem.)A.C.Smith. *Food Chemistry* 117: 276–281.

Toty A.A., Guessennd N., Bahi C., KRA A.M, Otokore D.A. and Dosso M. (2013). Évaluation *in-vitro* de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bull. Soc. Royal. Sci. Liège*. 82 : 12-21.

Trabelsi N, Falleh H, Jallali I, Ben Daly A, Hajlaoui H, Smaoui A, Ksouri R, Abdelly C. (2012). Variation of phenolic composition and biological activities in *Limoniastrum monopetalum* L. organs. *Acta Physiol Plant* 34:87–96. Université Kasdi merbah, Ouargla, Algérie. p:15.

Uttara B., Singh A.V., Zamboni P, Mahajan R.T. (2009). Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeuticoptions. *Current Neuropharmacology* 7:65–74.

Vansant G. (2004). Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Antioxydants et alimentation, Institut Danone. pp. 1-2.

Yang J., Guo J. and Yuan J. (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *Journal Food Science Technology*. 41, 1060-1066.

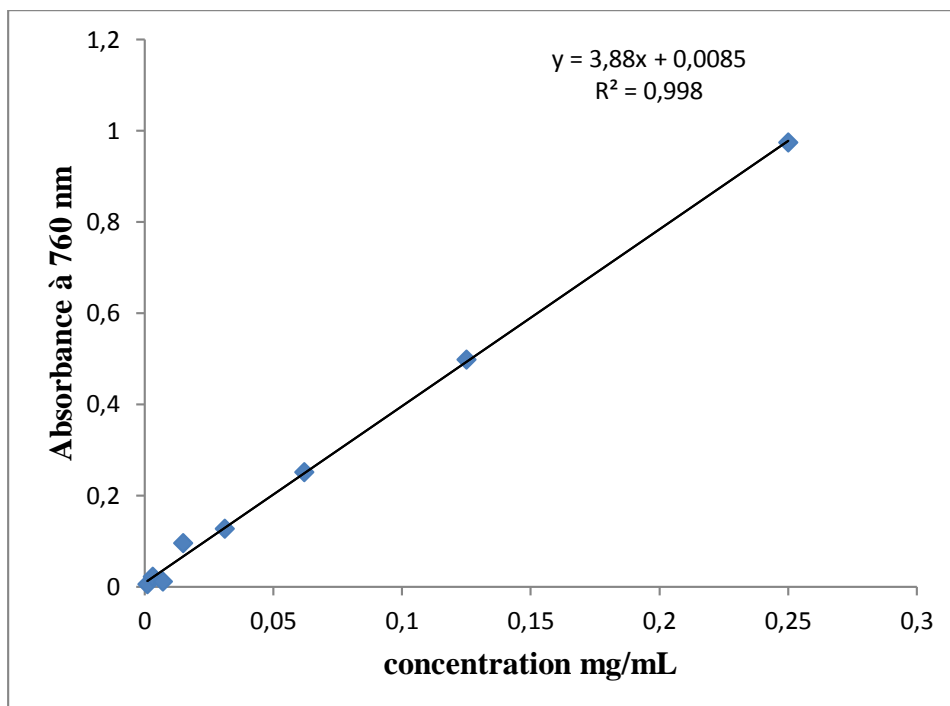
Zekri Nadia (2017). Étude phytochimique et Activités Biologiques des Huiles Essentielles et des Extraits des *M. pulegium* (L.), *M. suaveolens* (Ehrh.) et *M. spicata* (L.) du Moyen-Atlas Marocain. Thèse de doctorat.

http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante_medicinale/citronnelle.htm

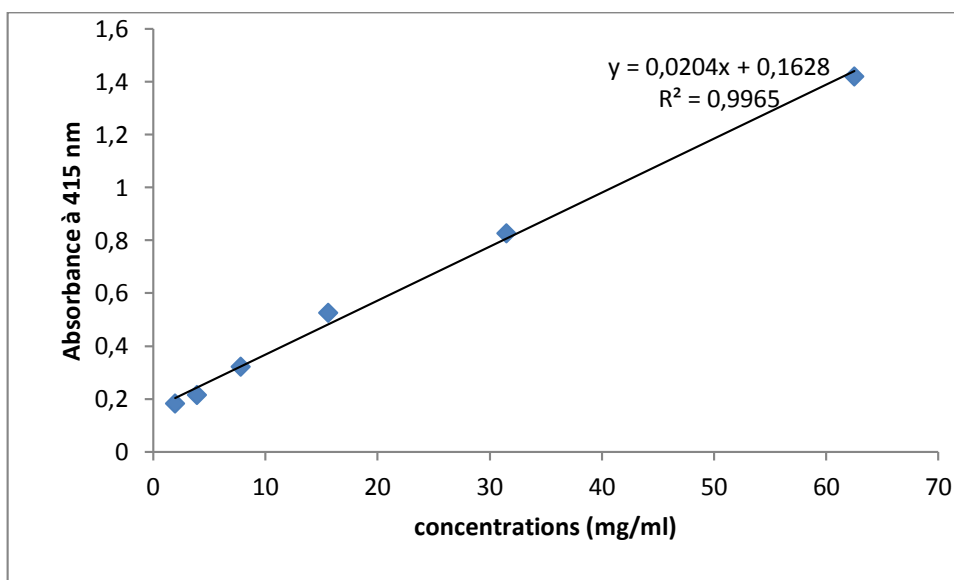
<https://www.anses.fr/fr/system/files/MIC2011sa0117Fi.pdf>

Annexes

Annexes



Annexe I : courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Annexe II : courbe d'étalonnage de Quercetine

Test de Newman-Keuls ; variable TENEUR (Feuille.sta)						
Groupes Homogènes, alpha = ,05000						
Erreur : MC Inter = 212,13, dl = 24,000						
Cellule N°	combinaison	TENEUR Moyenne	1	2	3	4
5	comb5	0,0000	****			
11	comb11	0,0000	****			
8	comb8	0,0000	****			
6	comb6	0,0000	****			
9	comb9	0,0000	****			
10	comb10	6,6993	****			
4	comb4	26,6340	****			
12	comb12	67,4837		****		
7	comb7	108,3333			****	
1	comb1	186,7647		****		
3	comb3	192,4837		****		
2	comb2	207,1895		****		

Annexe III : Analyse statistique des combinaisons des teneurs en Polyphénols

Test de Newman-Keuls ; variable TENEUR (Feuille.sta)								
Groupes Homogènes, alpha = ,05000								
Erreur : MC Inter = ,01970, dl = 24,000								
Cellule N°	combinaison	TENEUR Moyenne	1	2	3	4	5	6
3	comb3	2,293814						****
1	comb1	2,920962					****	
11	comb11	2,998282		****			****	
5	comb5	3,131443		****	****	****		
2	comb2	3,286082	****	****	****			
9	comb9	3,298969	****	****	****			
10	comb10	3,406357	****	****	****			
8	comb8	3,470790	****					
6	comb6	3,496564	****					
7	comb7	3,603952	****					
4	comb4	4,037801						****
12	comb12	4,059278						****

Annexe IV : Analyse statistique des combinaison des teneurs en flavonoïdes

a Test de Newman-Keuls ; variable VA (Feuille.sta)				b Test de Newman-Keuls ; variable TENEUR (Feuille.sta)				c Test de Newman-Keuls ; variable teneur (Feuille.sta)					
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				Groupes Homogènes, alpha = ,05000				Groupes Homogènes, alpha = ,05000					
Erreur : MC Inter = 18368, dl = 8,0000				Erreur : MC Inter = 6027,2, dl = 8,0000				Erreur : MC Inter = 29013, dl = 8,0000					
Cellule N°	CO	VA Moyenne	1	Cellule N°	CON	TENEUR Moyenne	1	2	3	Cellule N°	con	teneur Moyenne	1
4	CON4	126,9608	****	4	CON4	1,7974			****	1	con1	234,1503	****
1	CON1	347,7124	****	1	CON1	197,3856	****			3	con3	281,5359	****
2	CON2	349,3464	****	2	CON2	250,4902	****	****		2	con2	459,6405	****
3	CON3	381,2092	****	3	CON3	384,4771	****			4	con4	619,7712	****

d Test de Newman-Keuls ; variable VA (Feuille.sta)				e Test de Newman-Keuls ; variable TENEUR (Feuille.sta)				f Test de Newman-Keuls ; variable teneur (Feuille.sta)						
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				Groupes Homogènes, alpha = ,05000				Groupes Homogènes, alpha = ,05000						
Erreur : MC Inter = ,00001, dl = 8,0000				Erreur : MC Inter = ,04164, dl = 8,0000				Erreur : MC Inter = ,00001, dl = 8,0000						
Cellule N°	CO	VA Moyenne	1	2	3	Cellule N°	CON	TENEUR Moyenne	1	2	3	con	teneur Moyenne	1
4	CON4	0,015095	****			4	CON4	0,011376	****			con2	0,025901	****
2	CON2	0,017664	****	****		3	CON3	0,023819	****			con3	0,025989	****
3	CON3	0,021074		****	****	1	CON1	1,572165		****		con4	0,028691	****
1	CON1	0,024838			****	2	CON2	3,286082			****	con1	0,031436	****

Annexe V : Analyse statistiques des teneurs en polyphénols et flavonoïdes des différents solvants.

a et d: acétone

b et e: éthanol

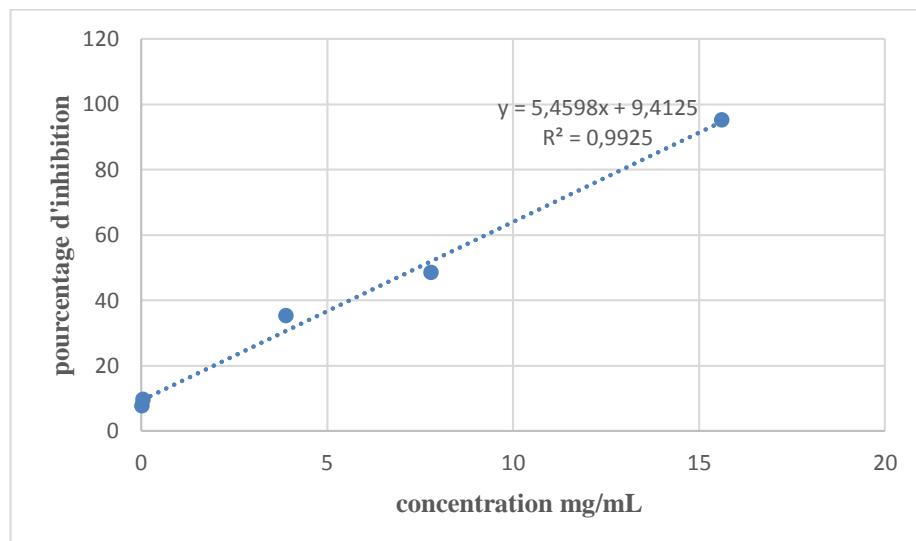
c et f: méthanol

Test de Newman-Keuls ; variable ic50 (Feuille.sta)						
Groupes Homogènes, alpha = ,05000						
Erreur : MC Inter = ,00260, dl = 5,0000						
Cellule N°	solv	ic50 Moyenne	1	2	3	
1	metha	0,143963	****			
3	acét	0,229365	****			
4	optim	0,456281		****		
2	etha	0,528666		****		
5	asc	7,359890			****	

Annexe VI : Analyse statistique des IC50 de teste de DPPH

Test de Newman-Keuls ; variable S25923 (Feuille.sta)				Test de Newman-Keuls ; variable SMU50 (Feuille.sta)			
Groupes Homogènes, alpha = ,05000				Groupes Homogènes, alpha = ,05000			
Erreur : MC Inter = 12,333, dl = 10,000				Erreur : MC Inter = 8,5333, dl = 10,000			
Cellule N°	concentration	S25923 Moyenne	1	Cellule N°	concentration	SMU50 Moyenne	1 2
5	C5	33,00000	****	4	C4	34,66667	****
4	C4	33,33333	****	3	C3	36,33333	**** ****
2	C2	34,00000	****	2	C2	37,66667	**** ****
3	C3	35,00000	****	5	C5	38,33333	**** ****
1	C1	39,33333	****	1	C1	43,33333	****

Annexe VII : Analyse statistique de l'activité antibactérienne



Annexe VIII : courbe d'étalonnage acide ascorbique du DPPH.