



N° Réf :

Centre Universitaire AbdelhafidBoussouf-Mila
Institut des Sciences et de la Technologie
Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de
Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Thème

**Caractérisation pharmacologique et effet
antimicrobien de quelques plantes médicinales**

Préparé par:

- ❖ DJENHI Soumeya
- ❖ BELATTAR Zahira

Devant le jury composé de :

Président : KELLABRabeh(MAA) Centre universitaire de Mila.
Examinatrice : AMARISalima(MAA) Centre universitaire de Mila.
Promoteur : BENSERRADJOuafa(MCB) Centre universitaire de Mila.

Année Universitaire : 2020/2021

REMERCIEMENT

Tout d'abord, nous remercions Allah le tout puissant qui nous a donné la santé, la prospérité, le courage et la force afin de passer devant tous les obstacles que nous avons rencontrés et de nous avoir permettre de compléter nos études ainsi que ce modeste travail.

Et nous tenons à remercier :

Notre enseignant : Kaleb Rabah pour son soutien constant et ses conseils continus envers nous

Notre promotrice : Banserradj ouafa pour avoir accepté de diriger ce travail, pour sa disponibilité, sa gentillesse, son aide, sa patience ainsi sa confiance

Les membres de jury pour avoir accepté d'être partie de notre jury de mémoire.

Enfin nous tenons à remercier profondément tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Merci à tous.



DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

A mes parents

Qui m'ont donné beaucoup de soutien et d'encouragement dès ma naissance, symbolisant pour moi le sacrifice et la source d'où naît la lumière qui éclaire ma vie, et pour qui aucune dédicace n'exprimera la profondeur de mon amour, je vous adore,

A mes sœurs

Toma ,Mimi, MIRY ,Twiti et mes frères :Chamsou, Chouibe

Pour leur véritable et sincère amour, pour tout le soutien qu'ils m'apportent. Je les souhaite, une vie pleine de succès avec beaucoup de bonheur,

A mes amis

Ikram, zahira ,iman, rayan, chahra, chaima

Surtout :

Pour les moments forts et agréables que vous avez passé ensemble, à tous ce qui m'aiment et me souhaitent le bonheur et à tous qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et à l'élaboration de ce rapport.

DJENHI SOUMEYA



DEDICACE

Je dédie ce modeste travail qui est le fruit de mes efforts
A celle que j'aime le plus au monde ma très chère maman,
Ses sacrifices et son encouragement depuis mon existence, je
Ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur
mes éducation, jamais je ne pourrais la remercier.
A mon grand père qui est été la source d'où naît la lumière qui éclaire ma
vie, et pour qui aucune dédicace n'exprimera la profondeur de mon amour, je
t'adore.

BELATTAR ZAHIRA



Liste des tableaux

N°	Tableau	page
Tableau 1	Programme de température de four	22
Tableau 2	Tableau descriptif des différentes souches bactériennes testées.	23
Tableau 3	Tableau descriptif des milieux de culture utilisés	24
Tableau 4	Le traitement de l'humidité.	30
Tableau 5	Propriétés organoleptiques des deux extraits obtenus	31
Tableau 6	caractéristique des principaux composés d' extrait de <i>Syzygium aromaticum</i> identifiés par GC/SM.	33
Tableau 7	caractéristique des principaux composés d' extrait de <i>Lippia citriodora</i> identifiés par GC/SM.	37
Tableau 8	les valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition d'extrait et leurs différentes dilutions de <i>Syzygium aromaticum</i> (100mg/ml)	42
Tableau 9	Les valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition d'extrait et leurs différentes dilutions (500mg/ml).	44
Tableau 10	Les valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition d'extrait et leurs différentes dilutions de <i>Lippia citriodora</i> .	47
Tableau 11	Résultats du test de sensibilité des souches fongiques à l'extrait de <i>Syzygium aromaticum</i> à différentes concentrations.	49
Tableau 12	Résultats du test de sensibilité des souches fongiques à l'extrait de <i>Lippia citriodora</i> à différentes concentrations.	52

Liste des figures

N°	Tableau	page
Figure 1	Schéma de l'extracteur la soxhlet (BenRahal, 2018).	8
Figure 2	Appareillage de CPG/SM	10
Figure 3	Le clou de giroflier	11
Figure 4	Arbre de Giroflier de Madagascar.	12
Figure 5	Aspect morphologique de giroflier	13
Figure 6	Fleur de giroflier	13
Figure 7	Les fleurs de la verveine.	16
Figure 8	Le clous de girofle utilisé	19
Figure 9	La verveine utilisée	20
Figure 10	Extraction par le soxhlet (C.U.Mila)	21
Figure 11	CPG/SM faculté SNV univertité de Jijel	23
Figure 12	Préparation des suspensions bactériennes	25
Figure 13	Principe de la méthode de diffusion par disques	26
Figure 14	Disposition des disques imprégnés	27
Figure 15	Incubation des souches	27
Figure 16	Préparation des dilutions	28
Figure 17	La structure chimique de caryophyllène	34
Figure 18	La structure chimique de l'eugénol	34
Figure 19	La structure d'eugénol acétate	35
Figure 20	La structure chimique de α -Citral	38
Figure 21	La structure chimique de chavibetol	39
Figure 22	La structure chimique de Tetracosane	39
Figure 23	Les résultats d'antibiogramme de l'extrait de <i>Syzygium aromaticum</i> pour 100mg/ml (A= <i>selmonella sp</i> , B= <i>staphylococcus aurus</i> , C= <i>Bacillus cereus</i> , D= <i>Pseudomenas aerginosa</i> , E= <i>Entérocooccus faecalis</i>).	41
Figure 24	Les résultats d'antibiogrammes de l'extrait d <i>Syzygium aromaticum</i> pour 500mg/ml (1= <i>selmonella sp</i> , 2= <i>Bacillus cereus</i> , 3= <i>Pseudomenas aerginosa</i> , 4= <i>Echerichia coli</i> , 5= <i>staphylococcus aurus</i>).	43
Figure 25	Les résultat d'antibiogrammes de l'extrait de <i>Lippia citriodora</i> pour 100mg/ml (1= <i>Bacillus cereus</i> , 2= <i>Entérocooccus faecalis</i> , 3= <i>Pseudomenas aerginosa</i> , 4= <i>Salmonella sp</i> , 5= <i>staphylococcus aurus</i>).	46

Figure 26	Les résultats d'antibogramme de l'extrait de <i>Lippia citriodora</i> pour 500mg/ml (1= <i>Bacillus cereus</i> ,2= <i>Entérocooccus faecalis</i> , 3= <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,4= <i>Salmonella sp</i> , 5= <i>Staphylococcus aureus</i>).	48
Figure 27	Les résultats d' <i>aspergillus niger</i> .	47
Figure 28	Les résultats d' <i>aspergillus flavus</i> .	49
Figure 29	Les résultats obtenus contre <i>Candida albican</i>	50
Figure 30	Résultats obtenus contre (A) <i>Aspergillus flavus</i> , (B) <i>Aspergillus niger</i> .	51
Figure 31	L'activité antifongique de <i>Lippia citriodora</i> contre la <i>Condida albican</i> .	52

Liste des abréviations

Le mot	L'abréviation
AMH	l'Agar de Muller Hinton
CCM	chromatographie sur couche mince
CFU	Unité formant colonie
CG/SM	Chromatographie en phase gazeuse couplé par la Spectrométrie de masse
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
D	Diamètre
DMSO	Le diméthylsulfoxyde
G+	Gram positif
G-	Gram négatif
HE	Huile essentielle
HPLC	Chromatographie à haute performance
MT	Médecine traditionnelle
NaCl	Chlorure de sodium
OMS	Organisation mondiale de la santé
pH	Potentiel d'Hydrogène
PDA	Potato dextrose

Table des matières

Introduction Générale

Partie I : Synthèse Bibliographique

I.1. Les plantes médicinales	3
I.1.1. Définition	3
I.1.2. Intérêt de l'étude des plantes médicinales	3
I.1.3. La phytothérapie.....	3
I.1.4. Avantages de la phytothérapie	4
I.2. Les métabolites secondaires.....	5
I.2.1. Définition des métabolites secondaires et leur rôle chez les végétaux	5
I.2.2. Classes des métabolites secondaires.	5
I.2.2.1. Les alcaloïdes	5
I.2.2.2. Les composés phénoliques	6
I.2.2.3. Les Terpénoïdes et les stéroïdes	6
I.2.3. Intérêt des métabolites secondaires	6
I.3. Les méthodes d'extraction, de séparation et d'identification des métabolites secondaires	7
I.3.1. Les techniques d'extractions	7
I.3.1.1. La décoction	7
I.3.1.2. La macération	7
I.3.1.3. Soxhlet.....	7
I.3.2. Les techniques d'analyses	9
I.3.2.1 La chromatographie en phase gazeuse	9
I.3.2.2. Spectrométrie de masse (SM).....	9
I.3.2.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)	10
I.4. La description des espèces végétales sélectionnées.....	11
I.4.1. Le clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	11
I.4.2. La verveine (<i>Lippia citriodora</i>).....	15

Partie II : matériel et méthodes

II.1. Le matériel végétal	19
II.1.1. Le choix des plantes.....	19
II.1.2. Préparation de la plante (feuilles de <i>Lippia citriodora</i>).....	20
II.1.3. Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal	20
II.1.4. Broyage et tamisage	21
II.1.5. Extraction.....	21
II.2. Etude qualitative et quantitative des extraits	22
II.3. L'activité antimicrobienne.....	23
II.3.1. L'activité antibactérienne.....	23
II.3.1.1 Les souches bactériennes testées.....	23
II.3.1.2. Les milieux de culture	24
II.3.1.3. Revivification microbiologique des souches bactérienne	24
II.3.1.4. Vérification de la pureté des souches bactériennes	24
II.3.1.5. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Syzygium aromaticum</i> et celui de <i>Lippia citriodora</i>	24
II.3.2.L'activité antifongique.....	28
II.3.2.1. Souches fongiques.....	28
II.3.2.2. Milieu de culture	28
II.3.2.3. Méthode de diffusion en milieu gélosé	28
II.3.2.4. Réactivation des espèces fongiques	28
II.3.2.5. La préparation des extraites.....	28
II.3.2.6. Ensemencement.....	29

Partie III : Résultats et discussion

III.1. Les extraits des plantes testés.....	30
III.1.1. Le taux d'humidité.....	30
III.1.2. Propriétés organoleptiques	31
III.2. Résultat d'Etude qualitative et quantitative des extraits	31

III.2.1. Etude qualitative et quantitative d' extrait de <i>Syzygium aromaticum</i>	31
III.2.2. Identification des pics	33
III.2.2.1. Pic numéro 10 : Caryophyllène.....	33
III.2.2.1.1. La carte d'identité.....	33
III.2.2.1.2. Domaine d'activité	34
III.2.2.2. Pic numéro 14 : Eugénol.....	34
III.2.2.2.1. La carte d'identité.....	34
III.2.2.3. Pic numéro 24 : Phenol, 2-metoxy-4-(2-propenyl)-, acetate (Eugénol acétate)	35
III.2.2.3.1. Carte d'identité.....	35
III.2.3. Etude qualitative et quantitative d' extrait de <i>Lippia citriodora</i>	36
1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1, 7-trimethyl-4-methylene-, [1ar-(1α, 4α, 7β, 7aβ, 7bα)]-	37
III.2.4. Identification des pics	38
III.2.4.1. Pic numéro 3 : 2,6octadienal, 3,7-dimethyl.(E) (α-Citral.).....	38
III.2.4.1.1. La carte d'identité.....	38
III.2.4.1.2. Domaine d'application	38
III.2.4.2. Pic numéro 7 : 3-allyl-6-methoxyphenol (Chavibetol).....	38
III.2.4.2.1. La carte d'identité.....	38
III.2.4.3. Pic numéro 22: Tetracosane.....	39
III.2.4.3.1. La carte d'identité.....	39
III.2.4.3.2. Application	39
III.3. Résultats des tests microbiologiques.....	39
III.3.1. Pouvoir antibactérien	39
III.3.1.1. Pouvoir antibactérien de l'extrait de <i>Syzygium aromaticum</i>	40
III.3.1.1.1. La concentration 100 mg/ml	40
III.3.1.1.2. La concentration 500 mg/ml	43
III.3.1.2. Pouvoir antibactérien de l'extrait de <i>Lippia citriodora</i>	45
III.3.1.2.1. La concentration 100 mg/ml	45
III.3.1.2.2. La concentration 500 mg/ml	47

III.3.2. Pouvoir antifongique	49
III.3.2.1. Pouvoir antifongique de l'extrait de <i>Syzygium aromaticum</i>	49
III.3.2.2. Pouvoir antifongique de l'extrait de <i>Lippia ciriodora</i>	51
Conclusion et perspectives	53
Les références bibliographiques	55
Annexes	61
Résumé	

Introduction

Depuis l'existence de l'homme sur terre ; il fait le recours aux ressources naturelles pour vivre. Au début, il a utilisé les plantes et les herbes comme source très essentielle pour sa nutrition mais à travers son expérience rudimentaire il a découvert que la flore peut avoir un effet thérapeutique «Les plantes médicinales font partie de l'histoire de tous les continents : en Chine et en Inde, à travers les siècles, le savoir concernant les plantes s'est organisé, documenté et a été transmis de génération en génération».

Le développement de la chimiothérapie et des recherches phytothérapeutiques facilitent l'identification des composants efficaces au niveau des plantes et permettent de donner leurs spécificités thérapeutiques. De ce fait, il paraît d'une part l'intérêt de les employer dans la fabrication des médicaments et de préciser les doses convenables lors de leurs utilisations. Et d'autre part, la capacité de fusionner la médecine traditionnelle avec la médecine et la pharmacologie moderne «Dans le domaine de la pharmacologie, les connaissances traditionnelles à base de plantes est devenu un outil reconnu dans la recherche de nouvelles sources de médicaments et de produits pharmaceutiques.

Les pratiques thérapeutiques des plantes médicinales ont été utilisées largement mais surtout le traitement de l'infection bactérienne et champignonneux vu que la bactérie possède la capacité de la résistance acquise. C'est un authentique problème de santé publique et on doit considérer la résistance aux antibiotiques comme une maladie émergente, due à deux évolutions contraires. La première, c'est que les bactéries évoluent naturellement vers la résistance et la multirésistance. On se retrouve donc de plus en plus face à des bactéries intraitables au sens propre, face à des impasses thérapeutiques. La deuxième, c'est qu'on ne voit pas arriver d'antibiotiques nouveaux, en partie parce que cette recherche n'est pas très incitative pour l'industrie pharmaceutique. Alors, il sera très important de trouver des antibiotiques naturels« les remèdes à base de plante présente d'immenses avantages en comparaison avec les traitements chimiques .en effet, leurs principes actifs sont toujours biologiquement équilibrés (du fait de la présence de substance annexe et de leurs liens réciproques), de sorte qu'en règle générale ils ne s'accumulent pas dans l'organisme et leur effets indésirables sont limités»³

Le présent travail a pour objectif ; la caractérisation de l'effet antimicrobien des extraits de deux plantes qui sont *Syzygium aromaticum* et *Lippia citriodora* qui sont généralement utilisés en médecine traditionnelle comme anti-inflammatoire, antalgique, antiproliférative, antioxydant et antimicrobien.

Une identification de ces deux extraits étudiés qui est basée sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse,

Ce mémoire comporte deux parties essentielles : La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique regroupant des généralités sur les plantes médicinales et la phytothérapie, une description botanique des espèces étudiées.

La deuxième partie est dédiée à la présentation du matériel et des protocoles expérimentaux utilisés pour l'extraction, la caractérisation des deux extraits étudiés, la recherche de leurs activités antimicrobiennes. Suivi des résultats des différents tests effectués ainsi que leurs interprétations.

Finalement nous avons terminé notre recherche par une conclusion générale sur notre étude.

Synthèse Bibliogra phique

I.1. Les plantes médicinales

I.1.1. Définition

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française comme une « drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisée, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais (**Sofowora, 2010**).

L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments.

I.1.2. Intérêt de l'étude des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Iserin, 2001**).

La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés (**Bruneton, 2009**).

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs (**Decaux, 2002**).

I.1.3. La phytothérapie

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques : « phuton » et « therapeia » qui signifient respectivement "plante" et "traitement" (**Souilah, 2018**).

C'est la thérapie qui se base sur les vertus thérapeutiques de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées par voie externe pour le traitement et la prévention des maladies ou pour la promotion de la santé.

La phytothérapie permet à la fois de traiter le terrain du malade et les symptômes de sa maladie. Le malade est pris en charge dans sa globalité afin de comprendre l'origine de ses symptômes et d'en prévenir leur apparition (**Bouzouita,2016**). Depuis 1987, la phytothérapie est reconnue à part entière par l'Académie de médecine (**Souilah ,2018**).

On peut la distinguer en deux types de pratiques :

➤ Une pratique traditionnelle, Très ancienne, cette pratique est basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement. Cette phytothérapie traditionnelle est considérée comme une MT et encore massivement employée dans les pays en voie de développement (en développement), selon l'OMS. C'est une médecine non conventionnelle du fait de l'absence d'étude clinique et scientifique (**Appoh ,2018**).

➤ Une pratique clinique basée sur les avancées et preuves scientifiques qui recherchent des extraits actifs dans les plantes. Les extraits actifs identifiés sont standardisés (**Appoh ,2018**). C'est une médecine de terrain dans laquelle le malade passe avant la maladie. Une approche globale du patient et de son environnement est nécessaire pour déterminer le traitement, ainsi qu'un examen clinique complet. Son mode d'action est basé sur un traitement à long terme agissant sur le système neuro-végétatif. Cette fois-ci les indications sont liées à une thérapie de complémentarité. Elles viennent compléter ou renforcer l'efficacité d'un traitement allopathique classique pour des pathologies aiguës d'importance modérée (infection grippale, pathologies O.R.L...). On va principalement agir sur les effets secondaires. On peut citer par exemple l'utilisation chez un vagotonique de la Lavande (*Lavandula angustifolia Mill.*) en usage interne pour ses effets anti-stress, calmant, et pour ses actions contre les crampes musculaires, ainsi que contre les troubles du sommeil (**Chabrier , 2010**).

I.1.4. Avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et

leur résistent de plus en plus. La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (**Iserin P, 1996**).

I.2. Les métabolites secondaires

I.2.1. Définition des métabolites secondaires et leur rôle chez les végétaux

Le métabolisme chez les végétaux est un processus très dynamique caractérisé par une synthèse et une dégradation des molécules pour assurer un équilibre cellulaire parfait.

Cependant, l'essentiel produit lors de ce métabolisme est orienté vers la synthèse de molécules vitales et impératives pour la structuration et le fonctionnement des cellules, ce sont les métabolites primaires tels que les protéines, les glucides, les lipides ainsi que les acides nucléiques (**Hopkins, 2003**), alors que d'autres voies de biosynthèse, dérivant du métabolisme primaire, non essentiel à la survie de la plante sont connues sous le nom de métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**).

Ces métabolites secondaires sont utiles dans l'interaction de la plante avec son environnement, étant considérés comme réponse aux différents facteurs de stress, ce qui permet le développement d'une résistance contre une attaque pathogène (**Sudha et Ravishankar, 2002**).

I.2.2. Classes des métabolites secondaires.

I.2.2.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des métabolites secondaires. Ils sont principalement composés d'azote et sont largement utilisés en médecine. Ils peuvent aussi être très toxiques. La morphine était le premier alcaloïde à être trouvé, elle provient de la plante de *Papaver somniferum*, ou le pavot à opium, utilisée comme analgésique chez les patients présentant des niveaux de douleur sévères et un antitussif (**Leslie, 2010**). Peut-être l'alcaloïde le plus aimé et connu est la caféine.

Bien que nous l'utilisions pour rester vigilants, il a des propriétés protectrices pour les plantes dont il provient: le cacao, le café et le thé (**Leslie, 2010**).

I.2.2.2. Les composés phénoliques

La définition des composés phénoliques prend en compte, à la fois des éléments structuraux et l'origine biogénétique des composés. Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Le ou les noyaux aromatiques peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimate, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques. Par ailleurs, la voie des polyacétates intervient chez les végétaux supérieurs pour des composés possédant déjà un noyau aromatique obtenu par la voie des shikimates. Les composés obtenus sont dits mixtes (flavonoïdes) **(Bruneton, 1993)**.

I.2.2.3. Les Terpénoïdes et les stéroïdes

Issus des mêmes précurseurs, et formés à partir de l'assemblage d'unités à 5 carbones ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (polymères de l'isoprène), les terpénoïdes et les stéroïdes constituent probablement la plus large classe de composés secondaires. Comme les dérivés des acides gras, tels les acétogénines, les terpènes ont pour origine biosynthétique l'acétyl CoA ou le malonyl CoA. Néanmoins, ils ne sont pas spécifiques des végétaux puisque le squalène, le cholestérol ou encore des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent chez les animaux. Cependant, l'extrême diversité des terpénoïdes chez les végétaux contraste avec le petit nombre détecté chez les animaux **(Tyler, 1881)**.

I.2.3. Intérêt des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont d'un intérêt majeur en raison de leurs différentes fonctions et leurs activités biologiques impressionnantes allant d'antimicrobien, antibiotique, insecticides, propriétés hormonales à pharmacologique très importante **(Stockigt et al., 1995)**.

Un large éventail de stimuli externes est capable de déclencher des changements dans la cellule végétale, ce qui conduit à une multitude de réactions, entraînant finalement la formation et l'accumulation des métabolites secondaires qui aide la plante à éliminer les facteurs de stress **(Sudha et Ravishankar, 2002)**.

I.3. Les méthodes d'extraction, de séparation et d'identification des métabolites secondaires

I.3.1. Les techniques d'extractions

I.3.1.1. La décoction

La décoction consiste à maintenir la plante avec de l'eau potable à ébullition pendant une durée de 15 à 30 minutes. Ce procédé est approprié pour les plantes de consistance dure ou très dure (bois, racines, écorces) (**Bensalek ,2018**).

I.3.1.2. La macération

Dans cette méthode la matière végétale broyée est mise dans un récipient fermé en présence d'un solvant d'extraction pendant au moins 3 jours sous agitation et à température ambiante. L'opération est bien généralement lente et à rendement souvent moyen mais c'est la seule méthode utilisable pour l'extraction de molécules fragiles (thermosensibles). Une macération efficace peut durer environ 3 à 10 jours ce qui implique quelques inconvénients: fermentation ou contamination bactérienne (dans le cas où le solvant utilisé est l'eau) ce qui entraîne une dégradation rapide des molécules actives (**Guenfissi ,2012**).

I.3.1.3. Soxhlet

• Définition

L'extracteur de Soxhlet, ou l'appareil de Soxhlet ou bien tout simplement le soxhlet est un appareil portant le nom de son inventeur qui consiste à extraire les matières grasses d'un solide (en général) par une extraction par solvant. Il s'agit donc d'une extraction solide-liquide continue (**Vahatr'aina ,2009**).

• Principe et appareillage

- Un appareil Soxhlet est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. L'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction.

- Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant.

- Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant.

- Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche.

- La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide de l'appareil appelé Rotavapor (Penchev,2010).

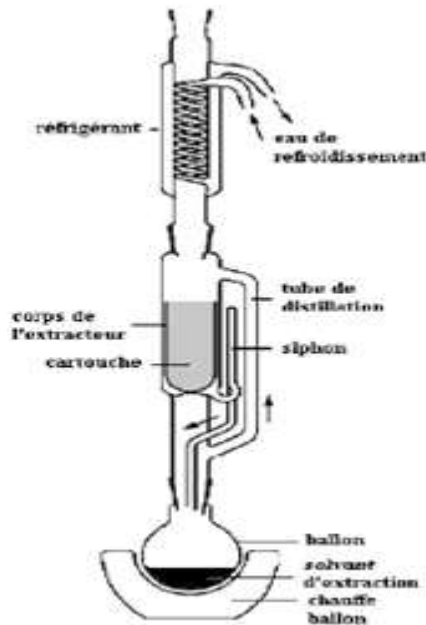


Figure 1: Schéma de l'extracteur la soxhlet (BenRahal, 2018).

Il existe d'autres techniques comme : L'infusion, Entraînement à la vapeur ou hydrodistillation, Extraction par solvant...

I.3.2. Les techniques d'analyses

I.3.2.1 La chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse est une technique de séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptible d'être vaporisés par chauffage sans décomposition .elle est employée en générale pour l'analyse des de molécules thermostables, volatil ou semi volatil, non ou moyennement polaires(**El mrabet**)

Elle reste la méthode de choix pour de nombreuses analyses lorsqu'il s'agit de séparer les composés d'une matrice complexe (**Zaffani, 2013**).

L'utilisation de phase stationnaire de mieux en mieux adaptés à l'analyse des mélanges complexes telles que les huiles essentielles à permis à cette technique de devenir la méthode la plus utilisée dans les laboratoires analytique .la chromatographie en phase gazeuse (CPG) permet conjointement et l'identification et la quantification des composés. Cependant l'un des problèmes majeur de la CPG est la reproductibilité des temps de rétentio n d'un appareil à un autre ou d'une colonne à l'autre. Même si elles sont de nature identique .toutefois l'introduction des indices de rétentio n a permis de faire des meilleures identifications. Le calcul de cet indice peut se faire pour une expérimentation à température constante par interpolation logarithmique indice de kovatis (IK) , ou en programmation de température par interpolation linéaire indices de rétentio n ou indice de Van Den Dool et kartz (IR). L'indice de rétentio n est caractéristique de chaque composé et du type de la colonne (**Zaffani, 2013**).

I.3.2.2. Spectrométrie de masse (SM)

La spectrométrie de masse (SM) est parmi toutes les techniques analytiques, celle dont le domaine d'application est le plus étendu. En effet, Elle permet la mesure de la masse moléculaire d'une substance et d'obtenir des données structurales. Cette méthode mesure les rapports masse-sur-charge (m/z) de molécules ionisées ainsi que de leurs produits de fragmentation (**Canon, 2010**).

Elle peut fournir des informations concernant la composition élémentaire d'un échantillon.la structure des molécules inorganiques et biologiques ; la composition qualitative et quantitative des mélanges complexes, etc....

Une analyse par SM comprend les étapes suivantes :

- Atomisation de l'échantillon ;
- Conversion d'une fraction importante des atomes formés pendant la première étape en ion (habituellement porte une seule charge positive) ;
- Séparation des ions formés à la deuxième étape sur la base du rapport de leur masse à leur charge ;
 - Détermination de la population d'ions de chaque espèce par comptage ou par mesure du courant résultant de l'arrivée des ions à un transducteur adéquat. Ce dernier convertit le faisceau d'ions en signal électrique qui peut être traité et stocké dans la mémoire d'un ordinateur(Mouhi ,2017).

I.3.2.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)

Le but de combiner entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM, après séparation chromatographique, est d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique. Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (I_r) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectre(Lakhdar, 2015).

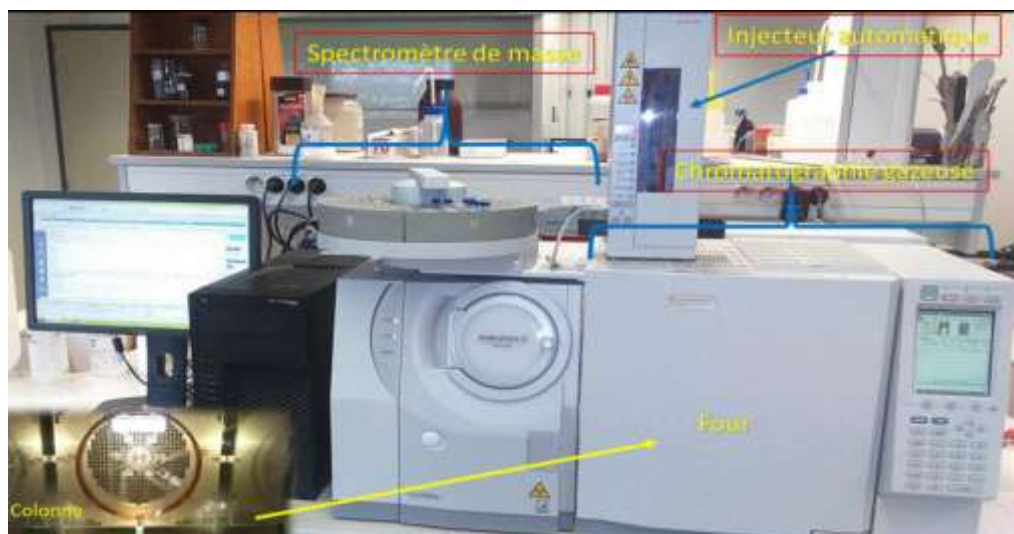


Figure 2: Appareillage de CPG/SM

I.4. La description des espèces végétales sélectionnées

I.4.1. Le clou de girofle (*Syzyguim aromaticuim*)

Le clou de girofle est l'une des épices les plus anciennes et les plus célèbres, et ses graines ressemblent à des ongles, et c'est la partie la plus utilisée, sa couleur rouge vire au brun lorsqu'il devient sec. Ses graines séchées sont utilisées comme épice dans nombreux aliments et comme condiment pour le café arabe.



Figure 3: Le clou de girofler

❖ Classification

Règne : Plante

Sous-règne : Trachéobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidae

Ordre : Myrtale

Famille : Myrtaceae

Genre : Syzyguim

Nom binomiale : *Syzyguim aromaticuim*. (Amrani ,2018).

Comme beaucoup d'espèces, le girofler a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *syzyguim aromaticuim*. (Sophie , 2015).

- *Caryophyllus aromaticus* L (1753)
- *Eugenia caryophyllata* Thunb.(1788)
- *Eugenia caryophyllus* Spreng.(1825)
- *Eugenia aromaticia* (L.) Baill.(1876)

- *Jambosa caryophyllus* (Thunb.) Nied.(1839)
- *Syzygium aromaticum* (L.) Merr.L.M.Perry,(1939)

Actuellement, les noms *syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tout les deux employées(Sophie, 2015).

❖ Description botanique

Syzygium aromaticum est un grand arbre, d'une hauteur moyenne de 10 à 12 m, qui peut atteindre jusqu'à 20 m de haut, à port pyramidal et au tronc gris clair ridé. Ses feuilles, de 8 à 10 cm de long (Tembely, 2020), il est toujours vert. L'*Eugenia aromaticia* commence seulement à produire des **clous de girofle** (boutons floraux) à partir de l'âge de 20 ans, il est encore productif pendant une cinquantaine d'années (description cg 2020).

Le giroflier présente un port érigé et pyramidal, Son feuillage est aromatique, coriace, persistant vert sombre et vernissé au revers plus clair. Ses feuilles sont opposées, entières, elliptiques, d'environ 10-12 cm à nervure médian marquée et parsemées de glandes sur le revers



Figure 4: Arbre de Giroflier de Madagascar.

Les fleurs sont disposées en cymes terminales (figure 2) de 25 fleurs environ, formant 3 fourches (figure3) .Elle se présente sous la forme d'un long pédoncule, petite fleur à l'extrémité des rameaux, à 4 pétales (blanc-rosé) pompon Duveteux d'étamines blanches saillantes, les fleurs à 4 pétales blanc rosé sont caractérisées par leurs sépales rouges persistants.



Figure 5: Aspect morphologique de giroflier **Figure 6:** Fleur de giroflier

Ce sont les boutons floraux cueillis avant épanouissement que l'on appelle les clous de girofle et l'huile essentielle qui est utilisée pour leurs vertus thérapeutiques ; Les fruits du giroflier sont des baies pourpres comestibles.

La récolte des clous de girofle se fait au moment où ils contiennent le plus d'essence (lorsqu'ils sont roses et les pétales pas encore ouverts). Ces clous sont récoltés, après 6 à 8 ans de culture de l'arbre, 2 fois par an. Ce sont des boutons auxquels on ôte le pédicelle manuellement et que l'on met sécher au soleil jusqu'à ce qu'ils deviennent brun rouge.

Boutons floraux appelés « clous ».

Les racines, les rameaux, les feuilles, les fleurs et les fruits contiennent tous une HE dont la composition diffère. Par exemple l'HE des feuilles contient seulement 2 à 3 % d'eugénol. L'huile essentielle de girofle provient de la distillation des boutons de giroflier traités à la vapeur.

❖ Répartition géographiques

Syzygium aromaticum c'est le bouton séché de la fleur du giroflier, un arbuste originaire d'Indonésie et des Philippines (**le livre**). Aujourd'hui le premier producteur mondial de clou de girofle est l'île de Zanzibar, en face de la Tanzanie. L'arbre est présent un peu partout dans l'océan indien de l'île Maurice jusqu'à Madagascar (**Hérand, 1909**).

❖ Culture

C'est une plante de croissance lente et difficile de culture. Sa Multiplication est essentiellement par graines, elle possède une faculté germinative très faible, mais germent très facilement si la graine est fraîche (Boukhatem, 2017).

Le girofle est une espèce caractéristique des régions de basses altitudes (0-300m) au climat tropical humide sans saison sèche marquée ; Le girofle est peu exigeant quant à la qualité des sols, S'il n'aime pas les sols sableux, il s'adapte très bien aux sols ferrallitiques tropicaux dessaturés (Penot et al,2014).

❖ Utilisation traditionnelle

Traditionnellement, les clous de girofle étaient utilisés pour le traitement des maux de dents, de la bouche, de la gorge, de l'inflammation de la muqueuse buccale et de la mauvaise haleine. En usage externe contre le rhumatisme, les myalgies (douleurs musculaires), la sciatique et anesthésiant local dans les soins des plaies. Par voie orale, les clous de girofle sont utilisés dans le traitement des troubles digestifs, ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations et flatulences(Boukhatem,2017).

❖ Propriétés

Le clou de girofle possède des propriétés qui sont dues essentiellement à l'eugénol qu'il est rapidement métabolisé et excrété, et considéré comme non cancérigène. Il peut être présent dans les aliments jusqu'à une concentration de 1500 ppm.

➤ **Activité antifongique** : les huiles essentielles de clou de girofle possèdent une activité puissante antifongique contre les pathogène fongique opportuniste, comme le *candida albicans* le *cryptococcus neoformans* ou *Aspergillus fumigatus*(Mittal et al ,2014).

➤ **Activité antibactérienne** : Plusieurs études ont démontré de puissants effets antibactériens du clou de girofle. L'activité inhibitrice du clou de girofle est due à la présence de plusieurs constituants, principalement l'eugénol, l'acétate d'eugényle, le -caryophyllène, le 2-heptanone, l'acétyl-eugénol, le α -humulène, le salicylate de méthyle, l'iso-eugénol, le méthyl-eugénol, les phénylpropanoïdes, déhydrodieugénol, trans-confiréryl aldéhyde, biflorine, kaempférol, rhamnétine, myricétine, acide gallique, acide ellagique et acide oléanolique. Ces composés peuvent dénaturer les protéines et réagir avec les phospholipides de la membrane cellulaire, modifiant leur perméabilité. Burst et Reinders 2003, ont trouvé que l'huile de clou de

girofle était efficace contre les souches non toxigènes d' *E. coli* O157:H7. De même, dans une autre étude, l'huile de clou de girofle s'est révélée active contre les bactéries à Gram positif d'origine alimentaire (*S. aureus*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*) et les bactéries à Gram négatif (*E. coli*, *Y. enterocolitica*, *S. choleraesuis*, *P. aeruginosa*). Demirpek et al, 2009 ont montré que des extraits aqueux et éthanoliques de clous de girofle inhibent la croissance d'isolats cliniques résistants à la méthicilline à des concentrations de 1000 et 500 mg/ml. Les isolats étaient multi résistants aux médicaments, principalement contre les bêta-lactamines, les aminosides, les tétracyclines, les fluoroquinolones et les antibiotiques macrolides. Dans une autre étude, l'eugénol à 2 g/mL a inhibé la croissance de 31 souches d' *Helicobacter pylori*, après 9 heures d'incubation, qui est plus puissante que l'amoxicilline et ne développe pas de résistance (Bhowmik et al,2012).

➤ **Antalgique (eugénol)** : l'huile essentielle de Clou de Girofle contient de l'eugénol. Cette molécule est plus puissante que la lidocaïne, un anesthésique local agissant sur la transmission des informations nerveuses. Autrement dit, l'eugénol bloque la transmission de la douleur. L'huile essentielle est notamment efficace contre les douleurs dentaires. (Chagra,2019).

➤ **Anti-inflammatoire** : l'huile de clou de girofle clarifie les voies respiratoires, agissant comme un expectorant pour le traitement de nombreuses affections des voies respiratoires supérieures y compris le rhume, les orgelets, la bronchite, les sinus, les maladies, la toux et l'asthme (Bhowmik et al, 2012).

I.4.2. La verveine (*Lippia citriodora*)

La verveine est une herbe aromatique qui est caractérisée par un parfum très agréable rappelant l'odeur du citron avec un goût délicieux. Elle a été utilisée en médecine alternative en raison des valeurs nutritionnelles et des propriétés qu'elle possède.



Figure 7: Les fleurs de la verveine.

❖ Classification botanique

Règne : Plante

Division : Magnoliophyta

Sous règne : Trachéobionta

Sous classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Verbénacées

Genre : *Lippia*

Espèce : *Lippia citriodora*. (Fellah et Mouaïci, 2015).

• Cette espèce possède des autres synonyme comme : *La verveine odorante*, *Aloysia triphylla*, *verveine citronnelle* (Belkamel, 2018).

❖ Description botanique

La verveine odorante est un arbuste vivace qui pousse rapidement et peut atteindre dans les meilleures conditions 2 à 3 mètres de hauteur. Ses tiges, droites ramifiées en branches étroites et minces, portent des feuilles entières et lancéolées, un peu rugueuses, caduques en hiver. Elles sont groupées par trois, d'où le qualificatif latin de *triphylla*. D'une couleur vert jaunâtre, elles dégagent un parfum citronné prononcé. Au cœur de l'été, de juillet à septembre, apparaissent à l'extrémité des tiges des longues grappes qui réunissent de nombreuses petites fleurs, blanches, violettes ou rougeâtres (Belkamel, 2018).

❖ Répartition géographique

Lippia citriodor est originaire du Chili et a été introduit en Europe vers 1784. Cette plante pousse spontanément en Amérique du Sud, notamment en Argentine et au Chili (Jalal, 2020).

❖ Culture

Lippia citriodora introduit et cultivé sur le pourtour méditerranéen (midi de la France et Afrique du Nord). La verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés comme plante aromatique et ornementale, ainsi que pour ses feuilles, utilisées en phytothérapie. Celles-ci sont récoltées à la fin de l'été. Elle s'accommode sur tous les types des sols et exige une quantité d'eau importante. La verveine odorante s'acclimite d'un sol perméable, bien drainé et des endroits ensoleillés ou semi- ombragés, abrités des vents froids. Elle exige un sol frais en été, sans excès d'humidité qui entraîne la pourriture de ses racines. Elle doit être paillée en hiver pour la protéger du gel, car elle ne supporte pas les températures inférieures à 4 °C. (Fellah et Mouaici, 2015).

❖ Utilisation traditionnelle

La plupart des espèces sont traditionnellement utilisées comme remèdes gastro intestinaux et respiratoires. Les parties utilisées de la plante sont les feuilles, les parties aériennes et les fleurs. L'infusé de feuille de verveine odorante est consommé traditionnellement dans l'ensemble de l'Amérique centrale et de l'Amérique du sud, en Afrique tropicale et dans certains pays européens comme traitement gastro-intestinal et sont considérées comme particulièrement efficace pour le traitement des douleurs stomacales et l'indigestion. La verveine odorante peut également être consommée pour ses propriétés antispasmodiques ainsi que pour lutter contre la fièvre. Les feuilles peuvent également être utilisées comme assaisonnement dans certaines préparations culinaires (Lenoir ,2011).

❖ Propriétés

➤ Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne in vitro de la verveine citronnelle et des micro-organismes employés évalués par le plus long du diamètre des zones d'inhibition.

L'huile essentielle a montré une activité antibactérienne intéressante contre *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*. Aucune activité antibactérienne n'a été observée contre *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* et *Escherichia coli*(Hanaa et al, 2011).

➤ **Activité antioxydante**

Un extrait de verveine odorante standardisé à 25% de verbascoside a montré une forte activité antioxydant dans un milieu lipophile, ce qui pourrait indiquer une capacité à piéger les radicaux libres au niveau des membranes biologiques.

Les extraits des feuilles d'*A. triphylla* ont une importante activité antioxydant qui est due à la présence des composés phénoliques tels que les flavonoïdes.

L'étude indique que les antioxydants contenus dans les extraits des feuilles d'*A. triphylla* sont capables de piéger les radicaux libres et réduire les oxydants (Abdi et Lahouel, 2020).

Selon Roulier (1990), l'huile essentielle de verveine odorante est **anti inflammatoire articulaire et antirhumatisme**. Elle est aussi calmante du système nerveux, antispasmodique, notamment dans les coliques hépatiques, antinévralgique et stimulant immunitaire en synergie avec d'autres huiles essentielles, tel que, le niaouli (Belkamel et al, 2018).

Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biologie (SNV) centre universitaire Abdelhafid Boussouf Mila.

II.1. Le matériel végétal

II.1.1. Le choix des plantes

➤ Girofle

Le matériel ou l'organe végétal choisi dans la présente étude est représenté par les graines sèches du girofle (*Syzygium aromaticum*).

Les clous de girofle ont été achetées, sous forme séchée, chez un arboriste au niveau de marché couvert au centre-ville de Mila. Elles ont été récupérées dans un sac propre pour servir ultérieurement à l'extraction.



Figure 8: Le clous de girofle utilisé

➤ Verveine

Le matériel végétal utilisé est composé des feuilles de *Lippia citriodora*. Ces organes ont été cueillis en Aout 2020. Cette plante a été récoltée dans la région de Baba Rabah Mila - Algérie).



Figure 9: La verveineutilisée

II.1.2. Préparation de la plante (feuilles de *Lippia citriodora*)

Le matériel végétal a été ensuite découpé puis séché à l'air libre, mais à l'abri de la lumière directe du soleil, et à température, les feuilles sèches ont été pulvérisées au broyeur pour obtenir une poudre fine.

II.1.3. Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal

Selon la méthode décrite par Belgaid et chikhoun (2013), le taux d'humidité est évalué selon la formule suivante :

$$H\% (\text{moy}) = \left(\frac{m_1 - m_2}{100} \right) * 100$$

m1 : masse de l'échantillon avant dessiccation (g)

m2 : masse de l'échantillon après dessiccation (g)

h% : teneur en eau

Mais pour l'élimination totale de l'humidité, Nous avons mis les deux espèces dans l'étuve de 40°C 3 fois successives notant qu'on les a pesés avant chaque opération.

Le poids de démarrage est 100g des deux plantes, après les deux premiers jours dans l'étuve ; le poids de *Lippia citriodora* devenu 93.5g et celui de *Syzygium aromaticum* devenu 95.3g. Mais dans les deux dernières opérations le poids reste stable. De ce fait, Nous avons confirmé l'élimination de l'humidité.

II.1.4. Broyage et tamisage

Les matières sèches obtenues ont été réduites en poudre à l'aide d'un broyeur électrique. Les poudres obtenues après broyage ont été passées au tamiseur.

II.1.5. Extraction

Pour l'obtention de l'extrait de des plantes nous avons utilisé la technique de soxhlet (figure).



Figure 10: Extraction par le soxhlet (C.U.Mila)

L'extracteur est placé sur un ballon contenant 400ml l'hexane (solvant d'extraction). Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire (35g de poudre de *Lippia citriodora*) est insérée dans l'extracteur, au dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche, nous avons laissée le soxhlet en marche 5h .

Nous avons répété la même opération avec le *Syzygium aromaticum* seulement pour ce dernier, le soxhlet a travaillé 3 h.

La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide de Rotavapor.

II.2. Etude qualitative et quantitative des extraits

L'étude qualitative et quantitative des extraits est réalisée par une CPG/SM :

L'analyse chromatographique est effectuée avec une chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse de type Shimadzu QP2010 de type EL 70 év quadripole au laboratoire pédagogique de la faculté SNV de l'université de Jijel. Cependant, les conditions d'analyse par CPG/ SM sont :

- Caractérisation de la colonne : OV1701
- Longueur de la colonne : 25 m
- Nature de gaz vecteur : hélium h2
- Volume d'injection : 1 µl
- Température d'injection : 250.00°C
- Mode d'injection : Split
- Température du four à colonne : 55.0°C
- Flux de colonne : 0.77ml/min
- Mode de contrôle de flux : vitesse linéaire
- Pression : 24.6 KPa
- Débit total : 17.4 ml/min
- Vitesse linéaire : 35.0 cm/sec
- Flux de purge : 1.2ml/min
- Rapport de division : 20.0
- Injection haute pression : fermer
- Economiseur de gaz porteur : fermer
- Séparateur : fermer
- Programme de température du four (tableau suivant)

Tableau 1: Programme de température de four

Taux	Température (en degré celsius)
-	55.0
3.0	120.0
5.0	220.0

❖ Identification des pics

L'identification des pic s'effectue avec un logiciel chemstation installé sur l'ordinateur relié avec CPG/SM (figure 11)



Figure 11: CPG/SM faculté SNV univertité de Jijel

II.3.L'activité antimicrobienne

II.3.1.L'activité antibactérienne

II.3.1.1Les souches bactériennes testées

L'activité antibactérienne des deux extraits () a été testée sur des souches de références appartenant à l'American Type Culture Collection (ATCC).L'ensemble de ces souches sont décrites dans le tableau

Tableau 2: Tableau descriptif des différentes souches bactériennes testées.

Les bactéries testées	Gram
<i>Escherichia coli</i> ATCC	Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	Négatif
<i>Salmonella</i>	Négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif
<i>Bacillus cereus</i> ATCC	Positif
<i>Enterobacter</i>	

II.3.1.2. Les milieux de culture

Les différents milieux de culture utilisés pour l'activité antibactérienne sont rassemblés dans le tableau suivant

Tableau 3: Tableau descriptif des milieux de culture utilisés

Milieu de culture	Utilisation
Gélose de Muller Hinton (MH)	Etude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens
Gélose nutritive (GN)	Repiquage des colonies
Bouillon Nutritif (BN)	Revivification et enrichissement des souches bactériennes testées

II.3.1.3. Revivification microbiologique des souches bactérienne

Afin de pouvoir utiliser les souches bactériennes testées, elles ont été revivifiées dans le bouillon nutritif ; pour cela un repiquage dans de tubes contenant du BN à été effectué à partir des milieux de conservation des souches, ces tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24h.

II .3.1.4. Vérification de la pureté des souches bactériennes

Les souches bactériennes testées ont été repiquées à partir des cultures contenues dans le BN sur le milieu gélose nutritive (GN), suivies d'une incubation à 37°C pendant 24h.

II.3.1.5. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *Syzygium aromaticum* et celui de *Lippia citriodora*

• Pré-enrichissement des souches bactériennes

A partir des tubes de BN contenant les souches revivifiées, un pré-enrichissement a été effectué sur un milieu d'isolement (GN) pour chacune des souches.

Afin d'obtenir des colonies bien isolées qui serviront à la standardisation de l'inoculum, l'ensemencement a été réalisé par la méthode des quadrants. Ensuite l'incubation des boîtes de Pétri se fait à 37°C pendant 18h préférablement et au plus tard 24h afin d'obtenir des colonies jeunes en phase de croissance exponentielle.

• Préparation des suspensions bactériennes

Une suspension bactérienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mc Farland (10^8 UFC.mL⁻¹) a été préparée à partir d'une culture pure et jeune (âgée de 18h).

- A l'aide d'une anse de platine, racler quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir des boîtes de Pétri ensemencées précédemment;
- Déposer les colonies dans un volume d'eau physiologique stérile à 0,9% de chlorure de sodium (NaCl);
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne;
- Réaliser une standardisation de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur longueur d'onde de 625nm et la densité optique est ajustée à 0,08 – 0,10.
- Cette densité mesurée à 625nm est équivalente à 108 UFC/ml (**Haddouchi *et al.*, 2016**).
- L'ajustement de l'inoculum bactérien se fait en fonction de la charge: Soit par ajout de la culture si la DO est faible ou de l'eau physiologique stérile s'il est trop chargé.
- L'ensemencement doit se faire en moins de 15 min après la préparation de l'inoculum.

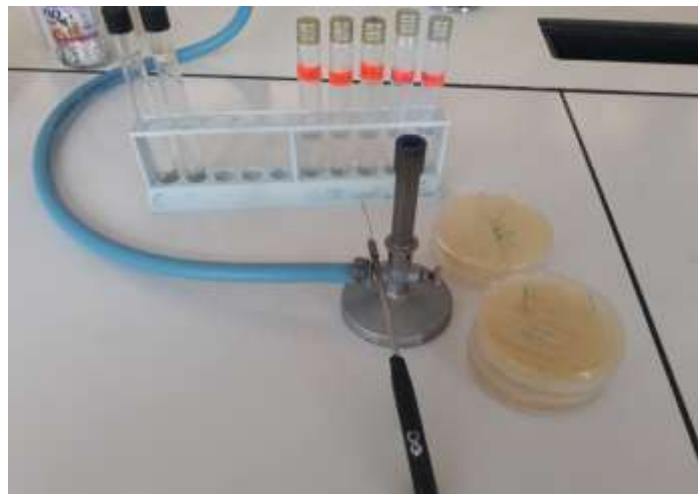


Figure 12:Préparation des suspensions bactériennes

• Evaluation de l'activité antibactérienne

L'étude a été réalisée par méthode de diffusion sur gélose, conçue initialement pour les antibiotiques, par des disques imprégnés d'extraits (Figure 13), appelée aromagramme ou encore méthode des disques.

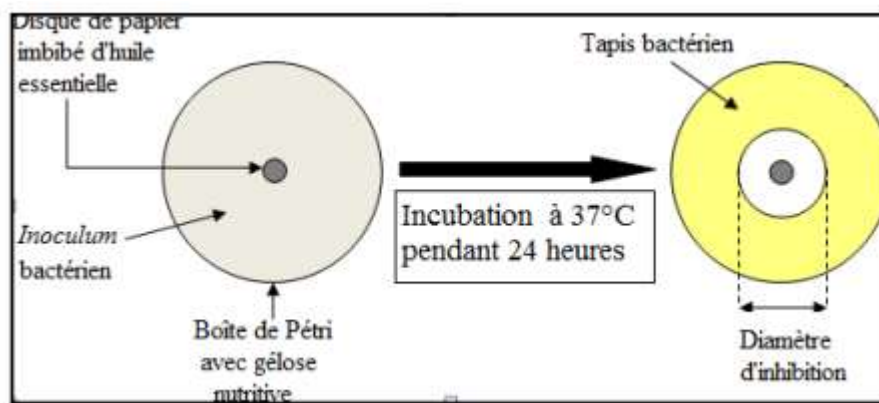


Figure 13: Principe de la méthode de diffusion par disques (Guinoiseau, 2010)

Cette méthode est reconnue comme fiable et reproductible, en plus de ça, elle constitue surtout aussi une étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs (Dima, 2016). Elle permet également de mettre en évidence l'effet antimicrobien des extraits et de déduire la résistance et la sensibilité des souche microbiennes (Amara *et al.*, 2017)

Le protocole suivi est celui décrit par Haddouchi *et al.*, (2016), qui est réalisé comme suit:

- Des géloses de Mueller Hinton (MH) coulées dans des boites de Pétri sontensemencées uniformément à l'aide d'une micropipette de 100 μ l de chaque suspension bactérienne standardisée, celles-ci ont été étalée à l'aide d'un râteau de pipette Pasteur.

- Des disques de papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre, imprégnés avec 5 μ l d'une préparation d'extrait additionnée de DMSO à raison de 5% (v/v) ont été laissées sécher pendant quelques instant (pas trop longtemps pour éviter l'évaporation de l'extrait).

- Pour chaque souche bactérienne testée, ces disques ont été déposés au milieu des boites de Pétri contenant les gélosesensemencées.

- D'autres disques chargés de 5 μ l de DMSO ont été déposés dans des boites de géloses MH préalablementensemencées de chaque souche bactérienne testée, pour servir de témoins négatifs.

- Les témoins positifs ont été réalisés par dépôt de disques d'antibiotiques dans des boitesensemencées avec les suspensions bactériennes standardisées. Le test a été répété deux fois (figure 14).



Figure 14:Disposition des disques imprégnés

-L'incubation des boîtes se fait dans l'étuve à 37°C pendant 24h (figure).



Figure 15:Incubation des souches

La lecture des résultats s'est faite 24 heures après l'incubation par la mesure des diamètres des zones d'inhibition, ceci en mesurant la moyenne des deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque, qui sont ainsi déterminés comme un halo translucide autour du disque à l'aide d'une règle en (mm).

Suivant le diamètre de la zone d'inhibition exprimé en (mm) autour de chaque disque, la lecture des résultats est faite comme suit (**Djabou et al., 2013**):

- Résistante (-): diamètre ≤ 8 mm.
- Modérément sensible (+): diamètre compris entre 8 et 14mm.
- Sensible (++) : diamètre compris entre 14 et 20mm.
- Extrêmement sensible (+++): diamètre > 20 mm.

II.3.2.L'activité antifongique

II.3.2.1. Souches fongiques

Les souches fongiques sont issues à partir des prélèvements du sol (*Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*) et la levure : *Candida albicans*

II.3.2.2. Milieu de culture

Nous avons utilisé le milieu de culture gélose Sabouraud parce que c'est le milieu le plus employé pour le développement des champignons.

II.3.2.3. Méthode de diffusion en milieu gélosé

L'évaluation de l'activité antifongique des deux extraites est réalisée par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des champignons.

II.3.2.4. Réactivation des espèces fongiques

Les moisissures ont été réactivées sur un milieu PDA pendant 7 jours à une température de 28°C avant le test.

II.3.2.5. La préparation des extraites

100 mg d'extrait a été dissous dans 1 ml de DMSO (solution mère), et après une homogénéisation, des concentrations de cette solution (100, 75,50 et 25 ul) ont été dispersés dans des tubes contenant le milieu de culture déjà préparé et stérilisé (figure 17)



Figure 16: Préparation des dilutions

II.3.2.6. Ensemencement

L'ensemencement consiste à prélever des cylindres d'agar de 6mm de diamètre de culture jeune de champignons (de 7 jours) sur la gélose PDA et de les déposer sur un milieu sabouraud mélangé avec les différentes concentrations des extraits. L'ensemble a été incubé à 28°C pendant 7 jours.

Résultats et discussion

III.1. Les extraits des plantes testés

III.1.1. Le taux d'humidité

Avant d'évaluer le taux d'humidité nous avons effectué des pesés sur les feuilles de *Lippia citriodora* et clou de giroflier *Sizyguim aromaticuim*, le tableau 10 présente les résultats de ces pesés :

Tableau 4: Le traitement de l'humidité.

Echantillon	1 ^{ère} pesée(g)	2 ^{ème} pesée	3 ^{ème} pesée
Les feuilles de <i>Lippia citriodora</i>	100 g	95,7g	95,7g
Le clou de giroflier <i>Sizyguim aromaticuim</i>	100g	96,2 g	96,2g

Le taux moyen d'humidité pour les feuilles de *Lippia citriodora* est de 4,3%, Ceci signifie que la majeure partie du poids des feuilles de la plante étudiée est constituée de matière sèche.

Le taux moyen d'humidité pour le clou de *Sizyguim aromaticuim* est de 3,8 %, Ceci signifie que la majeure partie du poids des clous étudiée est constituée de matière sèche.

Le stockage des plantes médicinales ou leurs extraits avec une teneur d'eau élevée cause sa pourriture et l'oxydation de ces molécules bioactifs donc le séchage des plantes avant leur extraction est obligatoire.

Les teneurs finales en eau et les isothermes de sorption afin d'éviter la dégradation des plantes médicinales et permettre leur stockage après séchage. De tels paramètres sont utiles pour l'industrie agro-alimentaire. La connaissance de telles informations permet de sécher les plantes médicinales dans des conditions qui assurent leur conservation à long terme tout en gardant leurs huiles essentielles et leurs molécules bioactives, leurs couleurs, leurs odeurs et par suite leurs qualités nutritionnelles (Idlimam A et al ,2008).

III.1.2. Propriétés organoleptiques

Les propriétés organoleptiques de ces deux extraits sont représentées dans le tableau 11

Tableau 5: Propriétés organoleptiques des deux extraits obtenus

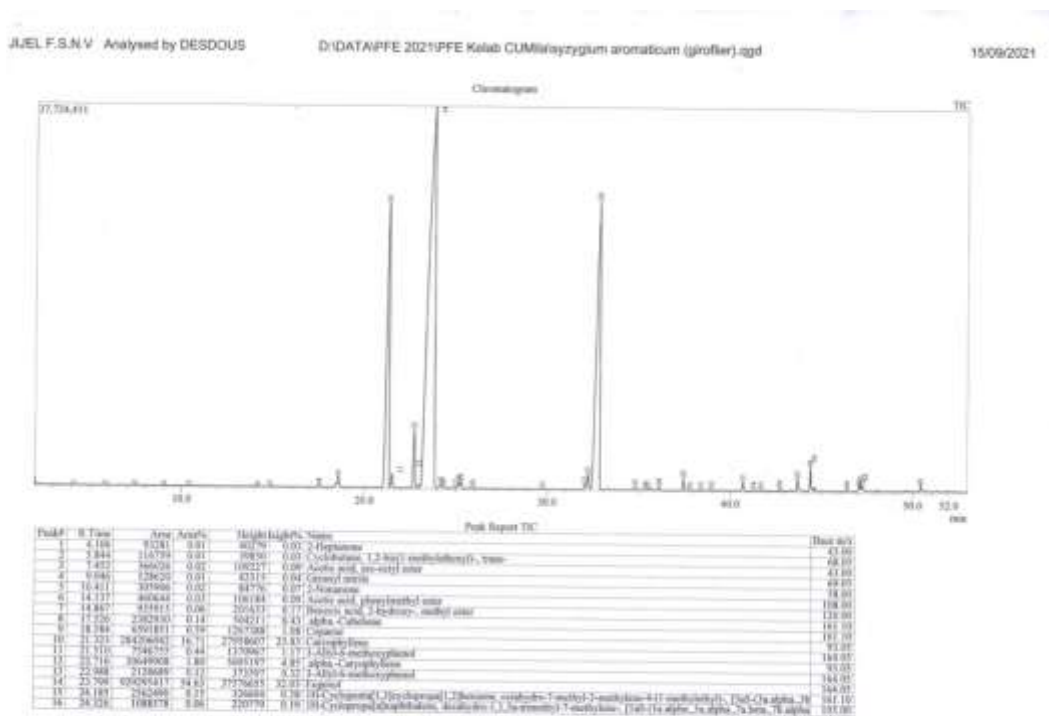
Les extrait de :	Couleur	Odeur	Aspet
<i>Lippia citriodora</i>	Verte	Peu intense	Pateuse
<i>Syzygium aromaticum</i>	Jaunâtre	très intense et forte.	Peu liquide ,visqueux

III.2. Résultat d'Etude qualitative et quantitative des extraits

III.2.1. Etude qualitative et quantitative d' extrait de *Syzygium aromaticum*

Les résultats de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) des deux extraits sont regroupés dans le tableau qui met en relief le temps de rétention, l'identification des différents composants et leur teneur.

45 composés ont été identifiés. Les composés majoritaires d'extrait de *Syzygium aromaticum* btenués : Eugenol (54.63%), Eugenol acetate (21.57%),caryophyllene (16.71%).



Peak#	R-Time	Area	Area%	Height	Height%	Name	MW
17	28.817	327149	0.02	92792	0.08	Naphthalene, 1,2,3,4,5,6,8-hexahydro-7-methyl-4-oxo-1H-1H-indole-1(1H)-ylidene, [(1S)-2-phenyl-2-butyl-3-phenyl-]	161.20
18	29.171	2866725	0.17	836670	0.85	alpha-Terpinene	136.20
19	29.236	27771107	0.22	811087	8.43	Naphthalene, 1,2,4,5,6,8-hexahydro-1,4-dimethyl-2-(1-methyl-1H-indol-1-ylidene)-, [(1S)-2-phenyl-2-butyl-3-phenyl-]	181.19
20	29.430	891548	0.05	99763	0.09	Naphthalene, 1,2,3,4,5,6,8-hexahydro-7-(2-dimethyl-4(1-methyl-1H-indol-1-ylidene)-	180.80
21	29.562	573823	0.03	82575	0.07	Benzobicyclo[1.4.0]heptane-1,4-dimethyl-	131.20
22	32.800	1368070	0.18	35913	8.44	Phenyl 1-methoxy-4-(2-propenyl) acetate	184.04
23	32.822	895688	0.05	122122	1.40	Carvaglydole oxide	81.09
24	32.823	3590157	0.27	2584780	31.81	Phenyl 1-methoxy-4-(2-propenyl) acetate	184.04
25	34.811	327571	0.04	30151	3.28	Longipendulone, none	156.05
26	35.382	286584	0.03	106183	0.08	1H-indene, 1-(2-butyl-1,3-dimethyl-2-phenyl)	221.00
27	35.529	428128	0.03	119243	0.10	1,5-A,10-C-cyclohexanone, 3,7,11-trimethyl-14(1-methyl-1H-indol-1-ylidene)-, [(1S)-2-phenyl-2-butyl-3-phenyl-]	31.05
28	36.116	1943556	0.11	442639	8.18	Arachidic acid, methyl 5-hydroxy-10-phenyl-	304.91
29	37.468	812267	0.09	1086147	8.93	2,2',3'-trimethylpiperazine	116.09
30	37.814	461969	0.04	71744	0.36	Humulone, 1,7-(1,1,1,2-tetraethyl-1,2-ethanedithio)	371.00
31	38.809	695569	0.04	171241	3.15	Humulone	371.00
32	38.986	1168875	0.07	25827	0.20	Benzyl Hexanoate	156.05
33	40.703	366160	0.03	228386	0.71	Hexadecanoic acid, methyl ester	242.00
34	41.202	1020359	0.06	186300	0.18	9,10-Cyclohexan-21-one-1,21-diol, 3-isomer, (3R,6S)-2,3,6-	74.00
35	41.711	862288	0.05	124642	0.11	1,7-Dioxaspiro[5.5]undecane-21-one-1,21-diol, 3-isomer, (3R,6S)-2,3,6-	121.00
36	41.721	1158085	0.07	240418	0.91	Decanoic acid, methyl ester	144.00
37	43.708	647669	0.08	121038	1.08	n-Hexadecanoic acid	256.00
38	44.402	1018457	0.09	207567	1.89	6-Chlorohexanoic acid, methyl ester	159.00
39	44.615	749701	0.08	27594	0.22	Decanoic acid	172.00
40	46.398	1518808	0.09	222540	0.28	Tricosanoic acid	338.00
41	47.042	1024311	0.08	287147	0.28	n-Octadecanoic acid, methyl ester	256.00
42	47.117	137501	0.01	66803	0.52	8,12-Dichlorohexanoic acid (Z,Z)-	238.00
43	47.275	487661	0.03	10811	0.15	Octadecanoic acid	256.00
44	47.488	277819	0.03	168908	0.14	1,1,1,3-Tetrachlorohexanoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-	298.00
45	50.427	438155	0.08	348022	0.47	Hexadecanoic acid, methyl ester	256.00
		179118614	100.00	11713258	100.00		

Condition and Method

CUMS Microdata QP2010 de type EI MS quadrupole
 column OV1701 (2.0m)
 BidsMethanex_Micro
 gas venturi He
 volume inject: 1ul

----- Analytical Data -----

GC-MS100
 Column Oven Temp: 70.0 °C
 Injection Temp: 250.00 °C
 Injection Mode: Split
 Flow Control Mode: Linear Velocity
 Pressure: 11.7 kPa
 Total Flow: 18.8 mL/min
 Column Flow: 8.80 mL/min
 Linear Velocity: 17.9 cm/sec
 Purge Flow: 1.2 mL/min
 Split Ratio: 20:1
 High Pressure Injection: OFF
 Carrier Gas Inlet: OFF
 Splitter Hold: OFF
 Oven Temp Program:

Time	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	70.0	1.00
3.0	130.0	8.00
3.0	240.0	1.00

< Ready Check Item Unit >
 Column Oven Yes
 SPLIT Yes
 MS Yes
 < Ready Check Detector (FID) >
 < Ready Check Baseline (Std) >
 < Ready Check Injection Flow >
 SPLIT Carrier Yes
 SPLIT Purge Yes
 < Ready Check APC Flow >
 < Ready Check Detector APC Flow >
 External Vent No
 Equilibration Time 3.0 min

[GC Program]
 InletSourceTemp 250.00 °C
 InletFlowTemp 250.00 °C
 Select Gas Valve 3.00 min
 Detector Gas Mode Relative
 Detector Gain 0.00 kV
 Threshold 1000

[MS Table]
 Orms 1
 Start Time 2.00min
 End Time 35.00min
 ACQ Mode Scan
 Interval 0.50sec
 Scan Speed 100
 Start m/z 40.00
 End m/z 250.00

Sample Inlet Unit GC

[MS Program]
 Use MS Program OFF

[Similarity Search Parameters]
 File (Min. Size) C:\GCMS\Software\Library\MSLIB.LIB
 File (Max. Size) C:\GCMS\Software\Library\MSLIB.LIB
 Search Depth Via PreSearch
 Max Hit 25
 Delete the same Compounds OFF
 Binary Search OFF
 -- Post-search -- OFF
 Option (Match Case) OFF

Dans le tableau suivant nous avons mentionné que les composés importants.

Tableau 6: caractéristique des principaux composés d' extrait de *Syzygium aromaticum* identifiés par GC/SM.

N°de pic	Temps de rétention	Pourcentage de la surface	Composés identifiés
9	18.584	0.39	Copaene
10	21.323	16.71	Caryophyllene
11	21.510	0.44	3-allyl-6-methoxyphenol
12	22.716	1.80	Alpha-caryophyllene
14	23.799	54.63	Eugenol
23	32.222	0.53	Caryophyllene oxide
24	32.823	21.57	Phenol,2-metoxy-4-(2-propenyl)-, acetate

D'après le tableau 12 l'analyse par CG-SM montre que la composition chimique d'extrait *Syzygium aromaticum* obtenu est riche en monoterpènes et en sesquiterpènes.

III.2.2. Identification des pics

III.2.2.1. Pic numéro 10 : Caryophyllène

III.2.2.1.1.La carte d'identité

- Famille biochimique : carbures sesquiterpéniques
- Formule brute : C₁₅H₂₄
- Synonymes : β-caryophyllène, trans-caryophyllène
- Autre dénomination : (1R,4E,9S)-4,11,11-triméthyl-8-méthylidènebicyclo[7.2.0]undéc-4-ène
- Masse molaire : 204 g/mol
- Température d'ébullition : 262 à 264°C
- Point d'éclair : 96°C
- Structure chimique :

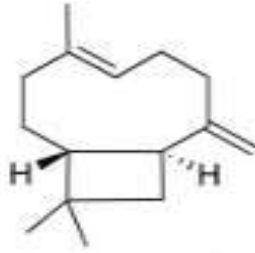


Figure 17: La structure chimique de caryophyllène

III.2.2.1.2. Domaine d'activité

Le b-caryophyllène s'est avéré réduire la mélanogénèse en inhibant l'activité de la tyrosinase intracellulaire. Nous pensons que la modulation de la transduction du signal mélanogène peut être responsable de l'activité modulatrice du b-caryophyllène. Par conséquent, les lysats cellulaires.

On peut en déduire que le b-caryophyllène réprime l'expression des gènes liés à la tyrosinase, mais n'inhibe pas l'activité de la tyrosinase in vitro (Yang C et al, 2015).

III.2.2.2. Pic numéro 14 : Eugénol

III.2.2.2.1. La carte d'identité

- Famille biochimique : phénols monoterpéniques
- Formule brute : C₁₀H₁₂O₂
- Autre dénomination : 2-méthoxy-4-(2-propényl)-phénol
- Masse molaire : 164,2 g/mol
- Température d'ébullition : 254°C
- Point d'éclair : 110°C
- La structure chimique :

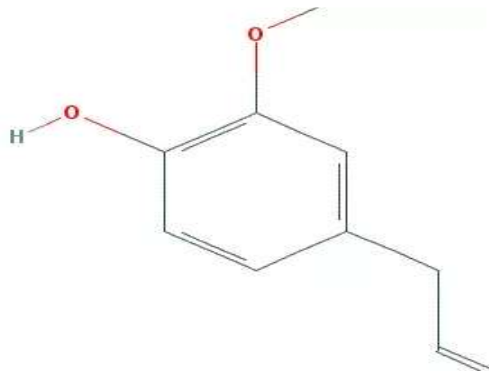


Figure 18: La structure chimique de l'eugénol

III.2.2.2. Domaine d'activité

- Activité microbienne : Inhibition des bactéries : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteridis*, *Mycobacterium avium*, *Brucella sp.*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas*, *Enterobacter aerogenes*, *Lactobacillus*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* ,
- Inhibition des champignons : *Candida albicans*, *Trichophyton*, *Fusarium*, *Aspergillus flavus*, *Clostridium botulinum*, etc ;
- Inhibition de la synthèse des radicaux libres par les leucocytes ;
- Effet antioxydant, effet sur les thrombocytes Limitation de l'agrégation plaquettaire, Effet anti thrombotique, Inhibition de la cyclo-oxygénase thrombocytaire (effet comparable à l'acide acétylsalicylique et de l'indométacine) et inhibition, de la thromboxane B2.

III.2.2.3. Pic numéro 24 : Phenol, 2-métoxy-4-(2-propenyl)-, acetate (Eugénol acétate)

III.2.2.3.1. Carte d'identité

Formule : C₁₂H₁₄O₃

SOURIRE : C=CCc1ccc(OC(C)=O)c(OC)c1

Poids moléculaire : 206,24

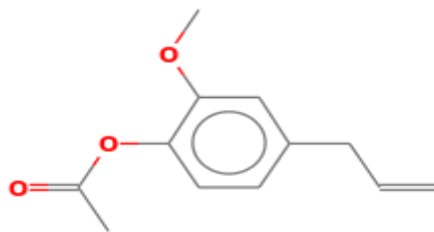


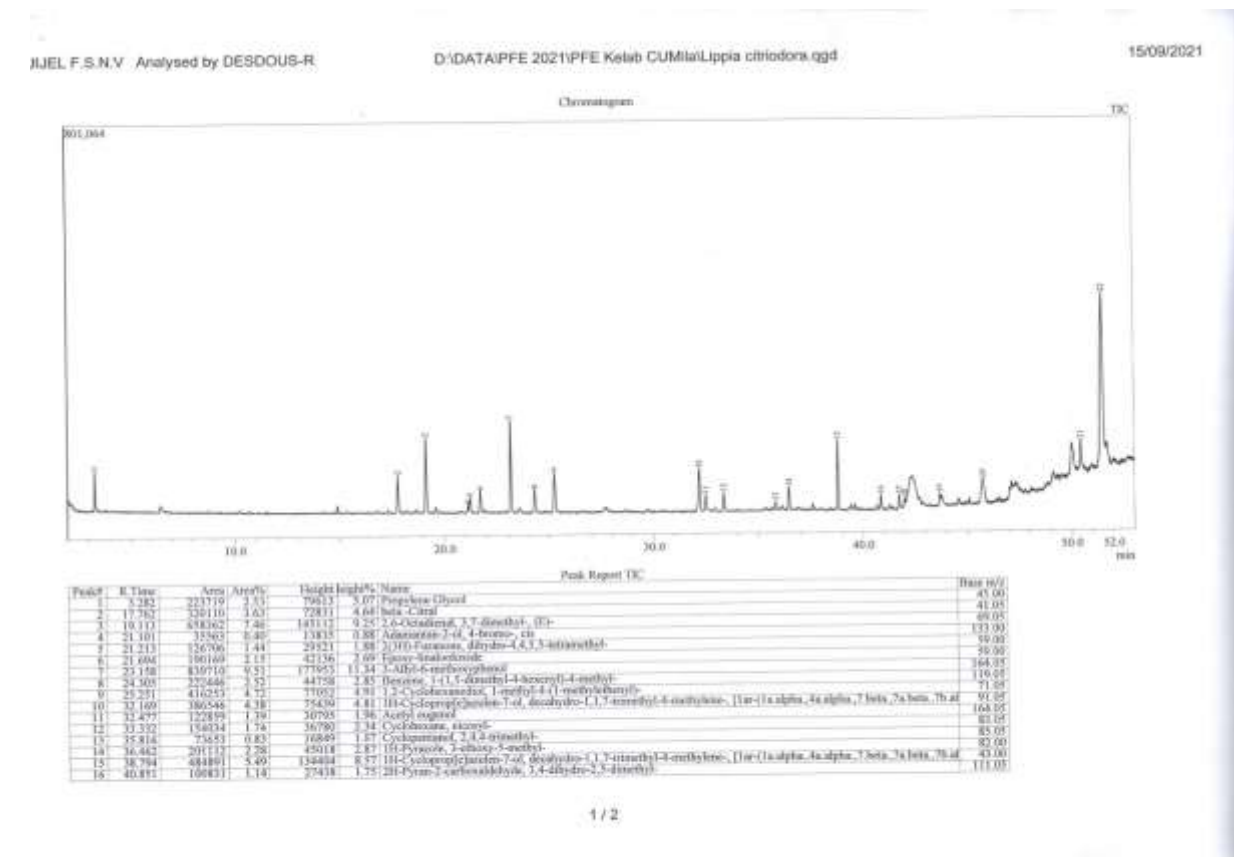
Figure 19: La structure d'eugénol acétate

Lors de notre recherche sur les travaux réalisés par (**Chagra Kh et al ,2019**),(**Fellah .A , Moudaici.N**)et (**Ghedira . K et al ,2010**) concernant les composants de *Syzygium aromaticum* , nous avons trouvé que les résultats sont semblables . Du fait que l'élément actif majoritaire est l'eugénol. Alors nous avons validé que notre méthode d'extraction est efficace.

III.2.3. Etude qualitative et quantitative d' extrait de *Lippia citriodora*

Les résultats de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) de *Lippia citriodora* sont regroupés dans le tableau qui met en relief le temps de rétention, l'identification des différents composants et leur teneur.

22 composés sont identifiés. Les composés majoritaires de l'extrait des feuilles de *Lippia citriodora* obtenue sont : Tétracosan (36.54%), Chavibitol (9.51%), (α - Citral 7.46%)



Peak#	R. Time	Area	Area%	Height (Height%)	Name	Base (1/1)
17	41.732	102216	1.16	27016	1.72 1,2-Benzene dicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	146.00
18	41.996	52373	0.60	19108	1.22 Kaurin-28-ol, 17-acetylol-, (4 beta)-	41.05
19	43.678	91945	1.04	24261	1.55 n-Hexadecanoic acid	73.00
20	45.728	90065	1.04	48792	3.11 4,2,5,7-Tetramethylheptan-1,3-diol, 2-oxo-1-ylidene-3-oxo-2-oxo-	135.00
21	50.427	291169	3.27	41252	1.98 Hexanoic acid, bis(2-ethylhexyl) ester	139.00
22	51.437	1225472	16.54	139116	21.61 Tetracosane	17.05
		8827293	100.00	1389042	100.00	

Dans le tableau suivant nous avons mentionné que les composés importants.

Tableau 7: caractéristique des principaux composés d' extrait de *Lippia citriodora* identifiés par GC/SM.

N°de pic	Temps de rétention	Pourcentage de la surface	Composée identifiés
2	17.762	3.36	Beta-citral
3	19.113	7.46	2,6octadienal, 3,7-diméthil.(E)
7	23.158	9.51	3-allyl-6-méthoxyphenol
15	38.794	5.49	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1, 7-triméthyl-4-méthylène-, [1ar-(1a α , 4a α , 7 β , 7a β , 7b α)]-
20	45.728	5.47	4-(2,7,7-triméthylbicycol[3.2.0]hept-2-en-1-yl)but-3-en-2-one
22	51.457	36.54	Tetracosane

D'après le tableau13 l'analyse par CG-SM montre que la composition chimique d'extrait de *Lippia citriodora* de la région de Baba rabahobtenu est riche en un alcalin et des monoterpene.

A travers les recherches faites sur les composants bioactives du *Lippia citriodora* réalisées par (Ivanović M et al ;2018), (Skaltsa Het al ,1987)et (Cruza D et al ,2010), nous avons constaté une différence au niveau des résultats obtenus car chaque travail montre que les composants se différent par rapport aux autres puisqu'il dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, la géographie, la période de récolte, les pratiques culturelles, la technique d'extraction, etc. (Silano & Delbò , 2008); (Marzoukia et al ,2009).

III.2.4. Identification des pics

III.2.4.1. Pic numéro 3 : 2,6octadienal, 3,7-diméthil.(E) (α -Citral.)

III.2.4.1.1. La carte d'identité

- Formule: C₁₀H₁₆O
- Poids moléculaire: 152.2334
- Structure Chimique: C₁₀H₁₆O

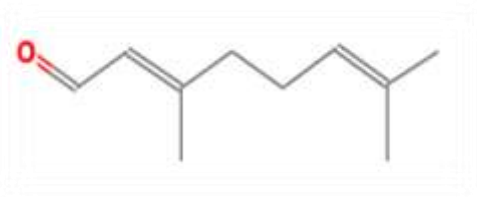


Figure 20: La structure chimique de α -Citral

III.2.4.1.2. Domaine d'application

Le citral a une forte odeur de citron (agrumes) et est utilisé comme composé aromatique en parfumerie. (Le nérol, un autre composé de parfumerie, a une odeur de citron moins intense mais plus douce.) De plus, le Citral peut donc avoir un usage conservateur en plus de ses autres usages dans les industries alimentaires, savonneuses et cosmétiques. En outre est d'après les recherches réalisés par (Onawunmi G,1989) qui affirme leur activité comme principal composant antimicrobien

III.2.4.2. Pic numéro 7 : 3-allyl-6-méthoxyphénol (Chavibetol)

III.2.4.2.1. La carte d'identité

- Formule: C₁₀H₁₂O₂
- Poids moléculaire: 164.2011
- Structure Chimique: C₁₀H₁₂O₂
- T° ébullition : 254 °C

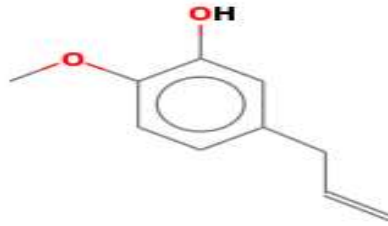


Figure 21: La structure chimique de chavibetol

III.2.4.3. Pic numéro 22: Tétracosane

III.2.4.3.1. La carte d'identité

- Formule moléculaire : $C_{24}H_{50}$
- Poids moléculaire (g/mol) : 338.65



Figure 22: La structure chimique de Tétracosane

III.2.4.3.2. Application

Le tétracosane est le solvant approprié utilisé dans la synthèse des nanoparticules de ZnS. Il peut être utilisé comme composant de cire pour étudier la réduction du point d'écoulement de solvants hydrocarbonés contenant des cristaux de cire lors de l'ajout d'additifs polymères.

III.3. Résultats des tests microbiologiques

Beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antimicrobien des produits naturels extraits des plantes.

III.3.1. Pouvoir antibactérien

Lors de cette étude, nous avons testé l'action des deux extraits de deux espèces végétales vis-à-vis de quelques souches bactériennes. L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par (Poncea A et al, 2003)

Ils ont classé le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne comme suit :

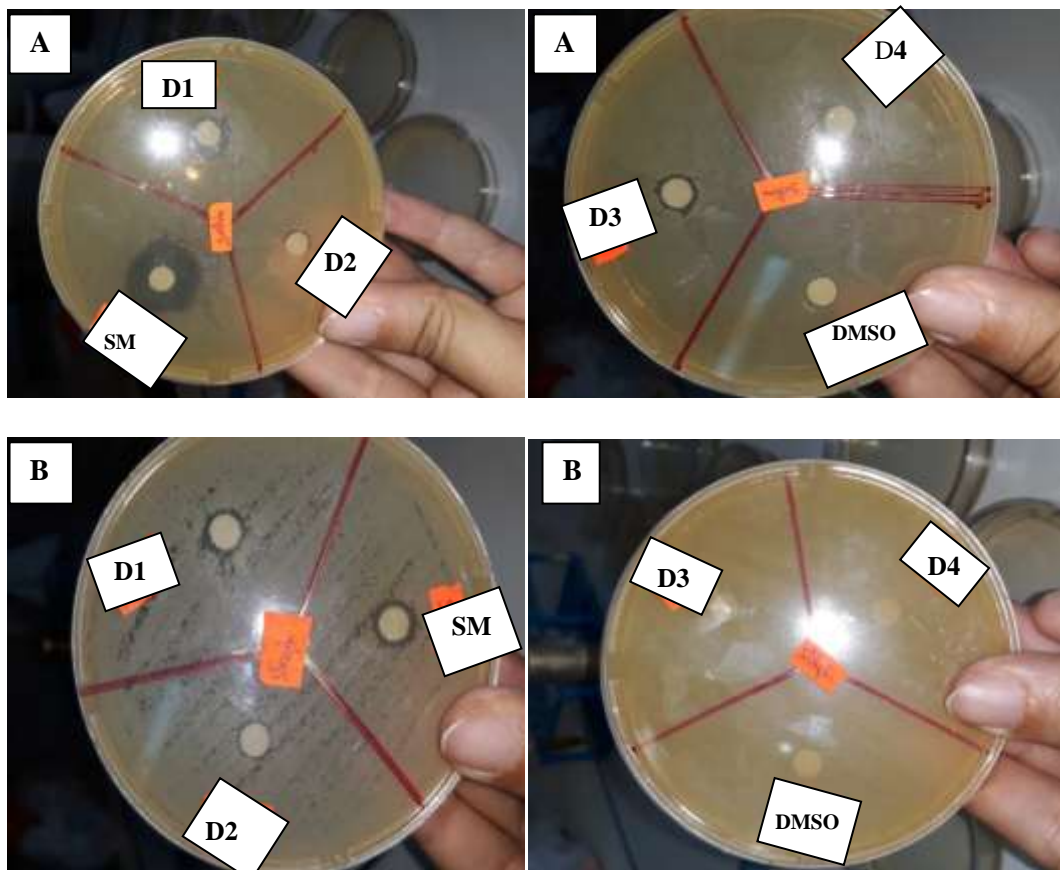
- Non sensible (-) : $D \leq 8$ mm
- Sensible (+) : $9 \leq D \leq 14$ mm
- Très sensible (++) : $15 \leq D \leq 19$ mm
- Extrêmement sensible (+++) : $D \leq 20$ mm

III.3.1.1. Pouvoir antibactérien de l'extrait de *Syzygium aromaticum*

III.3.1.1.1. La concentration 100 mg/ml

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés de l'extrait et leurs différentes dilutions étudiées ont été mesurées.

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 23:



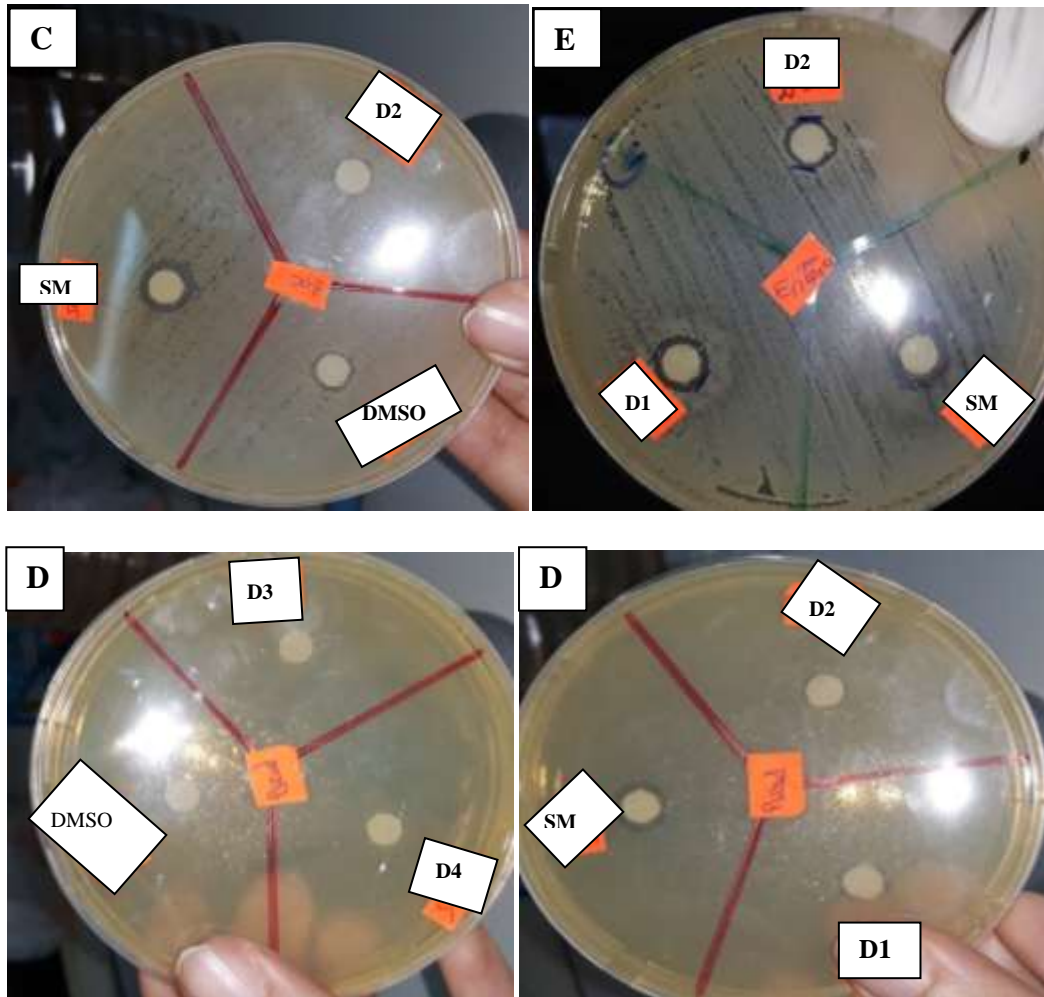


Figure 23: Les résultats d'antibiogramme de l'extrait de *Syzygium aromaticum* pour 100mg/ml(A=*selmonella sp*, B=*staphylococcus aurus*,C= *Bacillus cereus* ,D=*Pseudomenas aerginosa* ,E= *Entéroccoccus faecalis*).

Les résultats présentés sur les figures 23 montrent que l'extrait de *Syzygium aromaticum* aux niveaux de la solution mère possède un effet antibactérien avec toutes les souches utilisées .sachant que cet extrait donne une bonne activité contre *la salmonella sp* par rapport aux autres souches bactériennes. Notant qu'avec les dilutions de l'extraits, l'activité contre la salmonella a gardé sa présence jusqu'a la dilution 3 mais cette activité est disparu dés la première dilution avec les autres souches.

Le tableau 09 regroupe les valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition d'extrait et leurs différentes dilutions de la plante étudiée.

Tableau 8: les valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition d'extrait et leurs différentes dilutions de *Syzygium aromaticum*(100mg/ml)

	Dilutions				
	SM	D1	D2	D3	D4
<i>Salmonella sp</i>	16	12	10	8	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9.5	7	6	6	6
<i>Entérocooccus faecalis</i>	9.5	8	7	6	6
<i>Bacillus cereus</i>	9	7	6	6	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	7.5	6.5	6	6

SM: la solution mère = 100 mg/ml ; **D1** = 50 mg/ml ; **D2** = 25mg/ml ; **D3** =12.5 mg ; **D4**=6.25mg/ml.

-Pour la *salmonella spl* l'extrait de *Syzygium aromaticum* avec les différentes concentrations montre des diamètres d'inhibition de 16 mm et (12-10-8-7mm) respectivement.

Selon l'échelle donnée par (Poncea A et al , 2003), la bactérie est très sensible (++) à la solution mère de l'extrait mais sensible (+) à la dilution (1 - 2) et non sensible(-) pour la dilution (3-4)

-Pour les autres souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Entérocooccus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) l'extrait de *Syzygium aromaticum* avec les différentes dilutions montre des diamètres d'inhibition de (9.5, 9.5, 9,9) mm respectivement pour la solution mère et de valeur égale ou moins de 8 pour les autres dilutions.

Selon l'échelle donnée par (Poncea A et al.. , 2003), les bactéries sont sensibles (+) à la solution mère de l'extrait mais non sensibles (-) pour toutes les dilutions.

- Il faut mentionner que les boites d'antibiogramme d'*Escherichia coli* ont été contaminées.

III.3.1.1.2. La concentration 500 mg/ml

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés de l'extrait avec les différentes dilutions étudiées ont été mesurées.

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 24:

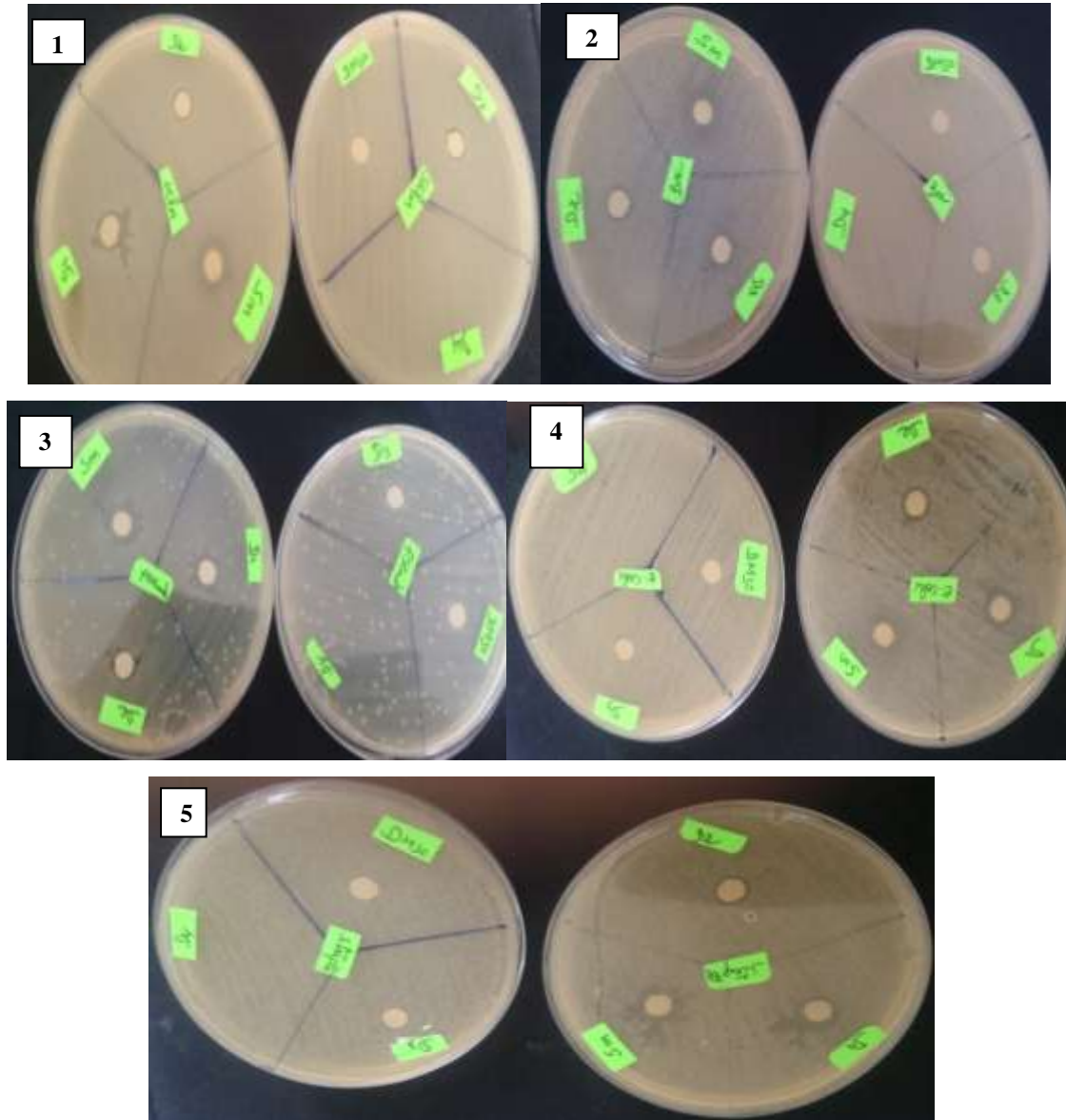


Figure 24: Les résultats d'antibiogrammes de l'extrait d *Syzygium aromaticum* pour 500mg/ml (1=*selmonella sp*,2= *Bacillus cereus* ,3=*Pseudomenas aerginosa* ,4=*Echerichia coli* ,5=*staphylococcus aureus*).

Les résultats présentés sur la figure 24 montrent que l'extrait de *Syzygium aromaticum* avec le changement de concentration de 100mg/ml à 500mg/ml donnent aussi un effet antibactérien avec toutes les souches, sachant que cette concentration a donné un bon résultat avec l'espèce *Bacillus cereus*.

Tableau 9: Les valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition d'extrait et leurs différentes dilutions (500mg/ml).

	Les dilutions			
	SM	D1	D2	D3
<i>Salmonella sp</i>	10.5	7	6.5	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	8	7.5	7
<i>Echerichia coli</i>	9.5	9	8.5	7
<i>Bacillus cereus</i>	14	9.5	8	7.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	10.5	9	8	7

SM : La solution mère = 500mg/ml ; **D1** = 250 mg/ml ; **D2** = 125mg/ml ; **D3** = 62.5mg/ml.

➤ Pour l'espèce *Bacillus cereus* l'extrait de *Syzygium aromaticum* et leur dilution montre des diamètres d'inhibition de 14 mm avec la solution mère et (9.5-8-7.5mm) respectivement.

Selon l'échelle donnée par (Poncea A et al, 2003), la bactérie est très sensible (++) à la solution mère de l'extrait mais sensible (+) à la dilution 1 et non sensible(-) pour la dilution 2 et 3

➤ Il faut mentionner que la souche *Entérocooccus faecalis* a été contaminée.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait de *Syzygium aromaticum* présente un effet antibactérien sur toutes les souches testées soit les G+ (annexe) (*Bacillus cereus* ; *Entérocooccus faecalis* ; *Staphylococcus aureus*) soit les G- (annexe) (*Escherichia coli* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Salmonella sp*).

Plusieurs travaux notamment ceux de (Belgaid S et al , 2013),(Bouguerra A ,2012), ont confirmé la grande résistance des bactéries G- par rapport aux G+. Mais nos résultats montrent que la souche de *salmonella sp* à G- dans la concentration 100mg/ml et la souche *Bacillus*

cereus a G- dans la concentration 500mg/ml sont les plus sensibles par rapport aux souches à G+. Ces résultats ont été confirmés par les travaux réalisés par (Ghedira.K et al , 2010) qui indiquent que l'eugénol a une activité antibactérienne élevée, de ce fait l'action antibactérienne de *Syzygium aromaticum* est importante.

Le mode d'action de l'eugénol est expliqué par (Pandima Devi . K et al ,2010), le principal mécanisme d'action de l'eugénol est une rupture de la membrane cytoplasmique, qui augmente sa perméabilité non spécifique. Cette hyperperméabilité est suivie d'une fuite d'ions et d'une perte importante d'autres contenus cellulaires, y compris les protéines intracellulaires et aboutit finalement à la mort cellulaire. Les résultats ont également démontré la propriété chimiotactique de l'eugénol pour *Salmonella typhi*. Les médicaments qui ciblent et détruisent les membranes bactériennes sont attrayants en raison de la probabilité réduite que les bactéries soient capables de générer une résistance à ce mécanisme. Il existe des preuves considérables des résultats que l'eugénol peut être utilisé comme thérapies préventives ou thérapeutiques pour l'infection à *Salmonella typhi*. ça ce qui confirme nos résultats (Pandima Devi . K et al ,2010)

III.3.1.2. Pouvoir antibactérien de l'extrait de *Lippia citriodora*

III.3.1.2.1.La concentration 100 mg/ml

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour du disque imprégné de l'extrait avec les différentes dilutions étudiées ont été mesurées.

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 25:

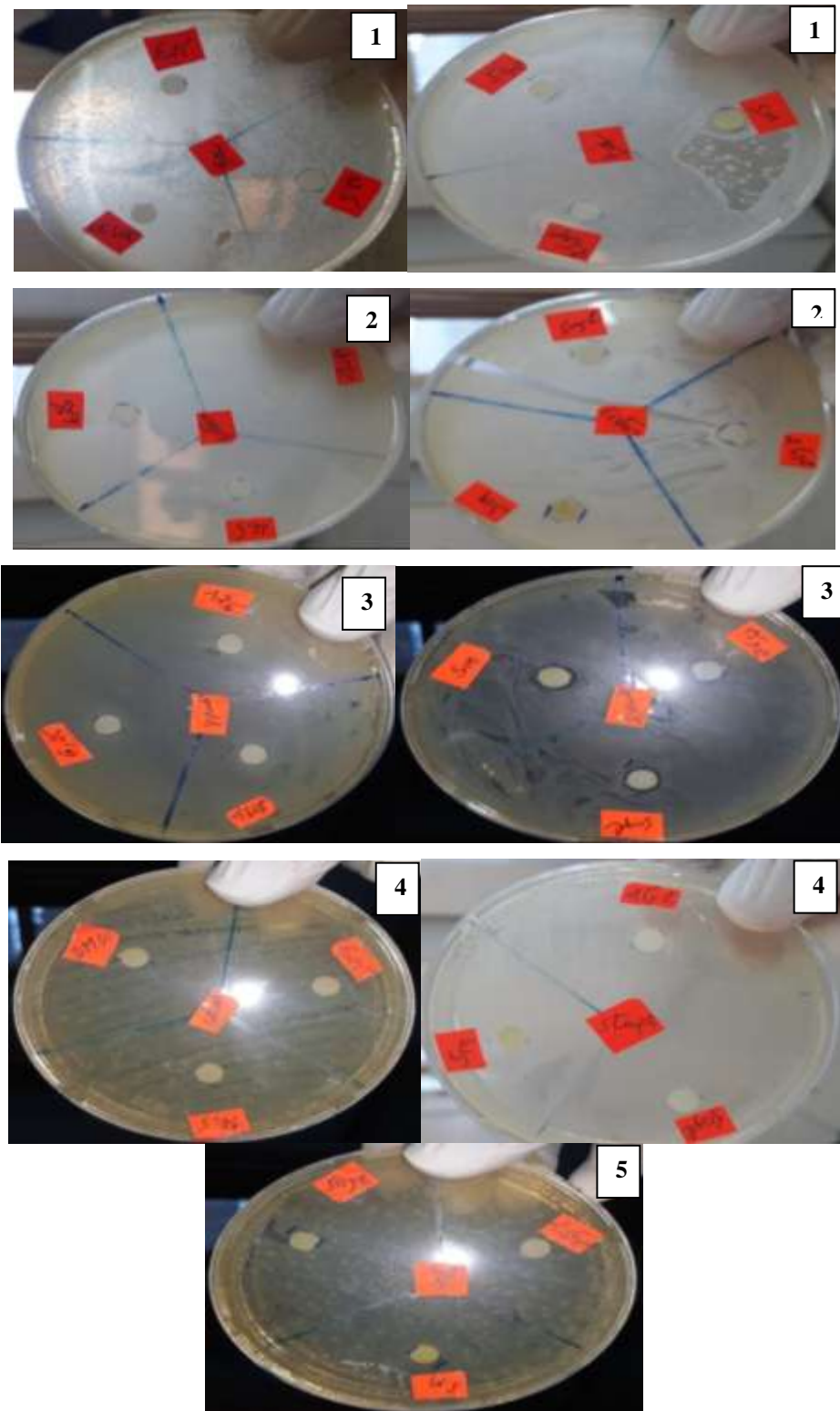


Figure 25: Les résultats d'antibiogrammes de l'extrait de *Lippia citriodora* pour 100mg/ml (1= *Bacillus cereus*, 2= *Entérocooccus faecalis*, 3= *Pseudomonas aeruginosa*, 4= *Salmonella sp*, 5= *staphylococcus aureus*).

Les résultats présentés sur les figures 25 montrent que l'extrait de *Lippia citriodora* n'a pas une activité antibactérienne avec toutes les souches utilisées

Des extraits à effet nulle : le diamètre de la zone d'inhibition sur les bactéries est égal ou inférieur à 7 mm.

Tableau 10: Les valeurs des diamètres moyens de la zone d'inhibition d'extrait et leurs différentes dilutions de *Lippia citriodora*.

	SM	Dilutions			
		D1	D2	D3	D4
<i>Salmonella</i>	7	6	6	6	6
<i>Pseudomonas aerginosa</i>	8	7	6.5	6	6
<i>Entérocooccus faecalis</i>	7	6.5	6	6	5.5
<i>Bacillus cereus</i>	7	7	6	6	5.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	7.5	7	6	6

SM : La solution mère = 100 mg/ml ; **D1** = 50 mg/ml ; **D2** = 25mg/ml ; **D3** =12.5 mg ; **D4**=6.25mg/ml.

➤ Les diamètres mesurés pour toutes les souches bactériennes sont égale ou moins de 8Selon l'échelle donnée par (**Poncea A et al , 2003**) ; les bactéries sont non sensibles(-)

➤ Il faut mentionner que les boîtes d'antibiogramme d'*Escherichia coli* sont contaminées.

III.3.1.2.2. La concentration 500 mg/ml

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés de l'extrait avec les différentes dilutions étudiées ont été mesurées. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 26:

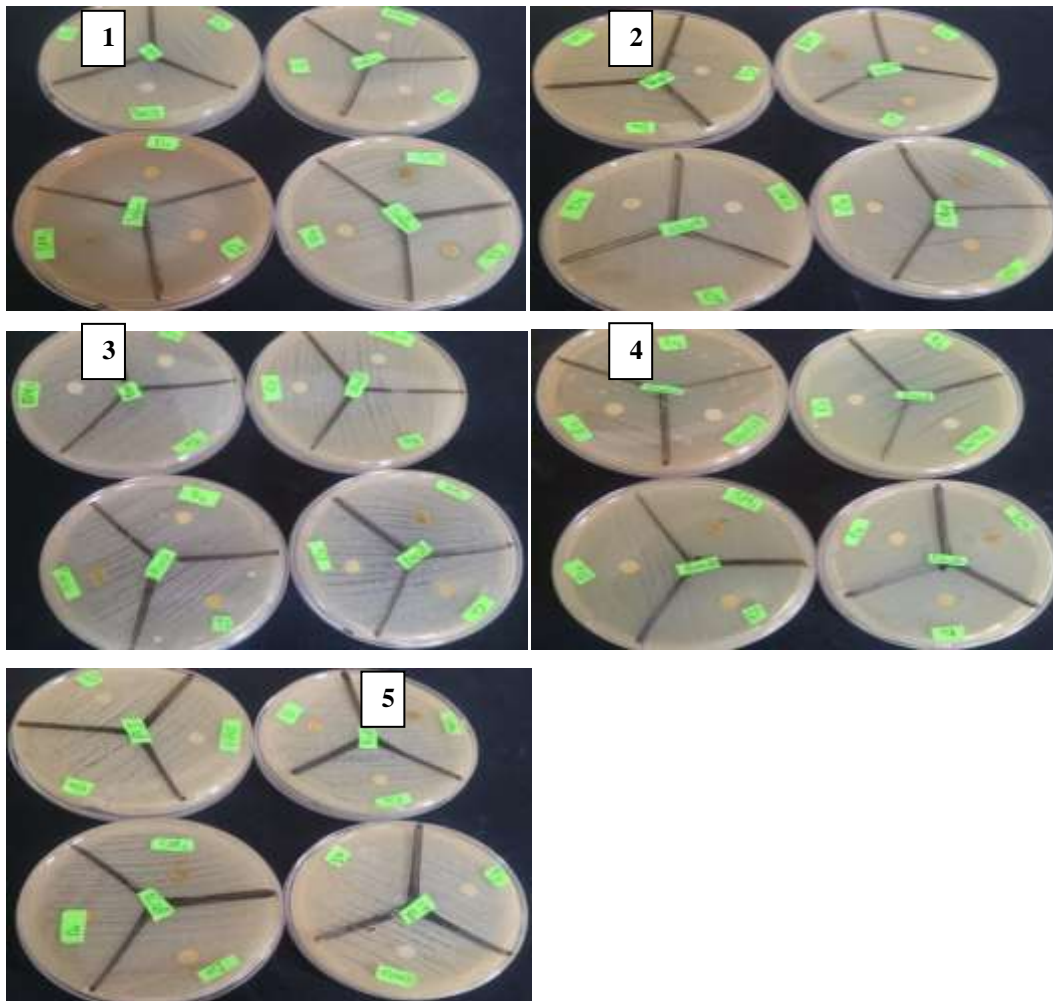


Figure 26: Les résultats d'antibogramme de l'extrait de *Lippia citriodora* pour 500mg/ml (1= *Bacillus cereus*, 2= *Entérocooccus faecalis*, 3=*Pseudomonas aeruginosa* ,4=*Salmonella sp*,5=*Staphylococcus aureus*).

➤ Avec cette concentration élevée (500mg/ml) nous avons constaté une absence totale d'activité antibactérienne d'extrait de *Lippia citriodora* contre toutes les souches utilisées.

Nos résultats sont en accord avec ceux de (Hanna et al , 2011) qui ont montré qu' aucune activité antibactérienne n'a été observée contre *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.* et *Escherichia coli*. D'autres travaux réalisés par (Fellah A et al , 2015), (Jalal Z ,2020) qui ont été effectués sur les effets de l'extrait de *Lippia citriodora* et ces HE contre les bactéries montrent leur activité antibactérienne importante, par contre les résultats de CPG/SM montrent le tetracosane qui est le composant le plus abondant dans notre extrait de *Lippia citriodora* , concernant le tetracosane qui est un hydrocarbure alcaline ne possède pas une activité antibactérienne d'après notre recherche bibliographique et ça ce que nous avons trouvée dans nos résultats du test microbiologique (Jalal Z , 2020)

III.3.2. Pouvoir antifongique

III.3.2.1. Pouvoir antifongique de l'extrait de *Syzygium aromaticum*

Après 5 j d'incubation dans une température ambiante, la croissance des souches fongiques observées est présentée dans les figures suivantes :

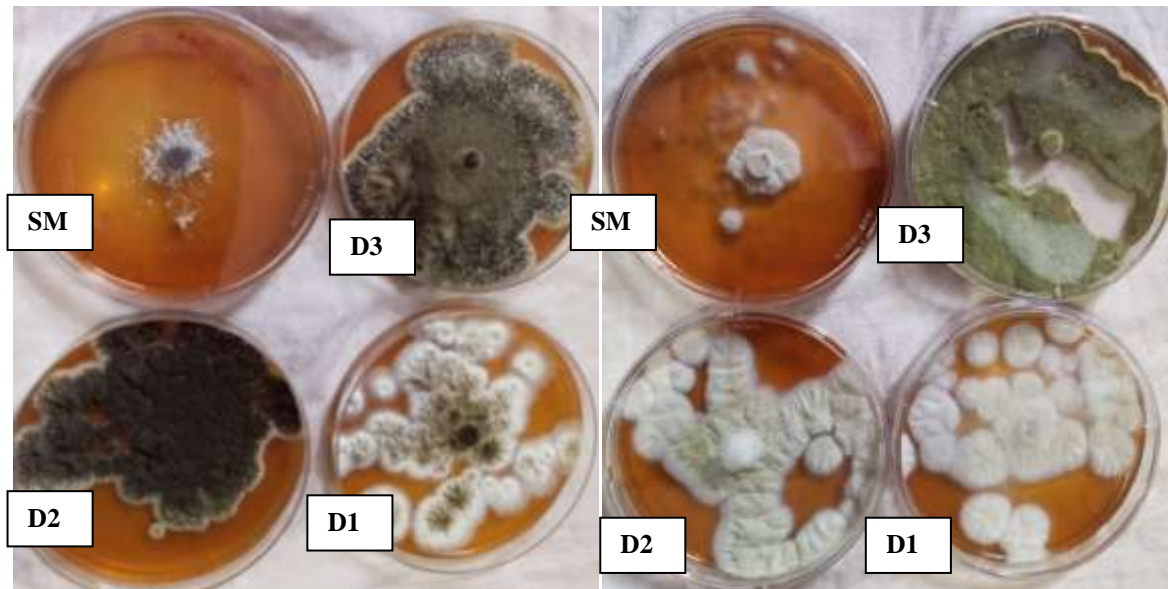


Figure 27: Les résultats d'*aspergillus niger*. Figure 28: Les résultats d'*aspergillus flavus*.

Les résultats du test de sensibilité des souches fongiques à l'extrait de *Syzygium aromaticum* par la méthode de dilution dans la solution d'agar-agar sont représentés dans le tableau suivant

Tableau 11: Résultats du test de sensibilité des souches fongiques à l'extrait de *Syzygium aromaticum* à différentes concentrations.

	SM	D1	D2	D3
<i>Aspergillus niger</i>	-	+	++	+++
<i>Aspergillus flavus</i>	-	+	++	+++

(-) absence de croissance ; (+) présence de croissance

- A partir des résultats de tableau nous avons observé une absence de croissance d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus flavus* dans la solution mère d'extrait de *Syzygium aromaticum* et la présence de croissance de ces deux souches dans les autres différentes dilutions.

- Les résultats de l'activité antifongique de l'extrait de *Syzygium aromaticum* ont montrés que les deux souches *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus* testées ont la même sensibilité, elles ont été inhibées à la même concentration (solution mère=100mg/ml).

➤ Pour tester l'activité de cet extrait contre *Candida albicans* nous avons utilisé la méthode des disques .Après 24 h d'incubation à une température de 37°C .

- Les résultats obtenus sont présentés sur la figure :



Figure 29: Les résultats obtenus contre *Candida albican*

➤ Les résultats présentés sur les figures montrent que l'extrait de *Syzygium aromaticum* présente un effet antifongique contre cette espèce testée.

Beaucoup de chercheurs ont confirmé la présence d'une activité antifongique des extraits naturels, Nos résultats indiquent que l'extrait de *Syzygium aromaticum* a une capacité inhibitrice de la croissance mycélienne de toutes les souches testées.

Plusieurs travaux notamment ceux de (Chagra kh et al , 2019) ont confirmé l'activité antifongique de *Syzygium aromaticum* grâce à le teneur élevé de l'eugénol qui est responsable à cette activité.

Selon (Ghedira.K et al ,2010) , l'eugénol possède une activité fongicide contre *Candida albicans* et *aspergillus flavus*.

Le mode d'action d'eugénol présenté par (Boubrit S et al ,2007) qui souligne que les composés terpéniques des H.E. et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure. (Boubrit S et al ,2007)

III.3.2.2. Pouvoir antifongique de l'extrait de *Lippia citriodora*

Après 5 j d'incubation dans une température ambiante, la croissance des souches fongiques observées sont présentées dans les figures suivantes :

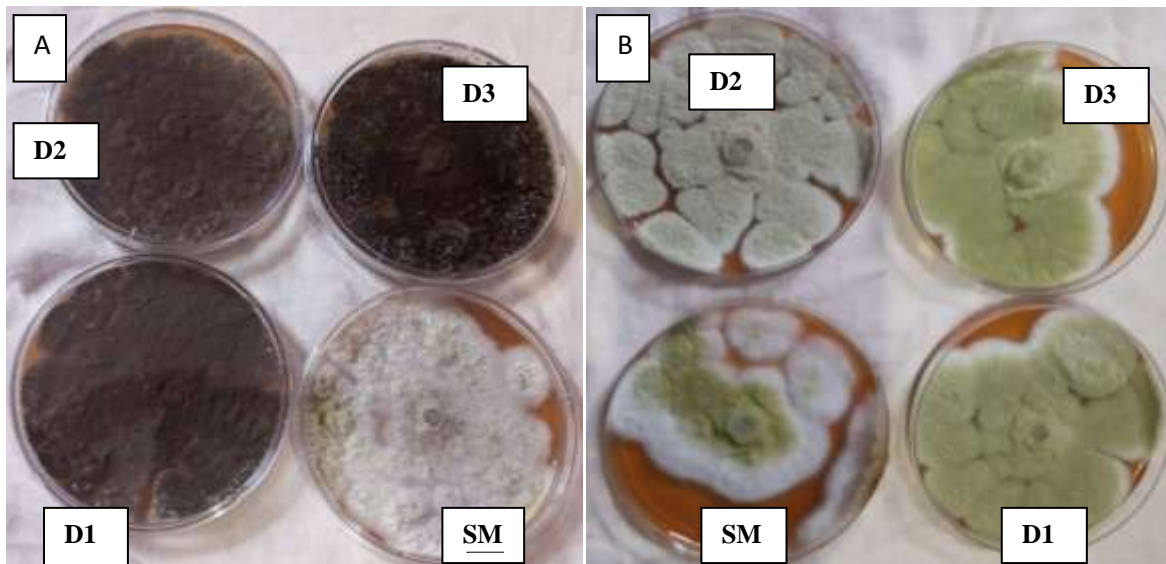


Figure 30: Résultats obtenus contre (A) *Aspergillus flavus* ,(B) *Aspergillus niger*.

➤ Les résultats du test de sensibilité des souches fongiques à l'extrait de *Lippia citriodora* par la méthode de dilution dans la solution d'agar-agar sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 12: Résultats du test de sensibilité des souches fongiques à l'extrait de *Lippia citriodora* à différentes concentrations.

	SM	D1	D2	D3
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	++	+++
<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	++	+++

(-) Absence de croissance ; (+) Présence de croissance

- A partir des résultats nous avons observé une croissance d'*Aspergillus niger* et d'*Aspergillus flavus* dans la solution mère d'extrait de *Lippia citriodora*.

- Les résultats de l'activité antifongique de l'extrait de *Lippia citriodora* ont montrés que les deux souches *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus* testées ne sont pas sensibilité.

➤ Pour tester l'activité de cet extrait contre *candida albicans* la méthode des disques a été utilisée à une température de 37°C pendant 24h.

➤ Les résultats obtenus sont présentées dans la figure suivante :

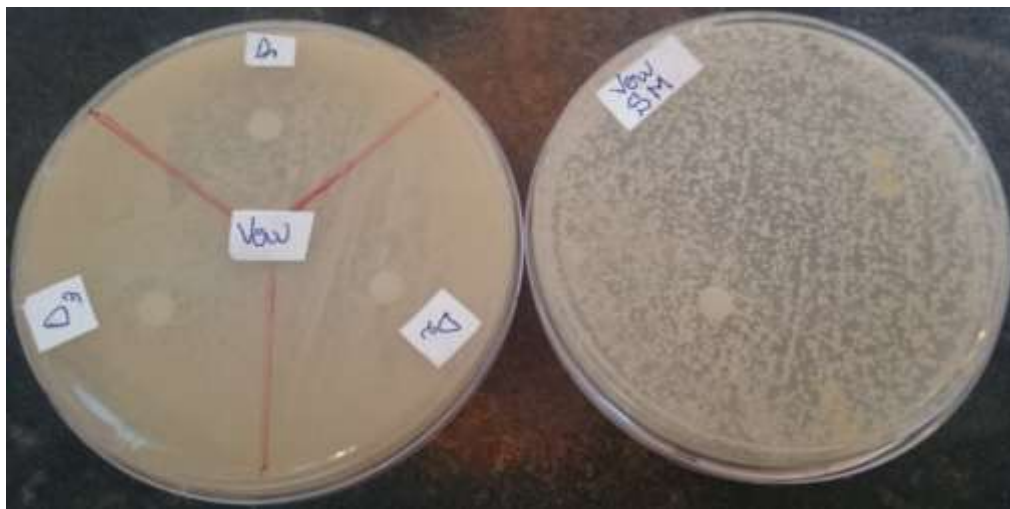


Figure 31: L'activité antifongique de *Lippia citriodora* contre la *Condida albican*.

Les résultats obtenus montrent une absence totale d'une zone d'inhibition d'extrait de *Lippia citriodora* contre *Condida albican*.

Nos résultats sont en concordance avec la littérature ou le composant le plus abondant dans notre extrait de *Lippia citriodora* «le tetracosane » et qui est identifié par la CPG/SM n'a aucune propriété fongicide.

Conclusion et perspectives

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

Notre présente étude a porté sur deux espèces différentes *Syzygium aromaticum* et *Lippia citriodora* sont des espèces plus différentes et des régions et d'origine différentes et les plus utilisées par les thérapeutes traditionnels.

Nous avons utilisé l'extracteur de Soxhlet pour l'obtention des extraits. Sur le plan photochimique, les résultats de la caractérisation se font par l'application de la chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM) comme moyen d'analyse qui nous a permis l'identification de 45 et 22 composés pour *Syzygium aromaticum* et *lippia citriodora* respectivement. Nous avons montré que le Eugenol (54.63%), Eugenol acetate (21.57%), caryophyllene (16.71%) sont les constituants majeurs de *Syzygium aromaticum*. Alors que Tétracosan (36.54%), Chavibitol (9.51%), α -Citral (7.46%) sont les composés prédominants de *lippia citriodora*.

L'étude de l'activité antimicrobienne de nos plantes s'est avérée très intéressante du fait que nous avons obtenu des résultats positifs sur les souches testées concernant l'extrait de *Syzygium aromaticum*. Cependant, elle paraît nulle pour l'extrait de *Lippia citriodora*. Les résultats des tests microbiologiques nous ont permis de montrer que l'extrait de *Syzygium aromaticum* possède une activité antifongique et antibactérienne intéressante par rapport à l'extrait *Lippia citriodora*.

En ce qui concerne le pouvoir antibactérien évalué par la méthode de diffusion de disque des différents extraits des deux plantes étudiées, nos résultats montrent que la bactérie *Salmonella* présente une sensibilité élevée vis-à-vis de l'extrait *Syzygium aromaticum* Comparativement aux autres bactéries. L'étude du pouvoir antifongique des différents extraits réalisé par la méthode de dilution dans la solution d'agar a permis de visualiser une action inhibitrice intéressante de l'extrait de *Syzygium aromaticum* sur les moisissures testées comparativement à l'extrait de *Lippia citriodora*.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail antimicrobien ainsi que l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les différents extraits en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de ces plantes.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités biologiques et antimicrobienne des extraits de ces plantes.

Les references bibliographiques

Abdi I, Lahouel N ., (2020). Activité anti-inflammatoire d'*Aloysiacitriodora*.mémoire de master : biochimie. Université Mohammed Seddik Ben Yahia –Jijel- , 63 p.

Amrani T, (2018).étude de l'effet bio-insecticide de l'huile essentielle de clous de girofle (*Eugenia aromatica*) vis-à-vis d'un ravageur des denrées stockées (coléoptère ; ténébrionidé) *Triboliumconfusum*. Mémoire master : biologie de la conservation.Univésité Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou,p26.

Amroune S ,(2018). Phytothérapie et plantes medicinales.Mémoire de master : Protection des Ecosystèmes. Université des Frères MentouriConstantine,p 9.

Appoh K,(2018.) Système de gestion de la médecine traditionnelle dans une plateforme web social et sémantique : une approche basée sur une ontologie visuelle. Thèse de doctorat : informatique. Université Gaston Berger de Saint-Louis (ugb), 15p.

Belkamel A, Bammi J, Janneot V, Belkamel A, Dehbi Y, Douira A. (2018).Contribution à l'étude de la composition chimique de la *Vervein odorante* : *Aloysia* (L'Hert.) Britt cultivée au Maroc. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology vol12 : P ; 2456-1878.

Benbelaid F., (2015) Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcusfaecalis* responsable d'infections d'origine dentaire. Thèse de doctorat : Microbiologie. UniversitéAbou BekrBelkaid de Tlemcen ,169 p.

Benrahal N .,(2018). Extraction, identification et caractérisation des molécules bioactives de la graine et de l'huile de *Silybummarianum*. Étude de leurs activités antioxydante et antitumorale . Thèse de doctorat : Spécialité : Génie des procédés et des produits. L'Université de Lorraine, 197p.

Bernaoui Y, Louetri Kh.(2018). Caractérisation phytochimique du Genre *Origanum*et leur bioactivités. Mémoire master : Biochimie appliquée. Université EchahidHamma Lakhdar -El oued,p20.

Bensalek F., (2018). L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des troubles fonctionnels intestinaux dans le contexte marocain. Thèse de doctorat : médecine. Université Cadi Ayyad Marrakech, p40-41.

Bhowmik D , Samapath Kumar KP , Yadav A, Srivastava S,PaswanS,Sankar A,(2012).Recent trends in Indian traditional Herbs *syzygiumaromaticum*and its Health benefits.Journal of pharmacognosy et phytochemistry , 13 : p , 2278-4136.

Boukhatem F., (2017),. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de deux épices : *Syzygium aromaticum* et *Illicium verum*. Mémoire de master : volarisation de substance naturelle et végétale. Université Abdelhamid IbenBadis . Mostaganem, p79.

Bouzouita K.,(2016). Phytovigilance : Enquête auprès des pharmaciens officinaux. Thèse de doctorat : pharmacie. Université Mohamed v-rabat, p 24.

Bruneton J., (2009). Pharmacognosie ,4em Edition, Paris,France,261p

Boubrit S,Boussad N.(2007). Détermination in vitro du pouvoir antibactérienne des huiles essentielles d'eucalyptus , myrte, clous de girofle et sarriette, leur application à la conservation de la viande fraiche type hachée. Disponible sur **Erreur ! Référence de lien hypertexte non valide.**le 17/09/2021.

Canon F.(2010). Contribution de la spectrométrie de masse à l'étude des interactions entre les protéines salivaires riches en proline et les tanins. Thèse de doctorat : Biochimie, chimie et technologie des aliments. Centre international d'études supérieures en sciences,p 50.

Chabrier J., (2010). Plantes médicinales et formes plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse de doctorat : pharmacie. Université Henri Poincare - Nancy 1, p 22-23.

Chagra Kh.,(2019).Etude des propriétés physico-chimique et biologique de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*(L)).mémoire de master : Génie chimique. Université Mohamed Khider de Biskra, p 46.

Chira K, Suh j H, Saucier C,Teissèdre P L.(2008). Phytonutrition fondamentale. Phytothérapie ,vol 6: p 75–82.

Cruza D, Pedro L, Vaza P D , Serralheiroa M, Ana B, Linoa R, .(2010).Preparation and physicochemical characterization of Ag nanoparticles biosynthesized by *Lippia citriodora* (Lemon Verbena).journal homepage: www.elsevier.com/locate/colsurfb,vol 81 ,p 67–73.

Daouda T.,(2015). Études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire. Thèse de doctorat : biochimie. L'Université Félix Houphouët- Boigny,153 p.

Dubey A .(2019) . Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. Journal of AOAC International.102p.

El haib A, (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de doctorat : Chimie organique et catalyse. Université Toulouse III - Paul Sabatier, 195p.

Fellah A. Mouaici N.(2014/2015).Etude de l'extraction et de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de la verveine "*Lippiacitriodora*".mémoire de master : Chimie, Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana, p 99.

Fortin G,(2012).Etude bibliographique des phénomènesd'automédication par les plantes et les Produits minéraux chez l'animal: Impact de la recherche en zoopharmacognosie. Thèse de doctorat : vétérinaire.École nationale vétérinaire d'alfort, p 30.

Franck Olivier K, (2018). Application des techniques de chromatographie et de spectroscopie dans l'identification des métabolites secondaires de trois plantes antidiabétiques et anti hypertensives de la pharmacopée ivoirienne. Thèse de doctorat : Chimie Organique et des Substances Naturelles. Ecole doctorale polytechnique, p6.

Ghedira K ,Goetz P ,Le Jeune R.(2010).*Syzygium aromaticum* (L.)Merr.& Perry (Myrtaceae) Giroflier.Springer-Verlag France 2010,vol 8,p 37–43.

GuenfissiL ,Laifaoui R.(2012) . etude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et acétoniques de *retamasphaerocarpa*, *retamaraetam* et *spartiumjunceum*. Mémoire du diplôme d'ingénieur d'état : Microbiologie , Université Abderrahmane Mira de Bejaïa.74p.

Hanaa F M A, El-Beltagi H et Nasr F, (2011). Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of *Aloysiatriphylla*.Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 10 (8): 2689-2699.

Hérand A., (1909.)nouveau dictionnaire des plantes médicinales. 4ème édition, paris, France.670 p.

dlimam A , Lamharrar A ,Kane C , Akkad S, Kouhila M.(2008). Valorisation de trois plantes médicinales par séchage solaire convectif en couches minces. Revue des Energies Renouvelables SMSTS'08 Alger ,p 151 – 156.

Ivanović M , Alanon M.E,Arraez-Roman D, Segura-Carretero A.(2018).Enhanced and green extraction of bioactive compounds from *Lippia citriodora* by tailor-made natural deep eutectic solvents.Food Research International,p1-36

Iserin P.,(1996).La rousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. Paris, France, p99.

- Jalal Z.** (2020). Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential oil from *Aloysiacitriodora* Leaves (Verbenaceae) cultivated In Morocccok .Jaurnal of pharmaceutical sciences and research,7 :p,0975-1459.
- Lakhdar L.**, (2015). Évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacteractinomycetemcomitans*: étude in vitro. Thèse de doctorat : Sciences Odontologiques. Médecine dentaire. Université de rabat, p 183.
- Lenoir L.**,(2011). Effet protecteur des polyphénols de la *verveine odorante* dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de doctorat : Nutrition. Université d'Auvergne, p 291.
- Lemaoui A.**,(2011). Activités antioxydants et anticoagulante des huiles. Mémoire de magister : Biochimie appliquée. Université Ferhat Abbas ,p30.
- Marzoukia H., Elaissib A., Khaldic A., Bouzidd S., Falconierie D., Marongiu B., Pirasa A. and Porcedda S.**, (2009). Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia.*The Open Natural Products Journal*, Vol. 2; pp. 86-91.
- Mayer F., 2012. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite .Thèse de doctorat : pharmacie. Université de lorraine.
- Mittal M, Gupta N, parasharP,Mehra V, Khatri M.**,(2014).phytochemical evaluation and pharmacological actievity of *syzygiumaromaticuim*: A comprehensive review.*International journal of pharmaceuticalsciences*, vol 7: p , 0975-1491.
- Mouhi L.**(2017).étude des activités biologiques de l'association des huiles essentielles de plantes de la flore Algérienne.élaboration d'une forme pharmaceutique.Thèse de doctorat : Génie des procédés pharmaceutiques. Universités des sciences et de la technologie Houari Boumediene,p7.
- Onawunmi G O.** (1989). "Evaluation of the antimicrobial activity of citral".*Lett. Appl. Microbiol.* 9 (3): p105–108.
- Ouis N.**,(2015).Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de doctorat : chimie organique. Université d'Oran 1.
- Penchev P.**,(2010) .Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat : Génie des Procédés et de l'Environnement. l'université de toulouse,p239.
- Pandima Devi K , Arif Nisha S. , Sakthivel R , Karutha PandianS .**(2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *Journal of Ethnopharmacology*. vol 130, p 107–115

Penot E., Isabelle M ,Rakotondravelo J , Thierry M.,(2014). le giroflier à madagascar : une « success story à l'avenir incertain ». Research Gate,p36.

Poncea A, Fritz R, del Valle C , Rourac S.(2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard.vol 36, p679–684.

Saidi I,(2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae : *Gleditsiatriacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives.Thèse de doctorat : Sciences Biologiques. Université DjilaliSidi Bel Abbés,p7.

Silano V. Delbò M.,(2008). Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller.

EMEA,European Medicines Agency. London ; 23p.

Sophie B.,(2015). Le giroflier : historique, description et utilisation de la plante et de son huile essentielle. Thèse de doctorat : pharmacie. Université de Lorraine, p114.

Souilah N,(2018). Etude de la composition chimique et des propriétés thérapeutiques traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques espèces du Nord-est algérien. thèse de doctorat :chimie organique . Université des Frères Mentouri Constantine 1, p4.

Skaltsa H , Shamma G.,(1987).Flavonoids from *Lippia citriodora*.National University of Singapore.p 465.

Tembely A, (2020),. Etude phytochimique et activité antiradicolaire de trois plante pour la mise au point de bain de bouche. Thèse de doctorat : pharmacie. Université des sciences et des techniques et des technologies de Bamako,p 83.

Vahatr'aina RT,(2009).contribution à l'optimisation d'un extracteur d'huile soxhlet pilote.Ingénieur : Génie chimie, université d'Antananarivo, p18.

Vangelder V, (2017). l'aromatherapie dans la prise en charge des troubles de sante mineurs chez l'adulte a l'officine. Thèse de doctorat : pharmacie. Université de Lille 2 ,146p.

Yang C H , Huang, Y C ,Tsai M L ,Cheng C Y , Liu I Yen Y W.(2015). Inhibition of melanogenesis by b-caryophyllene from lime mint essential oil in mouse B16 melanoma cells.International Journal of Cosmetic Science,vol 37. P 550–554.

Zaffani A., (2013).investigation phytochimique des huiles essentielles de feuille de trois espèce d'eucalyptus (*E. bostistoana*, *E. bicostata* et *E. viminalis*).Diplome de magistère : Chimie organique appliquée .Université des sciences et de la technologie Houari Boumedién, 19p .

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de cultures utilisés.

1. Gélose Mueller-Hinton : C'est un milieu destiné à la réalisation d'antibiogramme par diffusion.

➤ **Composition :**

Formule théorique en g/l d'eau purifiée :

Peptones de viande « Bovin » » 2g	2g
Peptones de caséine « Bovin » » 17.5g	17.5g
Fécule de pomme de terre « amidon » » 1.5g	1.5g
Ion Ca ⁺⁺	45 à 75mg/l
Ion Mg ⁺⁺	20 à 35mg/l
Agar 17g	17g

- **Principe :** Sa faible teneur en thymine –thymidine « élément inhibiteur de l'activité des sulfamides » diminue les phénomènes de repousse autour des disques et permet une meilleure détermination des diamètres d'inhibitions.

➤ **Préparation :**

Mettre 38g de poudre en suspension dans un litre d'eau purifiée, bien mélanger.

Chauffer sous agitation et laisser bouillir pendant 1 minute.

Autoclaver à 118 °C pendant 15 minutes.

2. Gélose Sabouraud-Base : C'est un milieu recommandé pour l'isolement des champignons à partir des prélèvements cliniques.

➤ **Composition :**

Formule théorique en g/l d'eau purifiée

Peptones de viande « Bovin »	3g
Peptones de caséine « Bovin »	3g
Peptones de Soja 3g	3g
Extrait de levure 2g	1g
Extrait de malt 1g	1g
Glucose 19g	19g
Phosphate mono- potassique	0.5g

0.5g	
Phosphate disodique 0.5g	0.5g
Agar 13 g	13g

➤ **Principe** : La présence des peptones et du glucose favorise le développement des souches fongique.

➤ **Préparation** :

Mettre 65g de poudre en suspension dans un litre d'eau purifiée bien mélangé.

Chauffer sous agitation et laisser bouillir pendant 1 minute.

Autoclaver à 118 °C pendant 15 minutes.

3.Gélose nutritive : La gélose nutritive ou gélose nutritive ordinaire (GNO) ou encore gélose ordinaire est un milieu d'isolement non-sélectif.

➤ **Composition**

extrait de viande	1,0g
extrait de levure	2.5g
peptone	5,0g
chlorure de sodium	5,0g
Agar	15,0g
PH	7.0

Annexe 2 : Les bactéries tests

➤ **Escherichia coli**

C'est une bactérie qui appartient à la famille des entérobactéries. Elles ont comme dimensions moyennes 2 à 3 micromètres de long et 0,6 micromètre de large.

Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire. La majorité des infections urinaires de la jeune femme observée en pratique médicale de ville est due à *Escherichia coli*.

➤ **Staphylococcus aureus**

Ce sont des cocci à Gram positif très fréquents chez l'homme à l'état commensal ou pathogène. Il est immobile, non sporulé et ne possède pas de capsule visible au microscope optique. Il mesure 0,8 à 1 micromètre. Ils se présentent de façon isolée, en diplocoques ou groupés en amas. Ils sont rependus dans la nature (au, eau, sol) et vivent souvent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses des organismes humains et animaux.

➤ **Salmonella sp**

Les Salmonelles sont des entérobactéries dont les caractères essentiels sont de ne pas fermenter le lactose et de ne pas produire d'uréase. Les Salmonella sont des parasites de l'homme, des mammifères (rongeurs), des oiseaux (volailles) et des animaux à sang froid (reptiles). Elles sont responsables, après pénétration par voie orale, de nombreuses infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïde et paratyphoïdes (maladies à déclaration obligatoire n°1), des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives (maladies à déclaration obligatoire n° 12). Le principal mode de contamination chez l'homme est l'ingestion à partir de l'eau (*S.typhi* surtout), des aliments (ex. produits laitiers, oeufs, viande) ou d'animaux familiers porteurs (tortues).

➤ **Pseudomonas aeruginosa :**

Pseudomonas est un bacille à gram négatif non fermentant aérobic stricte dont la principale espèce représentant du genre *P.aeruginosa*. C'est un pathogène opportuniste responsable fréquemment d'infection nosocomiale. Bactérie ubiquiste : eau (duce, salé, milieu humide) denrées alimentaire ...

Ces bactéries sont à l'origine d'infection nosocomiale d'origine exogène (infection sur matériel implanté) et d'origine endogène (flore cutanée) chez des patients le plus souvent immunodéprimés.

➤ **Bacillus cereus**

Est une bactérie Gram positif anaérobie facultative en forme de bâtonnet formant des endospores. *B. cereus* est omniprésent dans le sol et dans de nombreux aliments crus et transformés tels que le riz, le lait et les produits laitiers, les épices et les légumes. De nombreuses souches de *B. cereus* sont capables de produire des toxines et de provoquer différents types d'intoxication alimentaire. Les inquiétudes concernant la contamination par *B. cereus* ont augmenté en raison de l'augmentation rapide du nombre d'aliments réfrigérés qui peuvent être pasteurisés mais peuvent encore contenir des spores viables. Les spores de *B. cereus* peuvent germer et devenir trop grandes pendant le stockage, même à basse température.

➤ **Entérocooccus faecalis**

Les entérocoques à Gram positif peuvent apparaître seuls, en paires ou en chaînes courtes. Ce sont des anaérobies facultatifs, possédant la capacité de croître en présence ou en absence d'oxygène. Les espèces d'entérocoques vivent en grandes quantités [10⁵-10⁸ unités formant colonie (UFC) par gramme de matières fécales] dans la lumière intestinale humaine et, dans la plupart des cas, ne causent aucun dommage à leurs hôtes. Ils sont également présents

Dans les voies génitales féminines humaines et la cavité buccale en moindre nombre. Les entérocoques survivent dans des environnements très difficiles, notamment un pH alcalin extrême (9,6) et des concentrations de sel (6, 9)

Résumé

Résumé

Les plantes médicinales constituent une source immense de molécules bioactives, dotées de nombreuses activités. L'objectif de notre travail est de réaliser une étude phytochimique et biologique des extraits de deux plantes *Syzygium aromaticum* et *Lippia citriodora*. Ces espèces de plantes sont utilisées en médecine traditionnelle.

Les résultats de la séparation et l'identification des molécules bioactives des nos plantes qui ont été réalisés par l'application de la chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM) comme moyen d'analyse, nous a permis l'identification de 45 et 22 composés pour *Syzygium aromaticum* et *Lippia citriodora* respectivement. Nous avons montré que le Eugenol (54.63%), Eugenol acetate (21.57%), Caryophyllene (16.71%) sont les constituants majeurs de *Syzygium aromaticum*. Alors que Tetracosan (36.54%), Chavibitol (9.51%), α -Citral (7.46%) sont les composés prédominants de *Lippia citriodora*.

Des travaux ont été effectués dans le but de mettre en évidence in vitro les propriétés antimicrobiennes des extraits des deux plantes utilisées. Dans le test antibactérien, par la méthode des disques des diffusions l'extrait de *Syzygium aromaticum* a significativement inhibé la croissance de six souches bactériennes utilisées, provoquant des zones d'inhibition de 9 à 16 mm de diamètre. Par contre *Lippia citriodora* n'a donné aucune signification inhibitrice contes toutes les shouche utilisés. L'étude du pouvoir antifongique des différents extraits réalisé par la méthode de dilution dans la solution d'agar a permis de visualiser une action inhibitrice intéressante de l'extrait de *Syzygium aromaticum* sur les moisissures testées comparativement a l'extrait de *Lippia citriodora*.

Mots clés : Plantes médicinales, *Syzygium aromaticum*, *Lippia citriodora*, Activité antibactérienne, Activité antifongique.

الملخص

تعتبر النباتات الطبية مصدرًا هائلاً للجزيئات النشطة بيولوجيًا ، وتتمتع بالعديد من الأنشطة. الهدف من عملنا هو إجراء دراسة كيميائية نباتية وبيولوجية لمقتطفات من نباتين *Syzygium aromaticum* و *Lippia citriodora* وتستخدم هذه الأنواع النباتية في الطب التقليدي.

نتائج فصل وتحديد الجزيئات النشطة بيولوجيًا لنباتاتنا والتي تم تحقيقها من خلال تطبيق كروماتوجرافيا الغاز ، إلبجانب التحليل الطيفي الشامل (GC / MS) كوسيلة للتحليل ، سمحت لنا بتحديد 45 و 22 مركبًا لـ *Syzygium aromaticum* و *Lippia citriodora* على التوالي. لقد أظهرنا أن الأوجينول (54.63٪) ، الأوجينول أسيتات (21.57٪) ، الكاريوفيلين (16.71٪) هي المكونات الرئيسية لـ *Syzygium aromaticum*. بينما (36.54٪) Tetracosan ، (9.51٪) Chavibitol ، (7.46٪) Citral- α هي المركبات السائدة في *Lippia citriodora*.

تم تنفيذ العمل بهدف إظهار الخصائص المضادة للميكروبات لمستخلصات النباتين في المختبر. في الاختبار المضاد للبكتيريا ، عن طريق طريقة قرص الانتشار ، أدت مقتطفات من *Syzygium aromaticum* إلى تثبيط نمو ست سلالات بكتيرية مستخدمة ، مما تسبب في مناطق تثبيط قطرها 9 إلى 16 ملم. في المقابل ، لم تعط *Lippia citriodora* أي أهمية مثبتة لجميع الرسومات المستخدمة. أتاحت دراسة القوة المضادة للفطريات للمستخلصات المختلفة التي أجريت بواسطة طريقة التخفيف في محلول أجار تصور عمل مثبت مثير للاهتمام لمستخلص *Syzygium aromaticum* على القوالب التي تم اختبارها مقارنة بمستخلص *Lippia citriodora*.