



N°Réf :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie végétale

Spécialité : Biotechnologie Végétal et Amélioration des plantes

Thème

Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques extraits d'une plante médicinale (*Aloysia citrodora* L.)

Préparé par :

- ❖ Bennour Hasna
- ❖ Merzouk Madjida
- ❖ Rezaiki Ismahane

Devant le jury :

Presidente : Mme Boukezoula Fatima

MCA C.U. Abelhafid Boussouf-Mila

Examinatrice : Mme Belattar hakima

MCA C.U. Abelhafid Boussouf-Mila

Promoteur: Pr. Yahia Abdelouhab

Pr. C.U. Abelhafid Boussouf-Mila

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciement

Au nom d'Allah, le Tout miséricordieux, le Très miséricordieux.

Ce n'est pas parce que la tradition exige que cette page se trouve dans ce travail, mais par ce que les gens à qui s'adressent nos remerciements les méritent vraiment.

*Tout d'abord nous souhaitons avant tout remercier notre professeur **Yahia Abdelwahab** de nous avoir donné le privilège d'encadré nos travaux, il nous a fait des suggestions et des critiques pendant cette période.*

*Nos vifs remerciements s'adressent vont à **Mme Boukezoula Fatima**, Maitre de conférence A au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf 'Mila' qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, on remercie également le Docteur **Mme Blater hakima**, Maitre de conférence A au Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf, d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Remerciements particuliers aux techniciens du laboratoire les profs Mme **Ben siradj Wafaa** et **Mme Ammari salima** qui nous ont donné les souches bactériennes*

Nos remerciements et notre reconnaissance à nos parents pour leur amour et leur soutien constant qu'ils nous ont témoigné tout au long de notre carrière. Enfin on remercie nos amies pour leurs encouragements.

Merci à tous

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*+ A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père **Ahmed**.*

*+ A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **Hassina**.*

*+ A celle qui ne peut rendre grâce à ma dextième mère, qui me soutient dans ma vie, ma soeure, ma vie **Nawel***

*+ A mes frères, **Zinou, Anter, Mohamed, Yahya, Abd elhafid**.*

*+ A mes sœurs **Madiha et Samah, Abla** qui je lui souhaite un prompt rétablissement de tout mon coeur.*

*+ A mon future marie **Halim***

*+ A Mes nièce et mes neveux adorables **Anfel, Sara, Hind, Arwa**
Mohamed, Amani, A. Raufe,
Safia, Chahde, Haroune, A. Rahmane, Ishak, Khawla,
Khadidja, Jouri, Chayma.*

*+ A ma très cher collègue de ce travail : **Hasna et Madjida**.*

*+ A Mes amies proches : **Amira**.*

À Toute ma famille, et à Tous ceux qui me sont chère.



Ismahane

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

✚ A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude,

Pour tous les sacrifices qu'elle me contente, toute la confiance qu'elle m'accorde tout l'amour dont elle m'entoure

✚ A mon honorable père, qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, qui représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager

✚ A mon cher frère Fouad

✚ A ma très chère sœur kholoud ; dikra ; lamis

✚ A mon cher époux Kamel les mots ne peuvent résumer ma reconnaissance et mon amour à ton égard.

✚ A ma belle-famille Marzouk

✚ Et à ma deuxième famille Grimed

✚ A tous mes camarades du Master biotechnologie végétal

A tous ceux qui me sont chers.



Madjida



كل الحمد لمن بيده النواهي... واليه اجتهادي وإخلاصي الله ربي
ثم الصلاة بعثة الانام. ومن تعجز الاقلام عن وصفه محمد رسولي
إلى من قال فيهما الرحمان «وقل ربي ارحمهما كما ربياني صغيرا»
إلى الذي وهبني كل ما يملك حتى أحقق كل الآمال إلى من كان يدفعني نحو الأمام قدما لنيل
المبتغى

إلى من سهر على تعليمي بكل التضحيات الغالي ابني عبد الكريم
إلى التي وهبت فلدة كبدها كل العطاء والحنان، ورعتني حق رعاية كانت دعواها تتبعني خطوة
بخطوة

نبح الحنان أمي رقية

إلى روح جدتي الطاهرة رحمك الله

إلى إخوتي الذين تقاسموا معي عبء الأيام آية وفاء نور الهدى إلى أخي الغالي الوحيد
محمد وزوجي المستقبلي "يحيى" وفقك الله وسدد خطاك الذي ساندني ونعم الرجل
إلى من كان لهم الفضل في توجيهي ومساعدتي منال وحياة أمانى

إلى الأساتذة الذين أشرفوا على تقديم أفضل الدعم خلال مساري الدراسي إلى كل الأصدقاء
والأحبة

إلى كل من جمعني بهم ذكريات رائعة

Hasna



المخلص

لقد قمنا بإجراء هذا البحث والدراسة على نبتة التيزانة بالمركز الجامعي عبد الحفيظ بوالصوف خلال العام الدراسي 2022/2021 حيث قمنا بعدة تجارب في مخبر المركز واعتمدنا على طريقة استخلاص المواد ومستخلصات من المادة النباتية اوراق النبتة

حيث قمنا باستخدام هذا المستخلص الذي تحصلنا عليه عن طريق الفحص الكيميائي في الكشف عن العائلات الحيوية النشطة المختلفة للمواد الموجودة في أوراق اللوزة (البوليفي نول، الصابونوزيدات، الفلافونويد، المركبات المختزلة، القلويدات...) عن طريق التلوين بواسطة الكواشف الخاصة بكل فئة من المركبات.

ولقد كللت مجموعة هذه التجارب والاختبارات بمجموعة من النتائج أهمها

النشاط المضاد للبكتيريا وتحديد نشاط هذا المستخلص الذي اظهر مناطق تثبيط واضحة بطريقة الأقراص ضد أربع سلالات بكتيرية التي تم اختبارها (*E. coli* , *S.aureus*, *P.aeruginosa*,*B.cereus*)

يعطي تحديد منطقة التثبيط المسموح بها تقدير لمقاومة السلالة البكتيرية ضد المستخلصات المختبرة.

كما أدت نتائج الكشف إلى الحصول على نتائج تثبت وجود زيوت اساسية في نبتة التيزانة.

الكلمات المفتاحية *Verbenaceae Aloysia citrodora* البوليفينول، الصابونوزيدات، الفلافونويد، المركبات المختزلة، القلويدات المستخلصات الإيثانولية النشاط المضاد للبكتيريا

Résumé :

Aloysia Citrodora est une plante médicinale aromatique, qui appartient à la famille de Verbenaceae, appelée Verveine Aloysia, elle se répand dans le bassin de la méditerranée et surtout en Algérie. Notre modeste travail a été réalisé au sein du centre universitaire Abd El-Hafida Bousouf durant l'année scolaire 2021/2022, accompagné de plusieurs expériences au niveau du laboratoire central de l'université en s'appuyant sur la méthode d'extraction des substances et des extraits de la matière végétale et des feuilles de la plantes. Nous avons utilisé l'extrait obtenu par l'examen chimique pour la détection de différentes familles bioactives qui existent dans les feuilles de la plante Aloysia (les Polyphénols, les Flavonoïdes, les Saponosides, les composés réduits, les alcalins..., etc. Pour cette détection nous nous sommes basées sur la coloration en utilisant des détecteurs à chaque composante. Et voici les résultats obtenus à la fin de cette expérimentation : la méthode de disques nous permet la détermination de l'activité antibactérienne de cet extrait qui a montré des zones distinctes d'inhibition contre les quatre souches bactériennes examinées. La présence d'huiles essentielles dans la plante Aloysia est aussi parmi les résultats obtenus de cette détection. Mots-clés : Citrodora Aloysia, Verbenaceae, les Polyphénols, les Flavonoïdes, les Saponosides, les composés réduits, les alcalins, les extraits éthanolique, l'activité antibactérienne.

Summary:

Citrodora Aloysia is an aromatic medicinal plant, which belongs to the family of Verbenaceae, called Verbena Aloysia; it spreads in the Mediterranean basin and especially in Algeria. Our modest work was realized in Abd El-Hafidh Boussouf university center during the 2021/2022 school year, accompanied by several experiments at the level of the central laboratory of the university based on the method of extracting substances and extracts from plant material and plant leaves. We used the extract obtained by chemical examination for the detection of different bioactive families that exist in the leaves of the Aloysia plant (Polyphenols, Flavonoids, Saponosides, reduced compounds, alkalines, etc... For this detection, we based on the staining using detectors special at each compound. And here are the results obtained at the end of this experiment: The disc method allows us to determine the antibacterial activity of this extract, which showed distinct areas of inhibition against the four bacterial strains examined. The presence of essential oils in the Aloysia plant is also among the results obtained from this detection. Key words: Citrodora Aloysia, Verbenaceae, Polyphenols, Flavonoids, Saponosides, compounds reduced, the alkalis, ethanolic extracts, antibacterial activity.

Liste des abréviations

<p>% : Pourcentage</p> <p>°C : Celsius</p> <p>1/2 : Dilution 75%</p> <p>1/4 : Dilution 50%</p> <p>1/8 : Dilution 25%</p> <p>ADN : Acide désoxyde ribonucléase</p> <p>ARN : Acide ribonucléase</p> <p>B.cereus : <i>Bacillus cereus</i></p> <p>BN : Bouillon nutritif</p> <p>E.coli : <i>Escherichia coli</i></p> <p>FeCl₃ : Chlorure ferrique</p> <p>Fig : Figure</p> <p>g : gramme</p> <p>Gram- : Gram négative</p> <p>Gram+ : Gram positive</p> <p>h : heure</p> <p>HCL : Acide chlorhydrique</p>	<p>LDL : Low Density Lipoproteins</p> <p>L : Litre</p> <p>Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant</p> <p>ml : Millilitre</p> <p>mm : Millimètre.</p> <p>MH : Mueller Hinton</p> <p>Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction</p> <p>N° : Numéro</p> <p>NaOH : Hydroxyde de sodium</p> <p>NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium</p> <p>nm : Nanomètre</p> <p>O₂ : oxygène</p> <p>P.aeruginosa : <i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> <p>PAM : les plantes aromatique et médicinales</p> <p>R% : Rendement en %</p> <p>S.aureus : <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>SM : Solution mère</p> <p>ul : Microlitre</p> <p>UV : ultra-violet</p>
--	---

Liste des figures

<i>Titres des figures</i>	<i>Page</i>
01 : <i>Aloysia citrodora</i>	6
02 : Photographie des fleurs et feuilles d' <i>Aloysia citriodora</i>	7
03 : Acides hydroxycinnamiques (C6-C3)	15
04 : Acides hydroxy benzoïques (C6-C1)	15
05 : Structure chimique de base des flavonoïdes	16
06 : Structures de quelques classes des flavonoïdes	17
07 : Structure de coumarine	18
08 : Structure des tanins hydrolysables et leur monomère	19
09 : Structure de tanins condensés	20
10 : Structures chimiques de lignine	22
11 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes	23
12 : Structure de l'isoprène	24
13 : <i>Bacillus cereus</i>	29
14 : Morphologie des Staphylocoques sous microscope électronique	30
15 : Morphologie d' <i>Escherichia coli</i> sous microscope électronique	31
16 : feuilles d' <i>Aloysia citrodora</i> (photo personnelle)	38
17 : la poudre de la feuille d' <i>Aloysia citrodora</i> (photo personnel 2022)	39
18 : Protocole d'extraction (photo personnelle, 2022)	41
19 : Extraction de l'huile par soxhlet (photo personnelle, 2022)	44
20 : préparation de milieu MH (photo personnelle, 2022)	46
21 : préparation de milieu BN (photo personnelle, 2022).	47
22 : préparation de l'eau physiologie (photo personnelle, 2022)	47
23 : préparation des disques (photo personnelle, 2022).	48
24 : Préparation de l'inoculum bactérien (photo personnelle, 2022)	49
25 : Préparation des boîtes de pétri (photo personnelle, 2022)	50

26 : Ensemencement des bactéries (photo personnelle).	51
27 : Résultat du test des polyphénols (photo personnelle, 2022).	54
28 : Résultat du test des polyphénols (photo personnelle, 2022).	54
29 : Résultat de test des quinones libres (photo personnelle, 2022).	55
30 : Résultat du test des flavonoïdes (photo personnelle, 2022).	55
31 : Résultat de test des glucosides (photo personnelle, 2022).	56
32 : Résultat de test des tanins (photo personnelle, 2022).	56
33 : Résultat de test des alcaloïdes (photo personnelle, 2022).	57
34 : huile essentielle (photo personnelle)	58
35 : Rendement des extraits bruts	59
36 : Effet de l'extrait 100% éthanolique sur la bactérie <i>E.coli</i> (photo personnelle 2022)	61
37 : Effet de l'extrait 100% éthanolique sur la bactérie <i>P.aeruginosa</i> (photo personnelle, 2022)	62
38 : Effet de l'extrait 100% éthanolique sur la bactérie <i>S.aureus</i> (photo personnelle ,2022)	63
39 : Effet de l'extrait 100% éthanolique sur la bactérie <i>Bacillus</i> (photo personnelle 2022)	64

Liste des tableaux

<i>Titre des Tableaux</i>	<i>Page</i>
Tableau 01 : Classification botanique d' <i>Aloysia citriodora</i>	8
Tableau 02 : Les différents groupes de composés phénoliques	14
Tableau 03 : Principaux composés de l'huile essentielle d' <i>Aloysia citrodora</i>	25
Tableau 04 : Souches bactériennes utilisées dans le test antibactérien	39
Tableau 05 : Résultats de screening phytochimique /teste positive (+), teste négative (-)	53
Tableau 06 : les calculs de rendement d'extraction	59
Tableau 07 : résultats de l'activité antimicrobienne des extraits éthanolique d' <i>Aloysia citrodora</i> avec la bactérie d' <i>E. Coli</i>	60
Tableau 08 : résultats de l'activité antimicrobienne des extraits éthanolique d' <i>Aloysia citrodora</i> avec la bactérie de <i>P.aeruginosa</i> .	61
Tableau 09 : résultats de l'activité antimicrobienne des extraits éthanolique d' <i>Aloysia Citroedora</i> avec la bactérie de <i>S.aureus</i>	62
Tableau 10 : résultats de l'activité antimicrobienne des extraits éthanolique d' <i>Aloysia citrodora</i> avec la bactérie de <i>B.cereus</i>	63

Sommaire

<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Remerciement	/
Dédicaces	/
Liste Des Abréviations	/
Liste Des Figures	/
Liste Des Tableaux	/
Sommaire	/
Introduction	1
Partie 01 : partie bibliographique	
Chapitre 01 : les plantes médicinales	
I -Les plantes médicinales	5
I.1. Définition	5
II. <i>Aloysia citrodora</i>	5
II-1- Généralités	5
II.2. Historique	6
II.3. Noms communs	6
II .4. Description botanique	7
II.5.Classification botanique	7
II.6. Composition chimique	8
II.7. les caractères d'<i>Aloysia citrodora</i> L	8
II.8. Habitat et culture d'<i>Aloysia citrodora</i>	9
II.9.Principaux pays producteurs et exportateurs d'<i>Aloysia</i>	9
II.10. Mode de préparation de l'infusé d'<i>Aloysia citrodora</i>	9
II.11. Marché d'<i>Aloysia citrodora</i>	10
III. Effet thérapeutique d'<i>Aloysia citrodora</i>	10
Chapitre 02 : Métabolismes secondaire	
I. Métabolismes secondaire	12
I.1.Généralité	12
I.2.Définition	12
I.3.Relation entre le métabolisme secondaire et primaire	12
I.4.Principaux métabolites secondaires du genre <i>Aloysia citrodora</i>	13

I.5.Classification de métabolisme secondaire	13
I.5.1.Composés phénoliques	13
I.5.2. Acide phénolique	14
I.5.3.Flavonoïdes	15
I.5.4.Coumarines	17
I.5.5.Les tanins	18
I.5.6.Quinones	20
I.5.7. Saponosides	21
I.5.8.Composés réducteurs	21
I.5.9.Lignine	21
I.5.10.Alcaloïdes	22
I.5.11.Huiles essentielles	23
Chapitre 03 : Activité biologique	
Introduction	27
I. Activité anti bactérienne	27
I-1-1- Définition des bactéries	27
I.1.2. Donnée sur les souches bactériennes utilisées	28
I.2. Activité fongique	28
I.3. Activité Antibiotiques	31
I.4.Antimicrobiens	33
I.5. Activité antioxydant	34
Partie 02 : Etude expérimentales	
Chapitre 01 : Matériel et méthode	
I .Etude expérimentale	38
I.1. Matériel végétal	38
I.2 Souches bactériennes utilisée	38
I.3 Etude phytochimique	39
I.3.1 Préparation des échantillons (feuilles)	39
I.3.2 Extraction	40
II. Screening phytochimique	42
III. Rendements des composés phénoliques	44
III.1.Extraction des polyphénols	44
III.2.Préparation des extraits éthanolique	44

III.3. Préparation de l'extrait aqueux	45
VI .Activité antimicrobienne	45
VI.1. Préparation des milieux	46
VI .2. Préparation des disques d'aromatogramme	48
VI .3. Stérilisation du matériel	48
VI .4. Préparation de l'inoculum bactérien	48
VI .5. Dilution des extraits	49
VI .6. Préparation des boites de pétri	50
VI .7. Ensemencement bactérienne	50
VI .8. Dépôts des disques et l'injection des extraits	51
VI .9. Incubation et lecture	51
Chapitre 02 : Résultats et Discussion	
I- Résultats et discussion	53
I-1Etude quantitative	53
I.1.1 screening phytochimique	53
I.1.2 Rendement d'extraction	59
I.2. Activité antimicrobienne des feuilles d'<i>Aloysia citrodora</i>	60
Conclusion	68
Références bibliographiques	70
Annexe	79

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies (Sanago, 2006), l'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt au près du public, selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S., 2003) environ 65- 80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (MA et *al.*, 1997). Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constitutions des plantes sont utilisées directement comme agent thérapeutique, mais aussi comme matière première pour la synthèse de médicaments ou comme modèle pour les composés pharmacologiquement actifs (Ameenah, 2007). Toutes les plantes sont capables de produire des substances naturelles très diversifiées.

Le développement des techniques d'analyses chimiques a permis de révéler qu'une espèce végétale peut synthétiser des milliers de constituants chimiques différents ceux-ci appartiennent à deux types de métabolisme primaire et secondaire. Le métabolisme secondaire, modelé par le temps et l'évolution, caractérise le profil chimique original de chaque espèce végétale, conduisant à une grande biodiversité moléculaire (Wichtel et Anton, 1999). En phytochimie et pharmacologie seule une petite partie de 400000 espèces végétales connues était exploitée, et une espèce peut contenir jusqu'à plusieurs milliers de constituants différents et d'intérêts variés (Remmal et *al.* 1993).

En industrie alimentaire, jusqu'à présent de nombreux micro-organismes pathogènes; tels que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* ont été signalés comme agents responsables de maladies d'origine alimentaire et d'altération des aliments (Walker, 1988; Deak et Beuchat, 1996; Pitt et Hocking, 1997; Betts et *al.* 1999). Les aliments frais et/ou transformés sont ouverts à la contamination au cours de leur production, leur vente et leur distribution (Deak et Beuchat, 1996).

Actuellement, la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes purement naturelles est la préoccupation capitale de la plupart des gens et des chercheurs (El-Lakany et *al.*, 1997).

Les tisanes représentent une source majeure de composés phénoliques dans notre alimentation. Parmi les tisanes les plus consommées, l'infusé de verveine odorante (*Aloysia citriodora*) est connue pour ses propriétés aromatiques, digestives et antispasmodiques (Lenoir, 2011).

Introduction

Parmi les sources alimentaires de polyphénols, les tisanes pourraient jouer un apport intéressant. La verveine odorante, (*Aloysia citrodora*), est une plante médicinale connue pour ses vertus thérapeutiques digestives et antispasmodiques et couramment consommée en infusion. l'infusé de feuilles d' *Aloysia citrodora* contient de grandes quantités de polyphénols, acides phénoliques complexes et dérivés de flavones (Lenoir, 2011)

L'objectif principal de notre travail présenté sous le titre de contribuer à l'étude de l'activité antimicrobienne des quelques extraits bruts éthanolique et aqueux qui leur sont liés par distillation, que nous avons obtenu en trempant les feuilles de notre plante dans l'éthanol.

Nous avons fait trois expériences sur notre plante : screening phytochimique, Rendement (éthanolique, aqueuse) et l'activité antibactérienne .

Notre travail sera divisé en deux parties:

✓ La première partie concerne tout d'abord au rappel bibliographique de la plante, Elle contient trois chapitres:

- Généralités sur *Aloysia citrodora*.
- Présentation des métabolites secondaires.
- Activités biologiques.

✓ La deuxième partie concerne l'étude expérimentale, est divisé en deux Chapitres:

- Matériel et méthodes
- Résultats et discussion. et finalement conclusion.



Partie 01 :
Synthèse bibliographique



Chapitre 01 :
Les plantes médicinales

I -Les plantes médicinales :**1-Définition**

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des utilisations thérapeutiques (Bubulka.P, 2007), grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme huma

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Benadji.H et Khoukhi.N, 2012).

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents. Une plante médicinale est un végétal dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise. La plante médicinale porte sur deux origines. Les plantes spontanées dites "sauvages" et les plantes cultivées (Moreau, 2003).

II - Aloysia citrodora :**II-1- Généralités**

L'Aloysia est un arbrisseau cultivé dans les jardins, communément appelé "Louiza ou Tizana". Cette plante ramifiée est caractérisée par un parfum très agréable rappelant l'odeur du citron, que ces feuilles et ses fleurs exhalent. La verveine peut atteindre 2m de haut, ses rameaux sont blanchâtres et ses feuilles lancéolées et rugueuses sont disposées en rosette par trois le long des tiges, au sommet desquelles apparaissent des gerbes de minuscules fleurs blanches disposées également par groupe de trois. Les feuilles récoltées avant la floraison et froissées dégagent une odeur citronnée agréable. Elles contiennent une huile essentielle composée de citral, de terpènes, de géraniol (Slimani. et Dahmane., 2013)

Le genre Aloysia montre une grande diversité génétique, ce qui lui permet de synthétiser une variété de constituants de l'huile essentielle dans des plantes cultivées dans les différentes parties du monde. Le pays d'origine est l'Amérique du sud, la verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés comme plante aromatique et ornementale ainsi que pour les feuilles, utilisées en phytothérapie, récoltées à la fin de l'été ; elle possède des propriétés similaires à celles de la mélisse (Slimani. et Dahmane., 2013).

II.2. Historique

La nomma Aloysia en l'honneur de Maria Luisa, princesse de Parme et épouse de Charles IV d'Espagne propriétaire du jardin Real Jardin de Madrid où la plante a été importée.

La littérature botanique révèle une variété de noms, y compris Aloysia triphylla. En Amérique du Sud, les botanistes lui donnèrent le nom du genre Lippi, en mémoire d'un naturaliste Italien d'origine Française, Augustin Lippi et puis un autre botaniste d'origine Espagnol en 1785 (Ozek. et al 1996).

II.3. Noms communs

Le terme citrodora signifie : « à odeur de citron ». Cette plante possède aussi les noms suivants : Aloysia citrodora, verveine à trois feuilles, thé arabe, herbe Louise (Pierre.M, 2002) Il possède plusieurs nominations suivant les langues courantes de chaque pays (Bonjean.A, 2001) (Pierre.M, 2002) :

- ✓ Nederland : Citroenkruid, Citroenverbena, Lemonverbena
- ✓ Allemagne : Zitronenkraut, Zitronenkrout, Zitronenverbene.
- ✓ France : Herbe-Louise, Verveine citronnelle, Verveine citronnée, Verveine du Pérou.
- ✓ Grande Bretagne : Lemonverbena, Herb Louisa, Lemon Beebrush, LemonVerbena,

Lemon-scentedVerbena.

- Italie : Cedrina, Cedronella, Erba-Luigia, Verbenaodorosa.
- Espagne : Cedrôn de Peri, Cidrén, Hierba Luisa, Hierbacidrera.

II .4. Description botanique

Aloysia citrodora, La verveine odorante, Lippia citrodora ou Aloysia triphylla est un sous arbrisseau vivace de la famille des Verbénacée mesurant 2 à 3 m de hauteur (De Figueiredo et al. 2002).Portant des feuilles vertes pâles, allongées, celle-ci ont une longueur de 3 à 7 centimètres et une largeur de 1 à 2 centimètres, verticillées par trois ou quatre sur les tiges, à pétioles très courts, rudes au toucher. Les fleurs longues, disposées en épis, possèdent quatre pétales soudées à la base en un tube et étalés en quatre lobes bicolores : blancs sur la face externe et bleu violacé sur la face interne ,Figure 02(Loaec. M..H, 2000) (Ghédira et Goetz, 2017)

Les tiges sont anguleuses, cannelées à branches droites et ramifiées, Elles dégagent une odeur caractéristique de citron lorsqu'elles sont froissées (Hadni D, 1982).

Figure02 : Photographie des fleurs et feuilles d'*Aloysia citriodora*
(Anonyme .2017).

II.5.Classification botanique

La classification botanique de l'espèce *Aloysia citriodora* est donnée par le tableau 01.



Tableau01 : Classification botanique d'*Aloysia citriodora* (Taleb-Toudert.K ,2002), (Ghédira et Goetz, 2017).

Règne	Plantea
Super-division	Embryophyta
Division	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Superordre	Asteranae
Ordre	Lamiales
Famille	Verbenaceae
Genre	Aloysia Juss
Espèce	Aloysia citriodora

II.6. Composition chimique

Une première analyse d'Aloysia composition avait été réalisée au laboratoire Cette étude rapportent la présence dans l'infusé de flavonoïdes, principalement la lutéoline 7- diglucuronide, et de dérivés hydroxycinnamiques dont le principal est le verbascoside. Récemment, des études ont identifié dans l'infusion de verveine odorante, outre la lutéoline 7-diglucuronide et le verbascoside, des dérivés diglucuronidés d'apigénine et de chrysoériol ainsi qu'un isomère du verbascoside, l'isoverbascoside.

Bien que l'infusé de feuilles d'Aloysia citrodora soit largement consommé, sa composition qualitative et quantitative en polyphénols est encore mal connue.

II.7. les caractères d'Aloysia citrodora L

Les caractéristiques de la plante aloysia peuvent être résumées comme suivant :

- ❖ **Nom** : Verveine citronnelle.
- ❖ **Autre nom** : Verveine odorante. Verveine du Pérou. Verveine à trois feuilles. Thé arabe. Aloysie à odeur de mélisse. Aloyse citronnée.
- ❖ **Nom scientifique** : *Aloysia citriodora Palau*.
- ❖ **Synonymes** : - *Aloysia sleumeri* Moldenke, *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton, *Lippia citriodora* (Palau) Kunth, *Zappania citriodora* (Palau) Lam, *Verbena citriodora* (Palau) Cav, **Ordre** : Lamiales.
- ❖ **Famille** : Verbenaceae – Verbénacées.
- ❖ **Genre** : *Aloysia* Palau. 1 espèce(s) dans le genre *Aloysia*
- ❖ **Espèce** : *Aloysia citrodora*.
- ❖ **Origine** : Pérou. Bolivie. Chili. Uruguay. Argentine. Amérique du Sud
- ❖ **Type** : aromatique vivace
- ❖ **Couleur** : fleurs blanches
- ❖ **Semis** : oui
- ❖ **Plantation** : avril-mai
- ❖ **Floraison** : juin à septembre
- ❖ **Hauteur** : 1 m (et bien davantage dans sa région d'origine)

II.8. Habitat et culture d'Aloysia citrodora

Aloysia citrodora 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 (Pascual ME. et Siowing.K et Carretero E.Sanchez Mata D.Villar ,2007). L'Aloysia citrodora s'acclimate d'un sol perméable, bien drainé et des endroits ensoleillés ou semi-ombragés, abrités des vents froids. Elle exige un sol frais en été, sans excès d'humidité qui entraîne la pourriture de ses racines. Elle doit être paillée en hiver pour la protéger du gel, car elle ne supporte pas les températures inférieures à 4 °C (Botrel.A ,2001)

II.9.Principaux pays producteurs et exportateurs d'Aloysia :

Selon EL Hmamouchi (2006), les pays classés comme suit :

- Les pays exportateurs sont le Chili, le Maroc
- Les pays producteurs sont le Mexique, le Chili, le Brésil, le pourtour méditerranéen

(Maroc, Algérie, Turquie, France), l'Afrique du sud et l'Inde.

II.10. Mode de préparation de l'infusé d'Aloysia citrodora

Elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes actifs. En laissant reposer la mixture pendant 5 à 10 minutes. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes : feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants thermolabiles comme les huiles essentielles (Kraft et Hobbs, 2004). Pour conserver les infusions, il faut les embouteiller à chaud (à environ 80 °C ou 90- 100°C selon les plantes), elles sont stockées pour quelques jours au froid (Chaboussou et Chabauty, 2013).

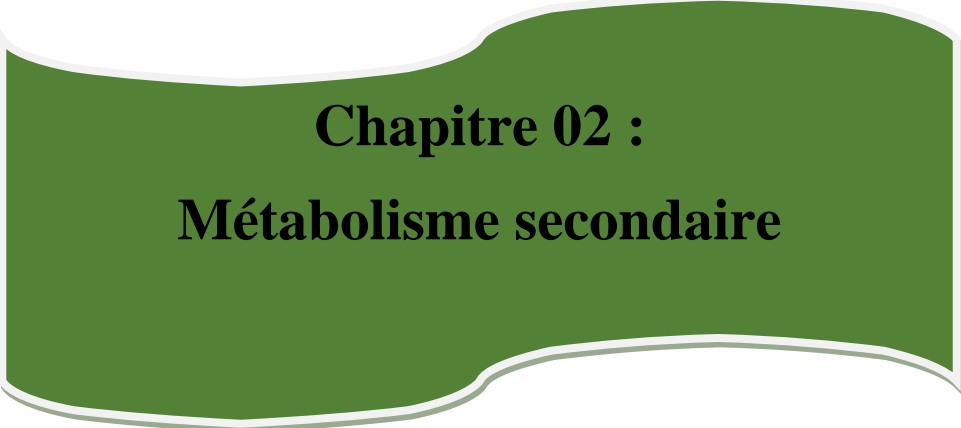
II.11. Marché d'Aloysia citriodora

Principalement pour la consommation en herboristerie mais aussi de l'huile essentielle. Le Kg de plante sèche varie de 5 à 10 Euro. Celui de l'essence était d'environ 15 000 Euro/kg. L'arrivée de nouveau producteur sur ce marché a fait baisser les prix, actuellement il se situe entre 7 000 et 10 000 Euro/kg (EL Hmamouchi, 2006).

III. Effet thérapeutique d'Aloysia citrodora

Aloysia citriodora est une herbe largement utilisée à des fins alimentaires. Elle a connu une longue histoire dans la médecine traditionnelle tel que le traitement de l'asthme, du rhume, de la fièvre et de la grippe, elle est utilisée pour lutter contre les flatulences, les coliques, la diarrhée, l'indigestion, l'insomnie et l'anxiété (Abuhamdah et Mohammed, 2013). L'aloysia citrodora est également utilisée contre les états nerveux, les palpitations, les migraines, les bourdonnements d'oreille et les vertiges, elle est également utilisée pour baisser le taux de glycémie (Pascual et al, 2001). Les huiles essentielles de cette plante sont utilisées dans le traitement des cancers (Yousef et al , 2013).Des analyses menées in vitro à l'aide de différents tests ont permis de montrer les propriétés antioxydantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires de l'infusé. Des chercheurs ont montré que l'huile essentielle d'Aloysia citriodora

possède une activité antibactérienne vis-à-vis d'Escherichia coli, de Mycobacterium tuberculosis, de Staphylococcus aureus et autres (Cheurfa et Allem, 2015).



Chapitre 02 :
Métabolisme secondaire

I. Métabolismes secondaire :**I.1.Généralité**

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leurs capacités à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils s'accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix *et al*, 2005).

Les métabolites secondaire ne sont pas essentiels à la croissance et au développement de base de plantes, mais ils peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétale lui-même (Merghem, 2009).

Ces métabolites secondaires exercent cependant une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. Ils participent ainsi, de manière très efficace, à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaques de pathogènes, prédateurs d'insectes, sécheresse, lumière UV) (Colmar, 2007).

I.2.Définition

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge *et al*, 2002 ; Abderrazak et Joël, 2007).

Les plantes utilisent les métabolites primaires pour produire les métabolites secondaires (Hopkins, 2003).

I.3.Relation entre le métabolisme secondaire et primaire

Le métabolisme est l'ensemble des processus chimiques qui se produisent dans les organismes vivants afin de maintenir la vie. Des milliers de composés chimiques sont impliqués dans le métabolisme des organismes vivants. Ces composés sont appelés métabolites et ils sont des intermédiaires et des produits du métabolisme.

Les métabolites primaires et les métabolites secondaires sont les deux catégories de métabolites présents dans les organismes vivants.

Les deux sont de petites molécules qui agissent comme des molécules de signalisation, des catalyseurs, des stimulateurs ou des inhibiteurs de toute activité métabolique dans le corps.

La différence principale entre métabolites primaires et métabolites secondaires est que les métabolites primaires participent directement au développement de la croissance primaire et à la reproduction tandis que les métabolites secondaires sont indirectement impliqués dans les métabolismes tout en jouant des fonctions écologiques importantes dans le corps (Anonyme .2022).

I.4.Principaux métabolites secondaires du genre *Aloysia citrodora*

De nombreuses études phytochimique sur des espèces du genre *Aloysia citrodora* ont révélé la richesse de ces dernières en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les Tanins, les acides phénols, les huile essentielle qui sont les principale composant de cette espèce (Anonyme.2022).

I.5.Classification de métabolisme secondaire

I.5.1.Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont en effet des éléments importants, de qualités sensorielles (Couleur ; astringence) et nutritionnels des végétaux que consomme l'homme et leur intervention dans la santé est maintenant reconnue dans des domaines variés (Manchado et Cheynier, 2006). Les composés phénoliques (ou polyphénols) regroupent plusieurs milliers de molécules caractérisées chez les végétaux (Albrecht *et al*, 1999 ; Clé *et al*, 2008). Ils possèdent tous un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (OH-) (Macheix *et al*, 2005 ; Benhamou, 2009) tableau 02

Tableau02 : Les différents groupes de composés phénoliques. D'après Macheix et al, (2005)

Squelette carboné	Nom du groupe
C6	Phénols simples
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques
C6-C3	Acides phénoliques
C6-C4	Naphtoquinones
C6-C2-C6	Stilbènes
C6-C3-C6	Flavonoïdes
(C6-C3)2	Lignanes
(C6-C3) n	Lignines
(C15) n	Tannins

a. Localisation

Les polyphénols sont probablement, les composés naturels les plus répandus dans la nature on les trouve essentiellement dans les cellules épidermiques des fruits et légumes ainsi que dans les fleurs de plusieurs plantes L'ensemble des propriétés physico-chimiques des polyphénols végétaux fait des substances des écrans efficaces contre les rayons ultraviolets du soleil (Guignard et al, 1985).

I.5.2. Acide phénolique

Les acides phénoliques constituent un groupe important de composés organiques naturels avec un large spectre d'activités pharmacologiques, ils possèdent des propriétés non seulement antioxydantes, mais également des propriétés antivirales et antibactériennes. L'activité antioxydant phénolique est généralement combinée avec des groupes hydroxyles trouvé dans leurs molécules (Cazes, 2005). Sont les principaux polyphénols alimentaires (Watson et al. 2013), ils sont présents dans tous les fruits et les légumes et représentent environ un tiers de la teneur totale de l'alimentation en polyphénols (Sharma et al. 2015).

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts que sont les acides hydroxycinnamiques (C6-C3) et les acides hydroxy benzoïques (C6-C1) (Arimboor ; Kumar et al, 2008).

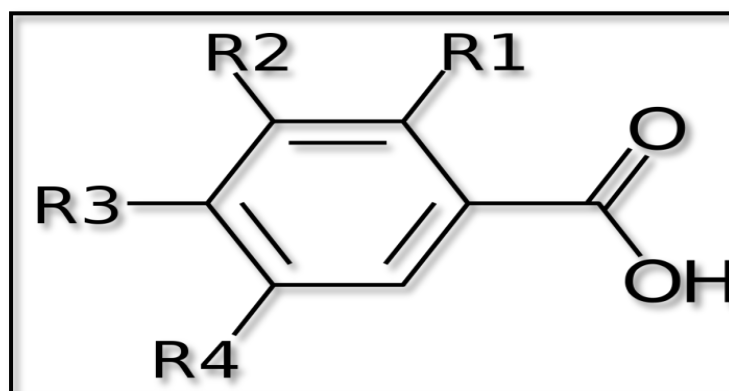


Figure03 : Acides hydroxycinnamiques (C6-C3) (Han et al, 2007 ; Chira et al, 2008)

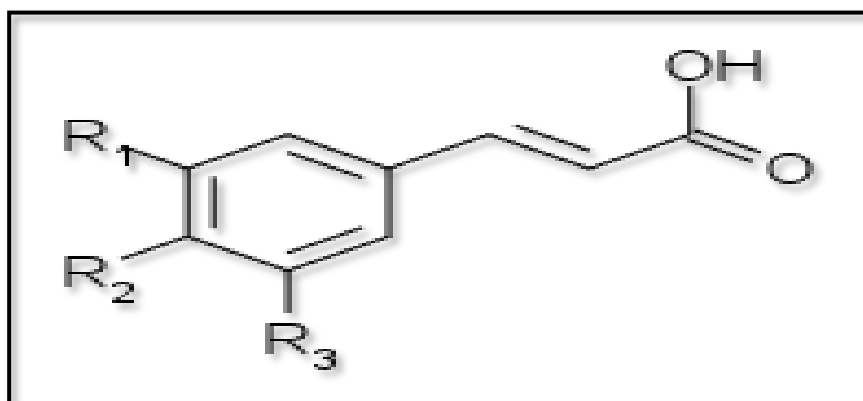


Figure04 : Acides hydroxy benzoïques (C6-C1) (Bruneton, 2008).

I.5.3.Flavonoïdes

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

Largement répandus dans le règne végétal avec plus de 4000 composés ayant des propriétés pharmaceutiques diverses. Ils sont toujours hydrosolubles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigment (Guignard *et al*, 1985).

a. Localisation

Les flavonoïdes sont présents d'une manière générale dans toutes les plantes supérieures (Angiospermes). Ils sont localisés dans les divers organes, racines, tiges, feuilles, bois, pollens, Fleur et fruits. Se trouvent généralement dans les vacuoles, parfois dans le cytoplasme (Hadjadj et Labebe, 1993). Ils se rencontrent parfois dans la cuticule foliaire (Bruneton, 1993).

b. Structure chimique

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles benzéniques en C6 (A et B) reliés par un hétérocycle de 3 atomes de carbone (C) (Nutr, 1996).

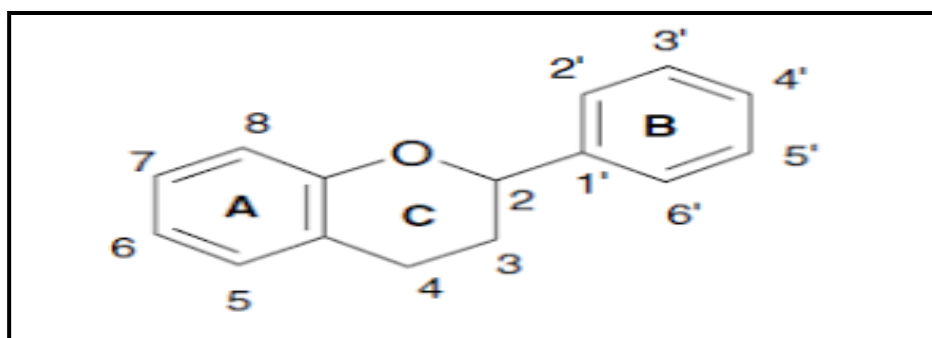


Figure 05 : Structure chimique de base des flavonoïdes (Nutr, 1996)

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (Dacosta, 2003).

C. Classification des flavonoïdes

Selon les modifications de l'hétérocycle, ces composés sont regroupés en divers sous-groupes incluant les anthocyanidines, les flavonols, les flavones, les flavanols, les flavanones, les chalcones, les isoflavonoïdes (Treutter, 2006).

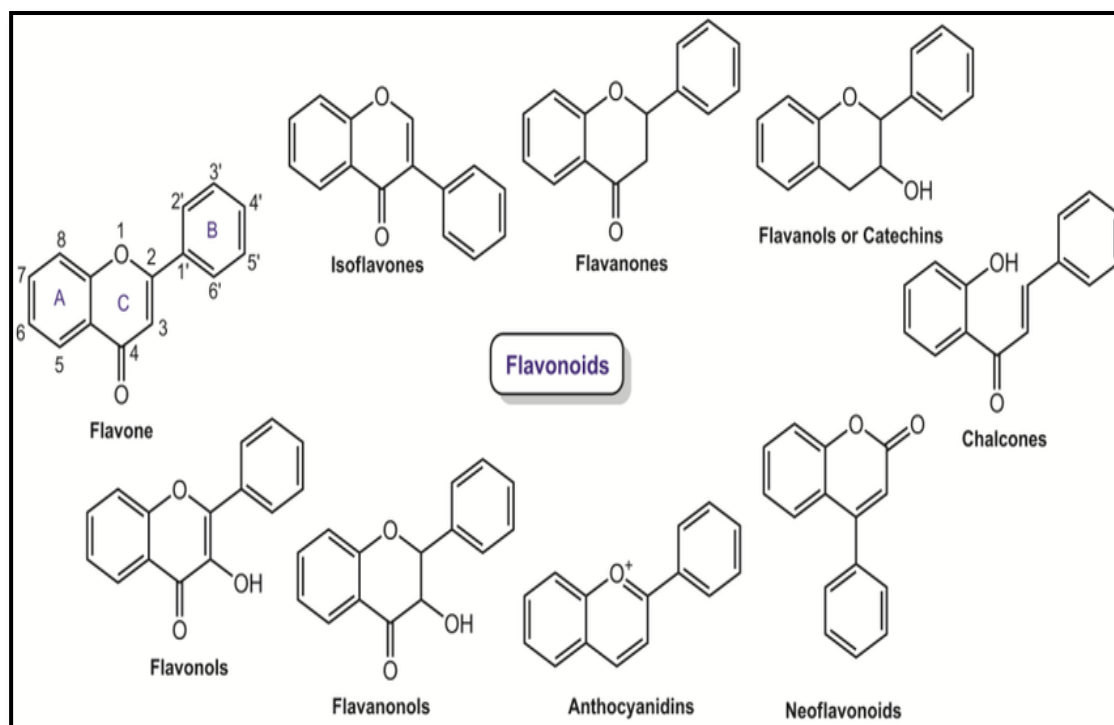


Figure06 : Structures de quelques classes des flavonoïdes (Gamet-Payraastre et al, 1999).

I.5.4.Coumarines

Sont des composés aromatiques naturels, largement distribués dans le règne végétal, ils inhibent la croissance et la sporulation des champignons et autres microorganismes qui sont pathogènes pour les plantes (Edardes, 2008).

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus. Elles se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Bossokpi, 2002).

Les coumarines sont des 2H -1-B enzopyran-2-ones que l'on peut considérer comme étant les lactones des acides O -hydroxy- Z-cinamique. Les coumarines furent isolées en 1820 à partir de la fève (Brunton, 1993). Ont une structure de base (C6-C3) dérivant des acides orthohydrocinnamiques (Collin et Crouzet, 2011). Différents dérivés coumariniques ont été isolés, habituellement, les substituants sont dans les positions C5, C6, C7 et C8 (ex : l'ombelliférone, l'hierniarine, l'aesculétine, la scopolétine, l'osthenol, l'osthol...) (Cazes, 2001).

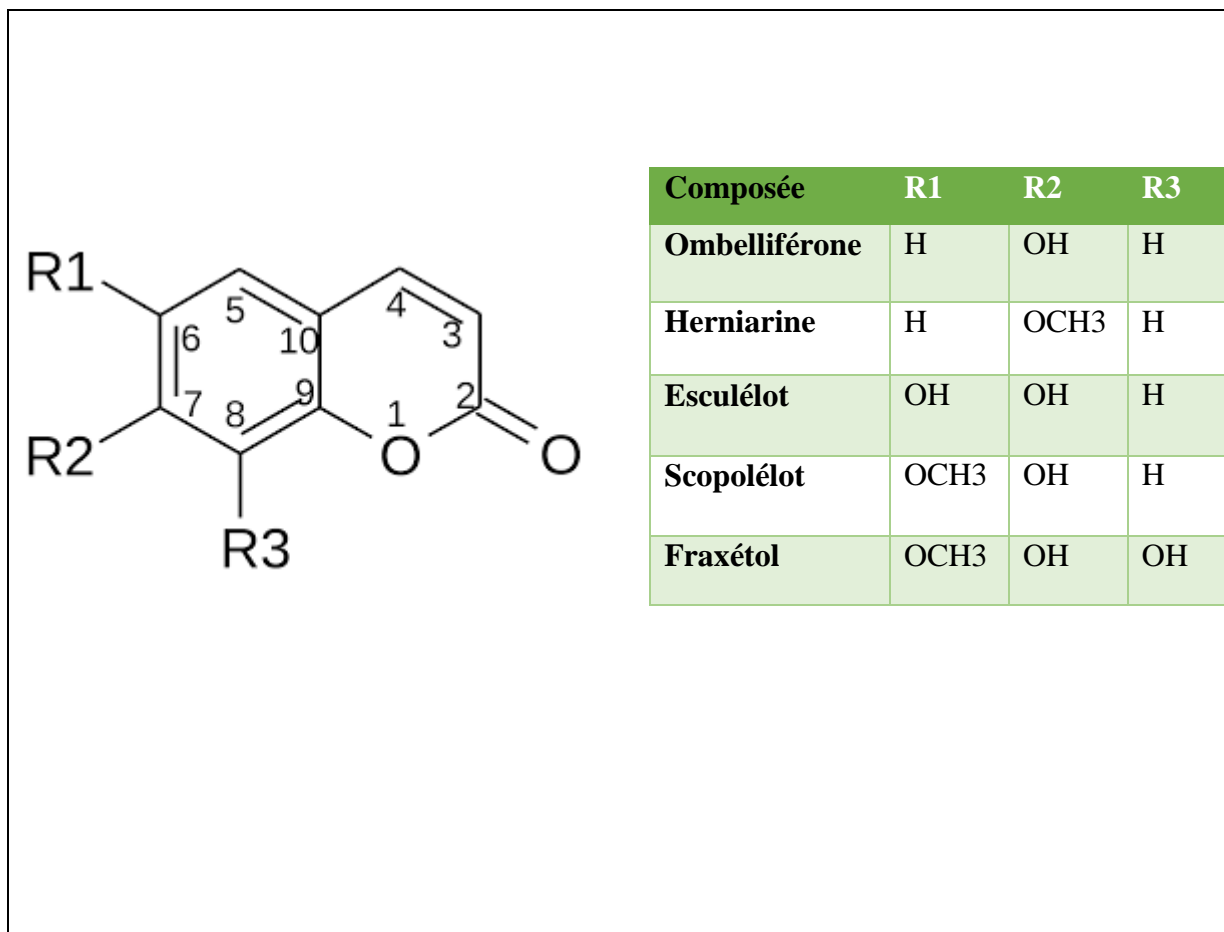


Figure07 : Structure de coumarine (Bruneton, 2009).

I.5.5. Les tanins

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour «tanner» les peaux d'animaux, autrement dit pour transformer une peau en cuir. Ces extraits contiennent des dérivés phénoliques qui se lient aux protéines et donc les dénaturent (Hopkins, 2003). Sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000, qui présentent à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines telles que l'albumine (Bruneton, 1993 ; Guignard et al, 1985).

Son rôle biologique dans la plante est lié à sa propre protection contre les infections, les insectes et les animaux herbivores (Khanbabaee et Ree, 2001), en plus de la protection contre les attaques fongiques et bactériennes (Peronny, 2005).

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fagacées, les Rosacées (Ghestem et al, 2001).

Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (Khanbabae et Ree., 2001).

Leur structure chimique est très variable mais comporte toujours une partie polyphénolique (Bouche, 2004). On distingue deux grands groupes de tanins, différent à la fois par leur réaction chimique et par leur composition : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Manchado et Cheynier, 2006).

a-Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques (Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique), et les tanins ellagiques (Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique) (Paris et Hurabielle, 1981).

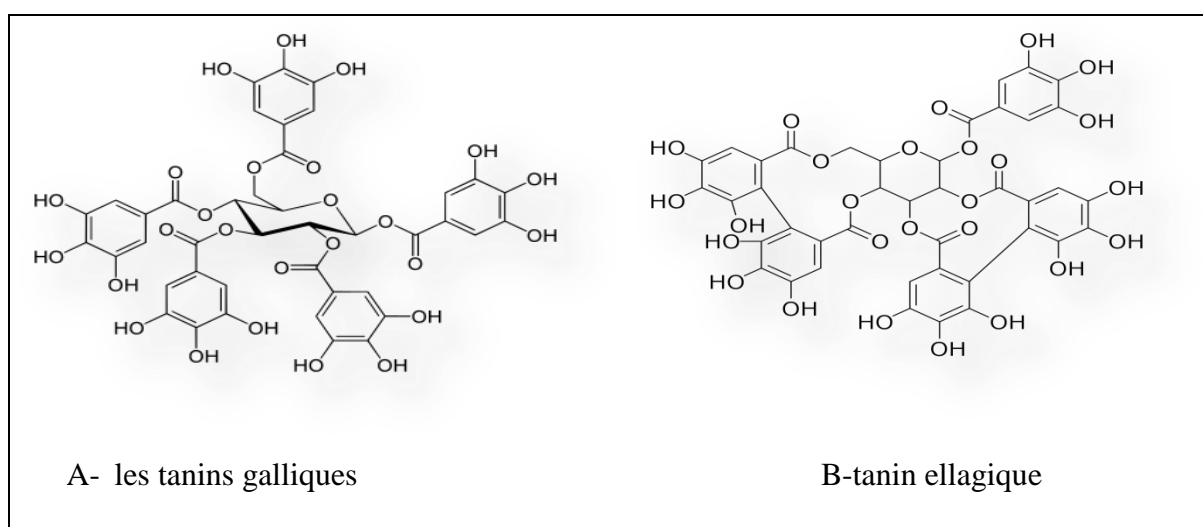


Figure08 : Structure des tanins hydrolysables et leur monomère (Bruneton, 1999).

b-tanins condensés

Les tanins condensés sont présents dans les vacuoles d'un réseau de cellules spécialisées, situées sous l'épiderme des feuilles et des tiges de certaines légumineuses tempérées (sainfoin, loier corniculé ou pédonculé) et tropicales herbacées (*Lespedeza sericea*, *des-modium intortum*) et arbustives, ainsi que dans les feuilles d'arbustes fourragers ...etc. (Jarrige et al, 1995).

Ils sont constitués d'unités de flavan3-ols liées entre elles par des liaisons carbone - carbone le plus souvent 4-8 ou 4-6. Contrairement aux tanins hydrolysables, ils sont résistants à l'hydrolyse et seules des attaques chimiques fortes permettent de les dégrader, ainsi, par traitement acide à chaud, ils se transforment en pigments rouge et pour cette raison, les formes dimères et oligomères sont dénommées « proanthocyanidines». (Mol et al, 1998 ; Winkel-Shirley, 2001).

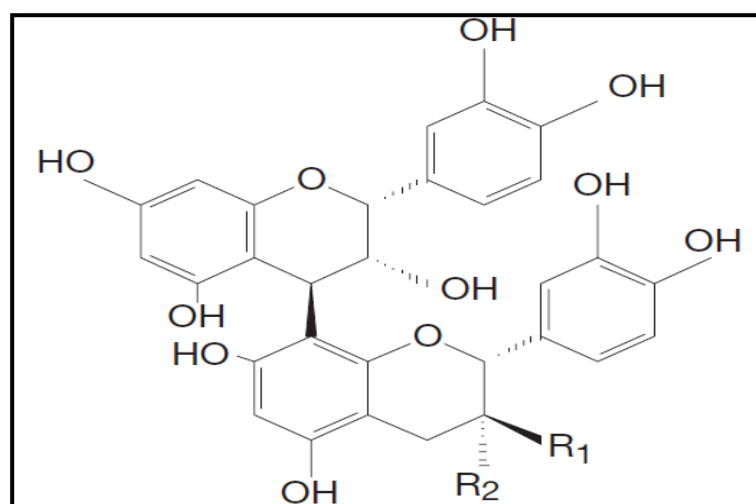


Figure9 : Structure de tanins condensés (Cowan, 1999).

I.5.6. Quinones

Les quinones sont des pigments naturels, la plupart sont jaunes pâles, rouges et bruns.

Ces couleurs sont masquées par les autres pigments. Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactives (Cowan, 1999).

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (ortho-quinones) (Bruneton, 1993).

On distingue 4 groupes :

Benz quinones (arthropodes), Naphtoquinones (angiospermes), Quinones isopréniques (photosynthèse et respiration) et Anthraquinones. Ces derniers, les plus répandus sont colorés en

orangé rouge et combinés à des sucres. Les émодоles sont des dérivés hydroxy anthracéniques (Chaouche et al, 2012).

I.5.7. Saponosides

Les saponosides (saponines) doivent leur nom au fait que comme le savon, elles produisent de la mousse en contact avec l'eau. Sont des molécules de forme hétérosidique. Ils se divisent en saponosides à gène tri terpénique et stéroïdien (Bruneton, 1999).

Les saponines stéroïdiques ont une structure chimique similaire à celle de nombreuses hormones humaines (cortisol et œstrogène) et confèrent aux plantes qui les contiennent une activité hormonale. Les triterpénoïdes sont de puissants expectorants, mais peuvent aussi faciliter l'absorption des éléments nutritifs (Larousse, 2001).

I.5.8. Composés réducteurs

Les glycosides sont le nom général d'un aglycone (partie non sucre) lié de manière covalente à un hydrate de carbone par un lien O-glycosidique, C-glycosidique ou N-glycosidique selon le type d'atome impliqué dans la liaison. Il est généralement accepté que les glycosides présentent une plus grande hydro-solubilité que leurs aglycones respectifs (Kren et Martinkova, 2001). C'est pourquoi, dans la plante, les glycosides jouent un rôle essentiel dans les phénomènes d'accumulation, d'entreposage et de transport des substances hydrophobes.

En effet, l'attachement d'une section saccharidique à une molécule donnée augmente sensiblement son hydrophilicité (De Roode et al, 2003).

I.5.9. Lignine

La lignine est un polymère fortement ramifié, formé par trois alcools phénoliques simples. Sont constitués 15 à 35 % du bois des angiospermes et gymnospermes.

La lignine des gymnospermes est essentiellement composée de sous-unités d'alcools coniféryliques, tandis que celle des angiospermes est un mélange de sous-unités d'alcools coniféryliques et synaptyliques. Les alcools sont oxydés en radicaux libres réagissent ensuite spontanément et au hasard pour former la lignine (Hopkins, 2003).

À partir de la condensation d'unités phénylpropanoïques on a les lignines. Quatre groupes peuvent être considérés : les lignines (liaison entre deux carbones β des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane), les néolignanes (un seul carbone β est en jeu), les

oligomères, (condensation de 2 à 5 unités phénylpropanoïque) et enfin les norlignanes avec un squelette en C17. (Djedadia., 2017).

Le rôle des lignines dans l'évolution des végétaux, ils forment une barrière mécanique, de goût désagréable, et réduisant la digestibilité des sucres de la paroi, les lignines participent à la résistance des plantes aux microorganismes et herbivores, la lignification est une réponse courante à l'infection ou la blessure (Murry et al, 1982).

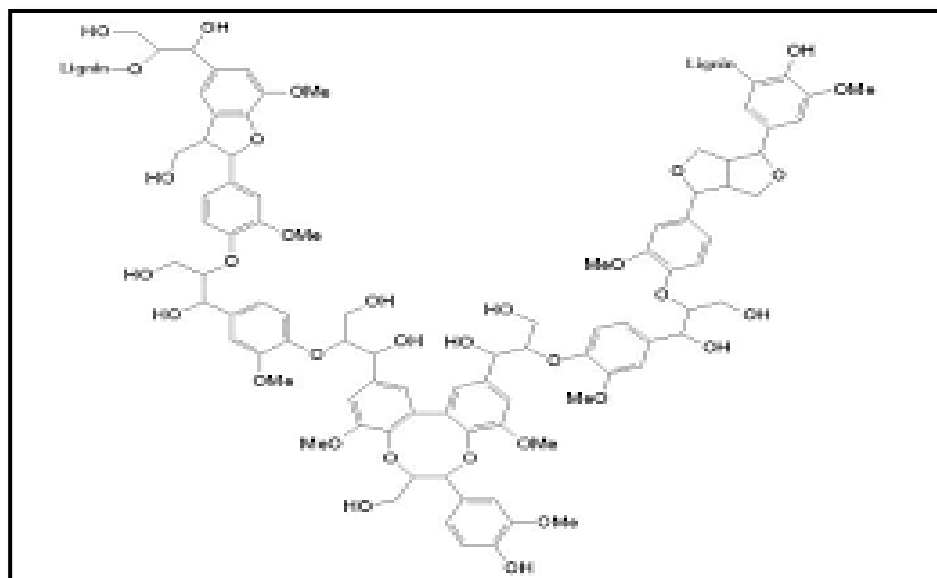


Figure10 : Structures chimiques de lignine (Scalbert et Williamson, 2000).

I.5.10. Alcaloïdes

Les alcaloïdes forment un grand nombre des familles très hétérogènes des métabolites secondaires représentant un intérêt de par leurs propriétés pharmacologiques et leur application en médecine (Vican, 2001). Leurs caractéristiques communes sont :

-la solubilité dans l'eau.

-la présence d'au moins un atome d'azote qui accepte souvent un proton, ce qui leur confère un caractère légèrement basique en solution. Dans leur majorité, les alcaloïdes soient, hétérocycliques, bien que quelques composés azotés aliphatiques, comme la colchicine soit parfois classée dans les alcaloïdes (Hopkins, 2003).

Les alcaloïdes sont d'origine naturelle, le plus souvent végétale. Ce sont des substances organiques azotés et basiques, doués, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées.

A l'état naturel, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tartrates, malates ...) ou combinés à des tanins (Bruneton, 2009).

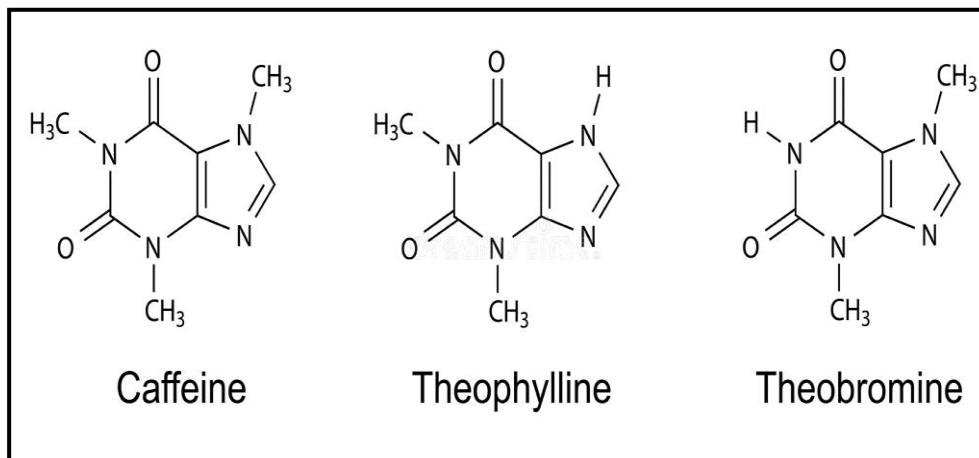


Figure11 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes (Bruneton, 2009).

I.5.11. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des végétaux d'odeur et de saveur généralement forte (Wichtl et Anton, 1993). Elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes.

La pharmacopée française (1965) définit les huiles essentielles comme des produits de composition généralement assez complexe renfermant les molécules volatiles contenues dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation.

La norme AFNOR NET 75-006 (1987) a donné la définition suivante : « produit obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.

a. Caractères chimiques des HEs

L'huile essentielle est constituée de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle.

Ces molécules sont différentes selon la nature de la plante, le sol, le temps de récolte, la partie de la plante, la préparation de l'échantillon, ainsi que la méthode d'extraction.

Les composés sont principalement des Mono terpènes et des sesquiterpènes de formule $(C_5H_8)_n$. Du strict point de vue chimique, les terpènes apparaissent comme des polymères d'un carbure d'hydrogène diéthylénique, l'isoprène. (Pibiri, 2006).

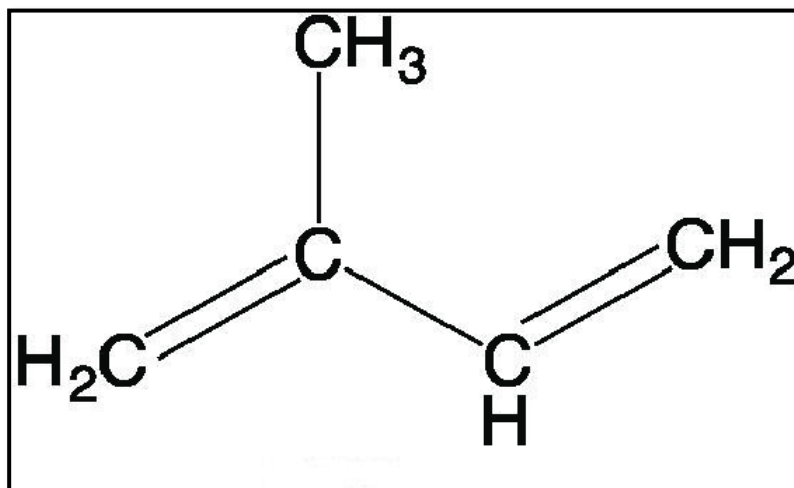


Figure12 : Structure de l'isoprène (Pibiri, 2006).

b. Principaux constituants des huiles essentielles d'*Aloysia citrodora*

Selon Slimani.N (2014), les résultats obtenus dans l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Aloysia citriodora* sont présentés dans le tableau 04 (Slimani.N et Dahmane.M, 2013)

Tableau03 : Principaux composés de l'huile essentielle d'*Aloysia citrodora* analysée par CG/MS (Slimani.N et Dahmane.M ; 2013)

Composants	Aire (%)	Temps de rétention (min)
Citral	11.3	6.25
Limonéne	10.6	7.46
4- Phényl undécan-4-ol	7.7	9.24
Curcumène	6.5	10.15
Cédrol	4.5	12.68
Carvéol	3.7	14.00
Linalool	3.5	14.97
Caryophyllène	2.8	16.22
Acétate de géranyle	1.8	19.98



Chapitre 03 :
Activité biologique

Introduction

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ces rites religieux (Mebarki.N, 2010). Les plantes sont capables de produire des substances naturelles très diversifiées : elles accumulent des métabolites dits secondaires parmi lesquels, les huiles essentielles très utilisées par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie (Haddouchi.F, 2008).

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiens L'oxygène (O₂) est le premier élément essentiel pour la vie, responsable d'un nombre de processus d'oxydation responsable au stress oxydatif (oxydant) (O'fel, 1982). Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant « un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels Nagata. T., Tsushida. T., Hamaya. E., Enoki. N., Manabe. S. et Nishino. C., 1985. Camellidins: antifungal saponins isolated from *Camellia japonica*. *Agric Biol Chem* 49, p.p. 1181–1186) et à des dégâts cellulaires irréversibles (Young *et al*, 1992). Ces huiles ont beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (Tahara *et al*, 1984).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires. (Harborne et Baxter, 1993).

I. Activité anti bactérienne

Les plantes synthétisent différents métabolites secondaires dotés d'activité antibiotiques mais en général cette activité est plus faible que celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne (Millet, 2010) Parmi ces métabolites on trouve les polyphénols qui sont doués de diverses importantes activités antimicrobiennes.

Depuis l'antiquité, les extraits aromatiques de plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme les médicaments et la parfumerie (Heath, 1981). Les huiles essentielles ont été considérées comme agents antimicrobiens les plus efficaces dans ces plantes.

Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, la première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (Boyle, 1995). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (Burt, 2004).

L'activité antibiotique correspond à l'activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue. La sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de l'antibactérien. Face à un antibactérien donné, la sensibilité d'une bactérie peut être très différente selon la souche d'appartenance (Bruneton ; 1999)

Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment de Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre. (Chabier J.Y (2010). Ces huiles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques (Hemingway R.W. (1992).

Leur activité antibactérienne est principalement en fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs. (Leclerc et al, 1995). Dont les facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles

I-1-1- Définition des bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires).elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1 µm. On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique. (Nauciel et Vildé, 2005).

I.1.2. Donnée sur les souches bactériennes utilisées

a. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est une bactérie sporulée, aéro-anaérobie facultative et thermorésistante. Ces caractéristiques lui confèrent une résistance particulière à l'action des bactéricides, aux désinfectants, aux radiations et au cycle froid (Cadel et al, 2010).



Figure13 : *Bacillus cereus* (Anonyme, 2018)

b-Staphylococcus aureus

Les *staphylocoques* sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et cultivent sur des milieux contenant 5% de Na Cl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs.

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, mais ils le sont plus fréquemment et en plus forte densité sur les surfaces cutano muqueuses des mammifères.

Il existe une certaine relation entre les espèces de *staphylocoques* et l'hôte qui les héberge. *Staphylococcus epidermidis* est l'espèce la plus fréquente et la plus abondante sur les surfaces cutanées de l'homme. *Staphylococcus aureus* est l'espèce prédominante chez l'homme et autres mammifères, la cavité nasale de l'homme est sa niche préférentielle. Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. L'espèce *Staphylococcus aureus*, responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses (furuncle, impétigo, staphylococcie maligne de la face, *staphylococcies bulleuses*, etc.), mais aussi osseuses (ostéomyélite), digestives (entéocolites post-antibiotiques), septicémiques. *Staphylococcus epidermidis* un agent de plus en plus fréquent d'infections nosocomiales (Leclerc et al. 1995)

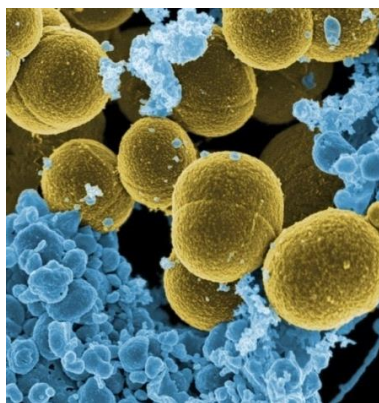


Figure14 : Morphologie des Staphylocoques sous microscope électronique (Elika, 2013)

c-Pseudomonas aeruginosa

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 μm de long et 0.5 à 0.8 μm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de « vol moucheron ». *P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéropastes. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3ème rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1er rang pour les infections pulmonaires basses et le 3ème rang pour les infections urinaires (Richard et Kiredjian, 1995).

d- Escherichia coli

Escherichia coli est un bacille à gram négatif (Patrick et al, 1988), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm (Steven et al, 2004).

Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néonatales. *E coli* est le germe responsable de 75 à 80 % des infections urinaires. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies. Ce genre comprend 5 espèces, mais *Escherichia coli* est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents.

Escherichia coli, un hôte commun de l'intestin de l'homme (108/g de selles), et des animaux ; elle est recherchée à ce titre, comme genre témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments.

A l'intérieur de l'espèce il y a des pathotypes souvent associés à des sérotypes particuliers. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastro-entérites et diarrhées) leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines. *Escherichia coli* entéropathogène (diarrhées infantiles), *Escherichia coli* entérotoxinogène (turista), *Escherichia coli* entéroinvasif (invasion des cellules intestinales), *Escherichia coli* entérohémorragique (diarrhées sanglantes), *Escherichia.Coli* entéroadhérent(diarrhée du voyageur).

D'autres responsables de méningites néonatales, provoquent des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies qui correspondent à un nombre restreint de sérotypes (Leclerc et al. 1995)



Figure 15 : Morphologie d'*Escherichia coli* sous microscope électronique
(Ari et Sezonov, 2008)

I.2. Activité fongique

Les antifongiques sont des substances (naturelles) capables de détruire sélectivement ou non les différents champignons rencontrés en mycologie. Ils s'administrent par voie locale ou générale (O'fel, 1982).

Relation entre l'activité antifongique et les métabolites secondaires Différentes espèces de végétaux sont connues depuis longtemps pour leurs effets antimicrobiens. Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. (Ouraini et al, 2005). Les végétaux produisent des composés secondaires (terpènes, composés soufrés, alcools etc.), souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante contre divers organismes dépréciateurs (Aauger et al,

1999). Ces composés secondaires appelés les métabolites secondaires. Les extraits de plantes semblent être l'une des méthodes alternatives les plus efficaces de lutte contre les maladies des plantes, moins nocives pour l'homme et l'environnement. (Hanafey et Sabry, 2013). Alors que les métabolites secondaires ont un effet antifongique.

Il y a plusieurs de mécanisme pour former les activités anti fongique qui sont :

Inhibition de la formation de paroi cellulaire

La paroi cellulaire fongique est principalement constituée de β -glucanes. Si la synthèse de ces composés est inhibée, l'intégrité de la paroi cellulaire va se perturber (Walker et White, 2011 ; Mc Clanahan, 2009).

Rupture de la membrane cellulaire

Les ergostérols sont essentiels pour la membrane cellulaire. Si ces stérols sont liés par des médicaments antifongiques, ou si leur synthèse est inhibée par des inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol, l'intégrité de la membrane cellulaire va se rompre. La membrane devient alors étanche. (Walker et White, 2011 ; Mc Clanahan, 2009).

Dysfonctionnement de la mitochondrie fongique

L'inhibition du transport d'électrons mitochondrial entraînera une réduction du potentiel membranaire mitochondrial. L'inhibition peut se produire via l'inhibition des pompes à protons dans la chaîne respiratoire, entraînant une réduction de la production d'ATP et la mort cellulaire subséquente. (Walker et White, 2011 ; Kim et al, 2013).

Inhibition de la division cellulaire

L'inhibition de la division cellulaire peut se produire par l'inhibition de la polymérisation des microtubules, inhibant ainsi la formation du fuseau mitotique (Walker et White, 2011 ; Mc Clanahan, 2009).

Inhibition de la synthèse ARN / ADN ou synthèse protéique

Si l'agent antifongique pénètre dans la cellule, par exemple via un transport actif sur des ATPases, et interfère avec l'ARN, il peut provoquer une synthèse d'ARN défectueuse et une inhibition de la transcription de l'ADN. L'inhibition de la synthèse des protéines est également une cible antifongique connue (Clanahan, 2009).

Inhibition des pompes d'efflux

Les pompes à efflux sont présentes dans toutes les cellules vivantes et leur fonction est de transporter des substances toxiques hors de la cellule (Kang et al, 2010). Ce transport inclut souvent le transport du médicament accumulé hors de la cellule fongique. La surexpression des pompes d'efflux peut conduire à une pharmacorésistance. En inhibant les pompes d'efflux, on pense que la résistance aux médicaments peut être réduite (Kang et al, 2010).

I.3. Activité Antibiotiques

Qui s'oppose à la vie, terme créé par Waksman (Schultz et Nicholas, 2000). Ce sont des substances chimiques élaborées par des microorganismes ; ces substances possèdent le pouvoir d'inhiber la croissance ou le développement d'autres microorganismes (bactéries) que la vancomycine, la streptomycine, la pénicilline et la céphalosporine. D'autres antibiotiques sont semi-synthétiques (ampicilline) et résultent de la modification des antibiotiques naturels par l'addition d'un groupement chimique. Plusieurs autres sont totalement synthétiques comme les sulfamides (Hanafey et Sabry, 2013). (Quezel et Santa, 1963). dans lesquelles elles pénètrent en perturbant le métabolisme et entraînent leurs destructions en s'attaquant directement à leurs structures indispensables comme la paroi cellulaire, les ribosomes, membrane plasmique et ADN (Atik bekara *et al*, 2007).

Ou en agissant spécifiquement sur une étape essentielle de ce dernier (Hartmann, 2007). Mais qui sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules humaines ou animales (Mehani *et al*, 2016). Le cadre des antibiotiques était limité d'abord à des substances d'origine biologique produites par des champignons, s'est élargi plus tard et comprend actuellement d'autres produits possédant la même action antibactérienne, mais obtenus par synthèse. (Ouraini *et al*, 2005).

I.4. Antimicrobiens

Depuis quelques années, les recherches sont orientées vers la caractérisation de nouveaux agents antimicrobiens d'origine naturelle comme les peptides bactériens, les bactériophages et les molécules bioactives des plantes qui peuvent substituer les antibiotiques classiques ou agir d'une manière synergique avec ces derniers. Les plantes synthétisent différents métabolites secondaires dotés d'activité antibiotiques mais en général cette activité est plus faible que celle exercée par les antibiotiques d'origine microbienne ((Hanafey et Sabry, 2013).

Parmi ces métabolites on trouve les polyphénols qui sont doués de diverses importantes activités antimicrobiennes, cette diversité est probablement reliée à leurs diversités structurales

Les phénols sont généralement bactéricides vis-à-vis des bactéries Gram+ et Gram-. Cet effet est probablement dû à l'inhibition de certaines enzymes (Bruneton, 1993). L'hydrophobie des polyphénols est aussi un critère de toxicité qui leur permet de s'insérer dans les phospholipides membranaires des bactéries et exercer leurs effets antibactériens (Tyler, 1881).

La déstabilisation de la membrane cytoplasmique pour la rendre perméable, l'inhibition des enzymes bactériennes extracellulaires, l'action sur le métabolisme bactérien et la privation des substrats requis pour la croissance bactérienne, spécialement les micronutriments minéraux essentiels comme le fer et le zinc sont des mécanismes adaptés par les proanthocyanidines dans l'inhibition des bactéries (Walker et White, 2011 ; Mc Clanahan, 2009).

L'activité des flavonoïdes est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (Aouadhi, 2010).

Les flavonoïdes sont capables aussi de détruire la membrane cytoplasmique des cellules bactériennes (Decaux, 2002), ou de changer sa fluidité (Hartmann, 2007).

Les flavonoïdes peuvent aussi interférer avec le métabolisme énergétique des bactéries. En effet, les retrochalcones et le flavanone lonchocarpole A inhibent fortement la consommation d'oxygène (Monod, 1978).

Les tannins ont la capacité d'éliminer un nombre de facteurs de virulence microbienne. Ils peuvent inhiber la formation de biofilms, réduire l'adhésion aux ligands de l'hôte et neutraliser des toxines bactériennes, comme ils peuvent établir une synergie avec certains antibiotiques (Heinrich *et al*, 2006).

I.5. Activité antioxydant

L'oxygène (O₂) est le premier élément essentiel pour la vie, responsable d'un nombre de processus d'oxydation responsable au stress oxydatif (oxydant) (Quizel et Santa, 1963) Selon les points de vue actuels, le stress oxydant peut être défini comme étant « un déséquilibre entre la production et l'élimination des métabolites réactifs de l'oxygène et du nitrogène en faveur de leur production conduisant à des dommages potentiels (Guzman, 1999). Et à des dégâts cellulaires irréversibles (Guzman, 1999). Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (Hostettmann, 1997). Un antioxydant est une molécule qui possède une

capacité à capter ou piéger les radicaux libres produits spontanément et d'une façon continue dans l'organisme vivant (Aouadhi, 2010).

Le pouvoir antioxydant des HE est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir

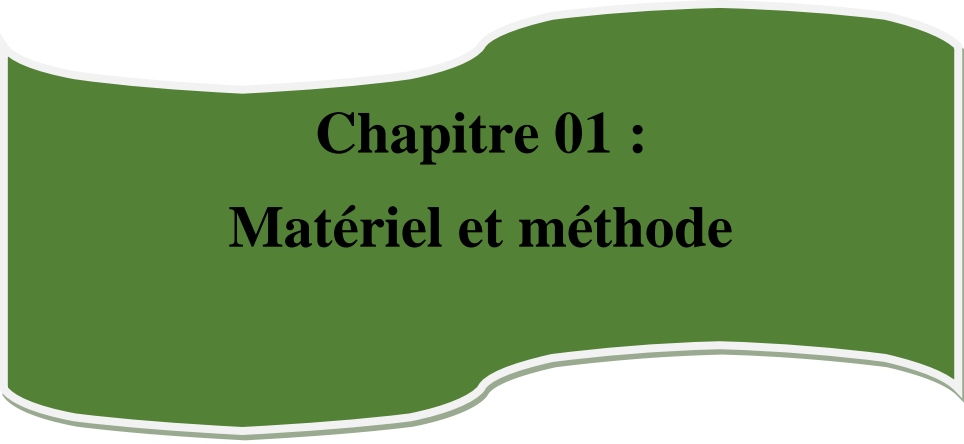
Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) ou l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits

L'activité antioxydant des polyphénols

L'activité antioxydant des polyphénols assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes pour la santé et la beauté de la peau (Zalat et Gilbert, 1999). La capacité antioxydante de plusieurs fruits est due à la présence de flavonoïdes, en fait, la plupart des constituants polyphénoliques montre un pouvoir antioxydant élevé en comparant avec d'autres antioxydants tels que la vitamine C, la vitamine E, et le β -carotène (Bouraoui, 2003). La consommation des composés phénoliques provoque une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL). En limitant leur incrustation dans les parois des artères. (Hanafey et Sabry, 2013).



Partie 02 :
Etude expérimentales



Chapitre 01 :
Matériel et méthode

I .Etude expérimentale :

L'étude a été effectuée au laboratoire de Centre Universitaire Abdelhafid Bousouf de Mila, au cours de l'année universitaire 2021/2022 sur l'espèce *Aloysia citrodora*.

I.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude porte sur les feuilles d'*Aloysia citrodora* ; qui s'appellent localement «Tizana », achetées d'un herboriste de Tasala wilaya de Mila, de l'année 2021, fig.16



Figure16 : feuilles d'*Aloysia citrodora* (photo personnelle)

I.2 Souches bactériennes utilisée

L'activité antibactérienne des extraits éthanolique d'*Aloysia citrodora*, a été évaluée vis-à-vis quatre souches bactériennes tableau04.

Tableau04 : Souches bactériennes utilisées dans le test antibactérien. (Apporter par nos enseignantes Ben Siraj et Amari, 2022)

Souches	Gram	Famille
<i>Bacillus cereus</i>	+	Bacillaceae
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Staphylococcaceae
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Pseudomonadaceae
<i>Escherichia. Coli</i>	-	Enterobacteriaceae

I.3 Etude phytochimique

I.3.1 Préparation des échantillons (feuilles)

Pour faciliter l'extraction des extraits bruts à partir des feuilles de la plante étudiée, deux opérations de prétraitement de ce matériel ont été effectuées :

- ✓ **Séchage :** Le séchage des feuilles d'*Aloysia citriodora* est effectué à l'aire libre à température ambiante pendant 10 jours puis dans une étuve portée une température voisine de 37°C pendant 24 heures. (Modifier)
- ✓ **Broyage :** Les feuilles séchées sont ensuite broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à devenir une poudre puis conservées dans un sachet propre qui sert ultérieurement à l'extraction.



Figure 17 : la poudre de la feuille d'*Aloysia citriodora* (photo personnel 2022)

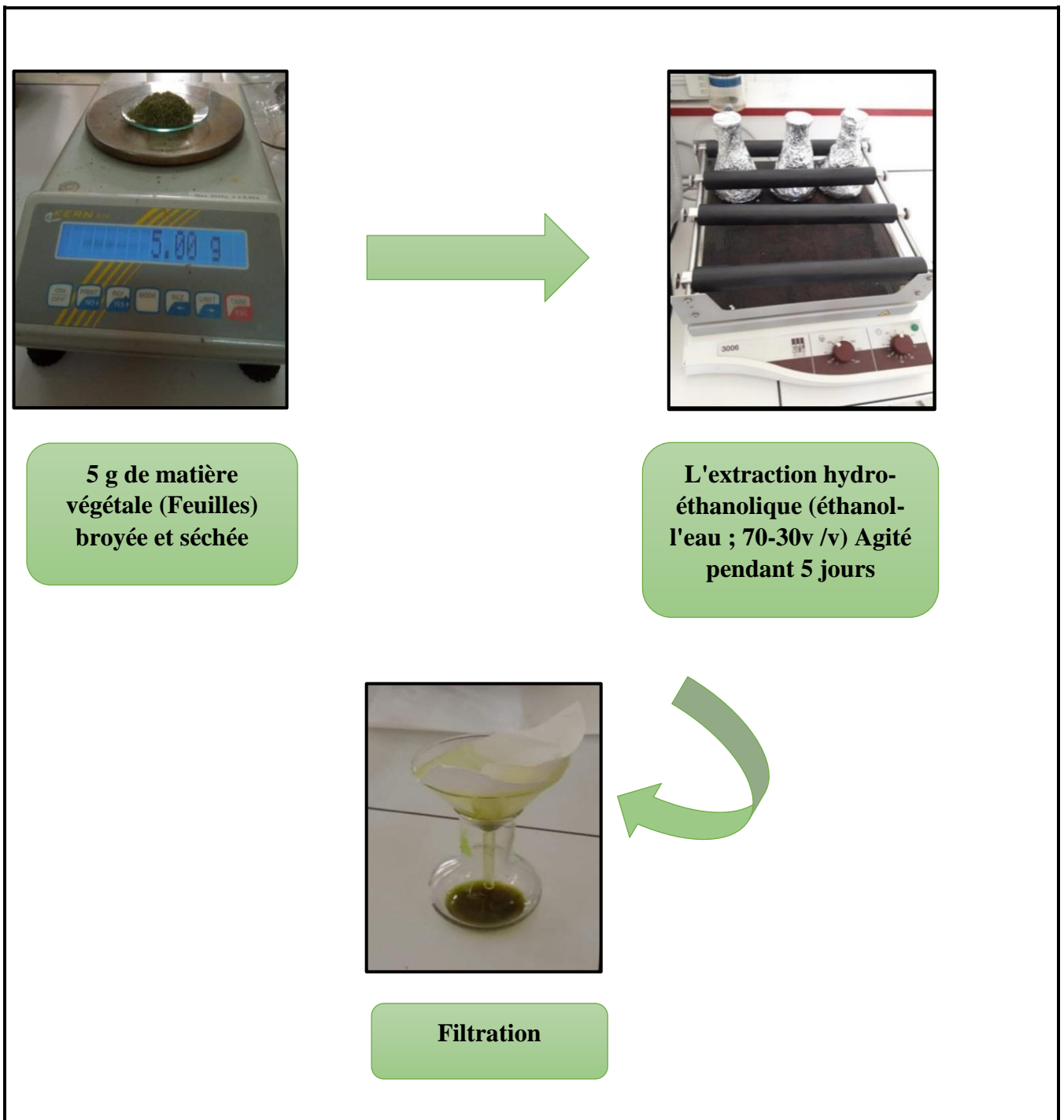
I.3.2 Extraction

Cette étape consiste à extraire au maximum les extraits bruts contenus dans les organes (feuilles) d'*Aloysia citrodora*. En utilisant la méthode de macération.

Principe

La macération est une opération qui consiste à laisser le matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs (Ribereau-Gayou J.B, 1968, Bruneton J, 1999).

C'est une extraction qui se fait à température ambiante. Les extraits bruts sont obtenus par la méthode de macération prolongée (5jours) à une température ambiante par l'Ethanol, selon la méthode décrit par Abaza et *al*, (2007), fig.18



5 g de matière végétale (Feuilles) broyée et séchée

L'extraction hydro-éthanolique (éthanol-l'eau ; 70-30v /v) Agité pendant 5 jours

Filtration

Figure18 : Protocole d'extraction (photo personnelle, 2022)

Nous avons utilisé la solution obtenue après la filtration pour la Screening phytochimique

II. Screening phytochimique :

Le screening phytochimique met en évidence la présence des familles de molécules actives, c'est une étude qualitative utilisée pour connaître la composition chimique globale des extraits. Elle est basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation, des observations sous lampe UV peuvent être aussi utiles.

-Recherche des substances polyphénoliques

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique (FeCl_3), à 2 ml de l'extrait, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols (Békro et *al*, 2007).

-Recherche des quinones libres

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%.

L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyde, 2005).

-Recherche des saponines : test de mousse

Dans un tube à essai, introduire 2 ml de l'extrait à analyser, ajouter 2 ml d'eau distillée chaude, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'une mousse indique la présence des saponines (Harborne, 1998).

-Recherche des composés réducteurs (les glycosides)

Pour détecter ces molécules, un mélange constitué de 1 ml d'extrait, 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling est chauffé à 90°C dans un bain marie, un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (Trease et Evans, 1987)

-Recherche des coumarines

Le résidu de chaque extrait est dissout dans 2 ml d'eau distillée chaude. Le mélange est partagé dans deux tubes. On ajoute à un des tubes 0.5 ml de NH_4OH à 25 %, ensuite, quelques gouttes de chaque tube est prélevée puis déposée sur un papier filtre qui sera observé sous U.V. à 366 nm (Bruneton, 1999). Une fluorescence intense est observée pour le tube contenant le NH_4OH .

-Recherche des tanins

La présence des tanins est mise en évidence à macéré 10 g de la poudre avec 80 ml d'alcool éthylique (50 %) pendant quelques minutes, après filtration on agite le filtrat obtenu, puis on ajoute quelques gouttes de FeCl_3 au milieu. L'apparition d'une couleur verte prouve la présence des tanins (Kalla, 2012).

-Recherche des flavonoïdes

Pour le criblage des flavonoïdes, une solution à base de 5 g de poudre et 150 ml d'HCl (à 1%) a été préparée, après une macération de 24h, le mélange a été filtré. 5 ml du filtrat ont été ensuite récupérés puis rendus basiques par ajout progressif de KOH. L'apparition d'une couleur jaune atteste de la présence de flavonoïdes dans le milieu. (Tadros, 1979).

-Recherche des alcaloïdes

Nous avons procédé à une macération sous agitation pendant 02 heures de 02 g de la poudre végétale dans 40 ml de HCl dilué à 01%, Ce mélange est ensuite filtré. Dans un tube à essai, introduire 05ml de filtrat et ajouter quelques gouttes de réactif de Wagner. L'apparition d'un couleur marron indique la présence des alcaloïdes (Benzahi, 2001; Chaouch, 2001).

- Recherche des huiles

Selon Despiau (1978), le principe de l'extraction de l'huile consiste à effectuer une extraction par un solvant organique généralement c'est l'hexane à l'aide d'un dispositif Soxhlet d'une capacité de 250 ml. La farine est épuisée en matière grasse par le passage du solvant. On estime qu'une extraction est totale au bout de 6 heures. Une fois l'extraction est terminée les solvants sont éliminés à l'aide d'un Rota vapor. Cette extraction repose sur le principe suivant : les composés apolaires comme les corps gras sont insolubles dans les composés polaires comme l'eau mais solubles dans les solvants apolaires tels que l'hexane. Le point d'évaporation de l'hexane est inférieur à celui des matières grasses à extraire, il est donc très facile de les séparer par chauffage.fig.19.



Figure19 : Extraction de l'huile par soxhlet (photo personnelle, 2022)

III. Rendements des composés phénoliques :

III.1.Extraction des polyphénols

Pour calculer le rendement des extraits bruts on va faire cinq opérations des extractions ; pour cinq concentrations différents (100%, 75%, 50%, 25%) éthanolique et 100% de l'eau.

III.2.Préparation des extraits éthanolique :

Pour 100% :

Nous préparons 5g de la poudre de notre plante et 100ml d'éthanol ; prendre cette quantité de poudre est macérée dans 20ml d'éthanol sous agitation mécanique à température ambiante pendant 2h, après filtration, le filtrat obtenu est conservé dans un flacon jusqu'à l'utilisation. Ensuite on va prendre la poudre de filtre est macérée dans 20ml d'éthanol sous l'agitation pendant 2h, après filtration, conserve le filtrat obtenu dans un autre flacon.

Nous allons répéter le même processus et conserver le filtrat obtenu à chaque fois jusqu'à ce que la couleur de la solution résultante devienne blanche.

Lorsque la couleur devient transparent, on récupère toutes les solutions précédentes est soumis ensuite à une évaporation par rota-évapeur. Permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur vert foncée, qui est considéré comme étant l'extrait brut, qui est ensuite stockés dans des boîtes de Pétries en verre fermés hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

Pour 75% , 50%,25% ;. on fait les mêmes étapes Précédent.

III.3. Préparation de l'extrait aqueux :

Une quantité de 5g de *Aloysia citrodora* poudre de est macérée dans 100 ml d'eau distillé sous agitation mécanique pendant 24 h à une température ambiante. La solution obtenue est filtré à l'aide d'un papier filtre. Le filtrat est ensuite est soumis à une évaporation par rota- évapeur. Est ensuite évaporé en coure dans une étuve à une température de 40 °C pour éliminer l'eau. Le résidu sec obtenu est conservé dans des boîtes de pétrée.

$$R\% = (Me /Mv)x 100$$

R% : Rendement en %

Me : Masse de l'extrait après évaporation du solvant

Mv : la masse de matière végétale utilisée pour l'extraction

VI .Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne nécessite un travail dans des conditions de stérilisation strictes afin d'éviter les problèmes de contamination. En autre les solutions, le matériel et les milieux de cultures doivent être stérilisés par l'autoclavage.

L'inhibition de la croissance bactérienne *in vitro* a été étudiée par la méthode de diffusion par disque (l'aromatogramme) sur gélose. Le test sur les extraits de la plante préparés précédemment, s'est déroulé selon les étapes suivantes :

VI.1. Préparation des milieux

La préparation des milieux effectués par les méthodes suivantes :

➤ **Préparation de milieu MH (Mueller Hinton) :**

Pour la préparation de la gélose Mueller Hinton on introduit 38g de MH dans un erlenmeyer auquel est ajoutée 1L d'eau distillé, le mélange obtenu est semis sous agitation continue à une température élevé sur une plaque chauffante jusqu'à le bouillage, le milieu sera divisée dans des flacons en verre. Le milieu MH a été préparé pour le but du repiquage des souches. fig.20

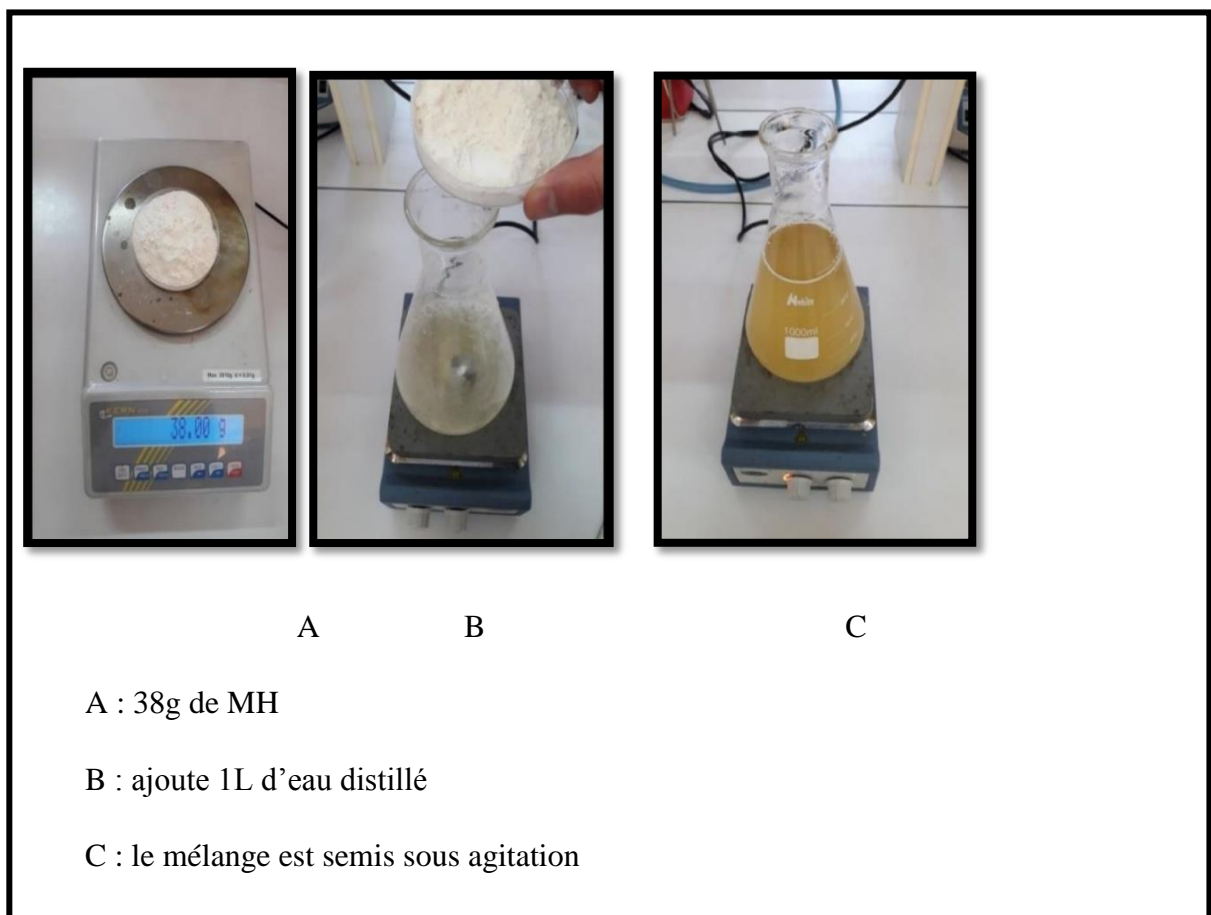


Figure20 : préparation de milieu MH (photo personnelle, 2022)

➤ **Préparation de milieu BN (Bouillon nutritif) :**

Le bouillon nutritif a été préparé pour le but de la réactivation et l'entretien des souches Bactériennes par l'ajoute de 20 g de BN à 1L d'eau distillé sous agitation pendant quelques Minutes, la solution sera divisée dans des tubes en verre à vue. Fig.21



Figure21 : préparation de milieu BN (photo personnelle, 2022).

➤ **Préparation de l'eau physiologique**

Elle est préparée par solubilisation de 0.9g de NaCl dans 100ml d'eau distillée avec agitation pendant quelques minutes et divisée dans des tubes en verre à vesse. L'eau physiologique est préparée pour l'ensemencement des souches.

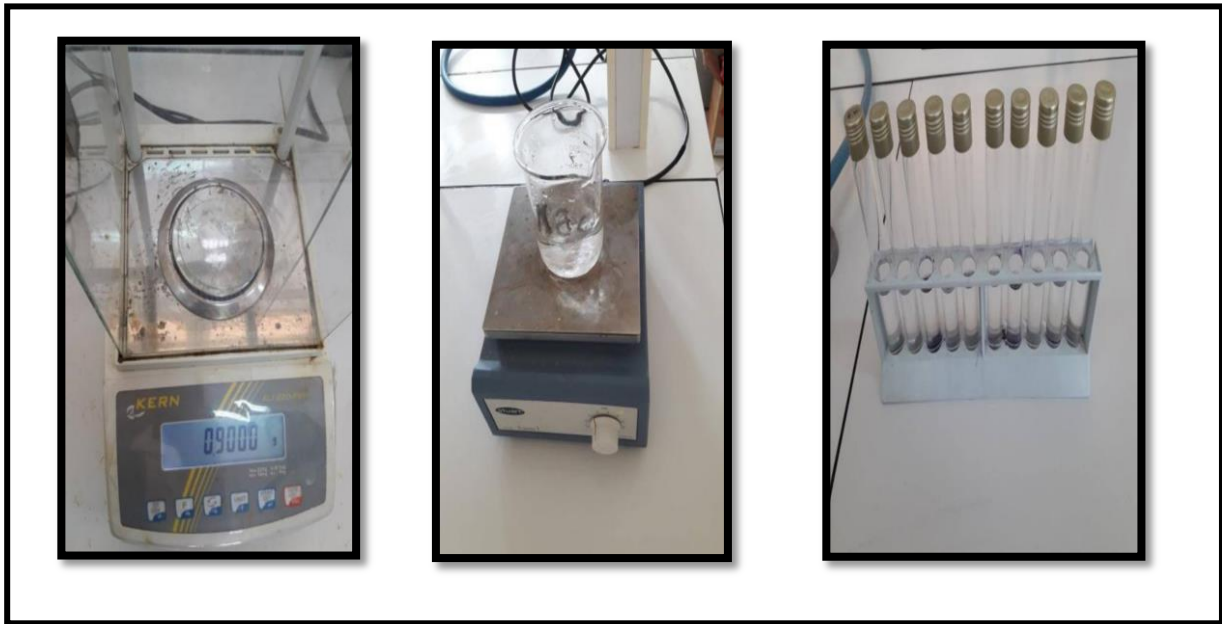


Figure 22 : préparation de l'eau physiologie (photo personnelle, 2022)

VI .2. Préparation des disques d'aromatogramme

Les feuilles de papier Wattman N°3 sont coupés en disques de 6 mm de diamètre. Ensuite ils sont mis dans un tube en verre à vesse pour stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation



Figure 23 : préparation des disques (photo personnelle, 2022).

VI .3. Stérilisation du matériel

L'eau physiologie, les tubes à essai, Le milieu de culture BN (Bouillon nutritif) et MH (Mueller Hinton), les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre), les pinces enrobées dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 2 h.

VI .4. Préparation de l'inoculum bactérien

- ❖ Les souches bactériennes ont été réactivées dans 10 ml de bouillon nutritif (BN) et incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24h. Après la stérilisation de zone de travail avec l'eau de javel.
- ❖ Les quatre souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose nutritive (MH) en boîte de pétri à l'aide d'un écouvillon, puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien.
- ❖ A l'aide d'un écouvillon, quelques colonies bien isolées et identiques de chaque souche bactérienne à tester sont alors raclées, déchargées dans un tube contenant 10 ml de l'eau physiologique puis homogénéisées à l'aide d'un vortex.
- ❖ Nous avons fait la lecture de la suspension bactérienne à une densité optique de (0.08 à 0.10), à la longueur d'onde 625 nm.
- ❖ L'ensemencement doit se faire au moins en quelques minutes qui suivent la préparation de l'inoculum

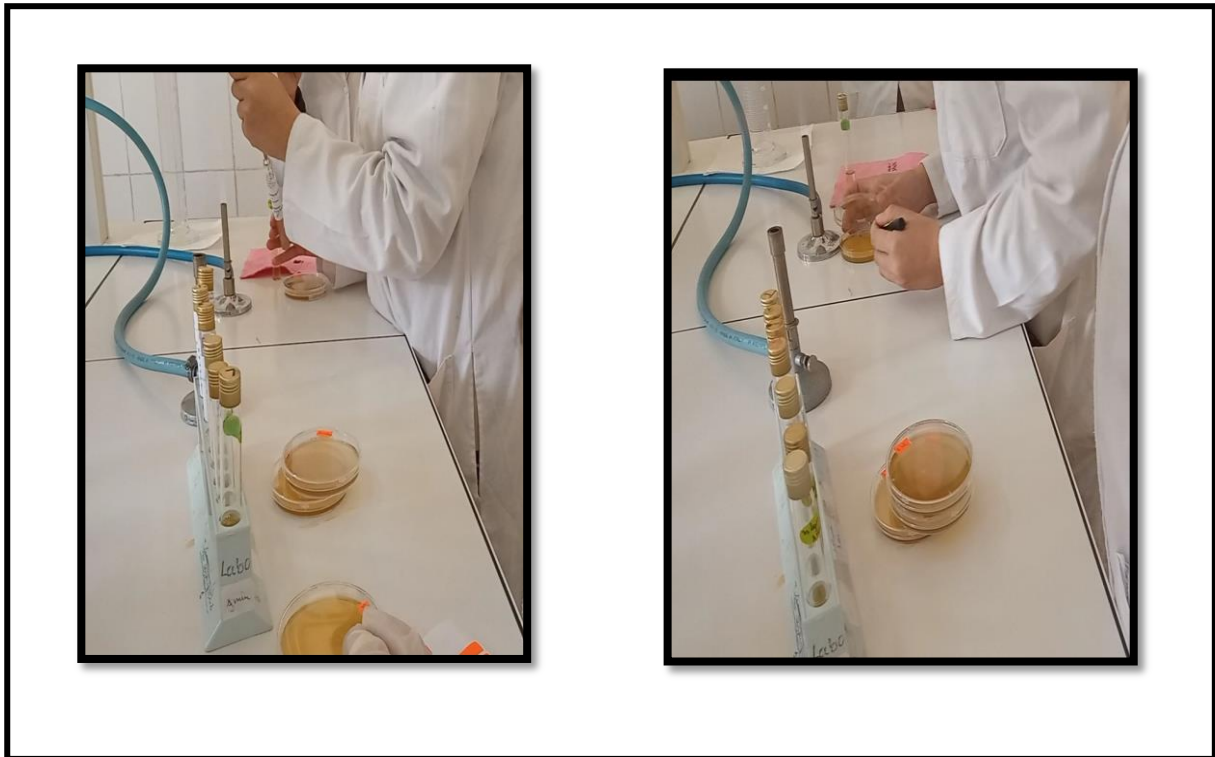


Figure 24 : Préparation de l'inoculum bactérien (photo personnelle, 2022)

VI .5. Dilution des extraits

Les extraits des feuilles d'*Aloysia citrodora*. Ont été solubilisé dans l'éthanol, selon la méthode suivante :

- ✓ Solution mère (SM) : 100 mg d'extrait avec 1ml Ethanol (100%).
- ✓ 1/2 : 0.5ml d'extrait de SM avec 0.5ml Ethanol (100%).
- ✓ 1/4 : 0.5ml d'extrait de C₁ avec 0.5ml Ethanol (100%).
- ✓ 1/8 : 0.5ml d'extrait C₂ avec 0.5ml Ethanol (100 %).

De même manière, nous complétons le reste des extraits

VI .6. Préparation des boîtes de pétri

Le milieu de culture (Muller Hinton) stérilisé par l'autoclave est versé dans les boîtes de pétri à 4 mm de hauteur et ont été laissé quelques minutes jusqu'à la solidification



Figure 25 : Préparation des boîtes de pétri (photo personnelle, 2022)

VI .7. Ensemencement bactérienne

Après la préparation et l'identification des boîtes de pétri nous avons fait l'ensemencement des bactéries dans un milieu stérile en présence de bec benzène.

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tub



Figure 26 : Ensemencement des bactéries (photo personnelle).

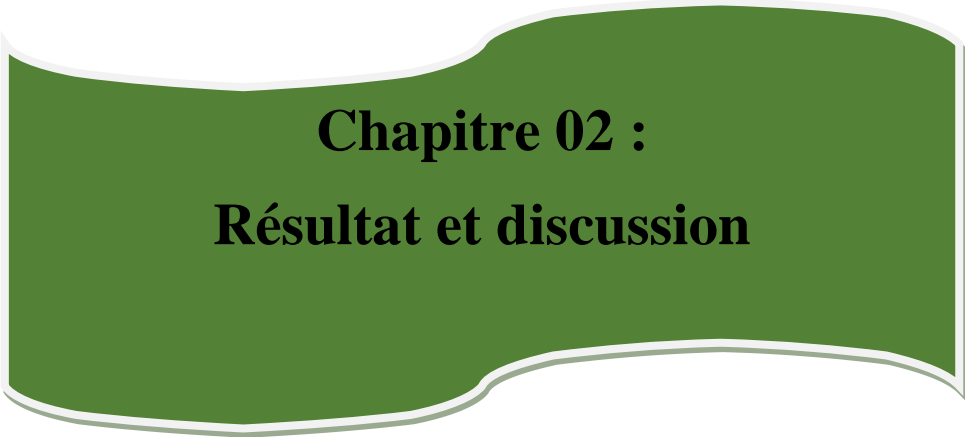
VI .8. Dépôts des disques et l'injection des extraits

- ✓ À l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen les disques de papier Whitman de 6 mm de diamètre sont placés sur la surface de la gélose MH inoculée.
- ✓ On a ajouté 10µl de chaque dilution des extrais (SM / 1/2 / 1/4 et 1/8) sur les disques à l'aide d'une micro pipette.

VI .9. Incubation et lecture

Après dépôt des extraits, les boîtes sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 h. La lecture des antibiogrammes a été faite à l'aide d'un pied à coulisse, elle a été réalisée à l'extérieur de la boîte pour les milieux MH.

L'effet des extraits et de l'antibiotique se traduit par l'apparition d'une zone transparente autour de disque correspondant à l'absence de la croissance bactérienne. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (*Choi et al. 2006*). Les tests sont répétés trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.



Chapitre 02 :
Résultat et discussion

I- Résultat et discussion**I-1 Etude qualitative****I.1.1 screening phytochimique**

Le Screening phytochimique qualitatif basé sur la réalisation des tests a pour but de révéler les différentes familles bio actives de substances existantes dans les feuilles d'*Aloysia citrodora* (Polyphénols, saponosides, flavonoïdes, composés réducteurs, alcaloïdes, tanins, coumarines...) Les tests de caractérisation sont basés sur des réactions de précipitation et de complexations avec formation de complexes insolubles ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque catégorie de composés.

Les résultats des tests phytochimique sont représentés dans le tableau 05.

Tableau 05 : Résultats de screening phytochimique /teste positive (+), teste négative (-)

Tests	Feuilles
Composé Phénolique	++
Saponines	-
Tanins	+++
Quinones libres	++
Glycosides	+
Flavonoïdes	+++
Alcaloïdes	+++
Coumarines	--

- **Polyphénols**

Nous avons remarqué la présence de la couleur verte foncé qui indique la présence des substances phénolique dans les feuilles d'*Aloysia citrodora* fig. 27



Figure 27 : Résultat du test des polyphénols (photo personnelle, 2022).

- **Saponines**

L'absence de la mousse dans les extraits des feuilles indique l'absence des saponines dans la plante étudiée fig. 28.

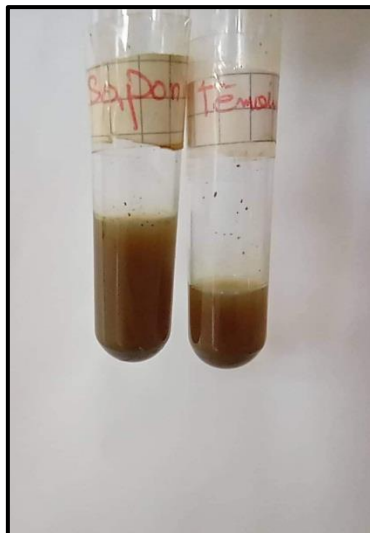


Figure 28 : Résultat du test des polyphénols (photo personnelle, 2022).

- **Quinones libres**

Nous remarquons la présence d'une couleur jaune et cela indique l'existence des quinones libres dans notre extrait fig.29



Figure 29 : Résultat de test des quinones libres (photo personnelle, 2022).

- **Flavonoïdes**

Les résultats de test des flavonoïdes indiquent la présence de couleur jaune dans l'extrait d'*Aloysia citrodora* confirme leur richesse en flavonoïdes. fig.30



Figure 30 : Résultat du test des flavonoïdes (photo personnelle, 2022).

- **Composés réducteurs (Glycosides)**

L'apparition d'une précipitation rouge-brique indique la présence des glycosides dans l'extrait de notre plante fig.31



Figure 31 : Résultat de test des glucosides (photo personnelle, 2022).

- **Les tanins**

Nous avons remarqué la présence de la couleur verte foncé dans les feuilles de notre plante qui prouve la présence des tanins fig.32



Figure 32 : Résultat de test des tanins (photo personnelle, 2022).

- **Les alcaloïdes**

La présence des alcaloïdes est confirmée par la présence de couleur brune au contact avec le réactif de Wagner fig.33

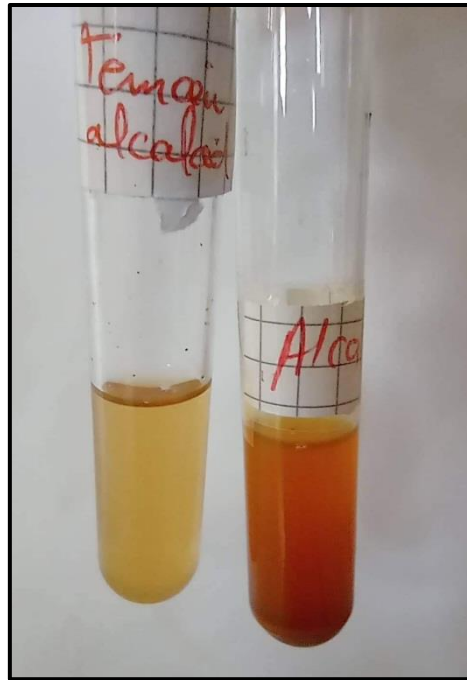


Figure 33 : Résultat de test des alcaloïdes (photo personnelle, 2022).

- **Coumarines**

On a remarqué l'absence des fluorescences dans l'extrait des feuilles de *Aloysia citrodora*, qui signifie que le teste de coumarines est négative.

Les huiles essentielles :

On a remarqué que notre plante contient l'huile



Figure 34 : huile essentielle (photo personnelle)

Après avoir effectué le processus de détection des substances actives présentes dans notre plante par l'examen phytochimique sur l'extrait brute des feuilles d'*Aloysia citrodora* qui révèlent la présence des flavonoïdes, des polyphénols, des alcaloïdes, des tanins, des quinones libres, des glycosides, tandis que les tests de saponines et les coumarine sont négatifs.

Une autre étude sur la plante d'*Aloysia citrodora* (Ramoul et Bouchoucha, 2021) les résultats étaient quelque peu similaires à ce que nous avons obtenu dans nos expériences, ou il a été prouvé qu'il existe des flavonoïdes des alcaloïdes et les tanins.

Contrairement à nos résultats, nous avons constaté que la plante d'*Aloysia citrodora* contient des quinones libres, alors que (Ramoul et Bouchoucha, 2021) n'a pas obtenu.

Les tests des saponines et des coumarines les résultats ont été négatifs pour nous, par contre

Ramoul et Bouchoucha, leurs résultats étaient positifs, ce qui indique que la plante contient ces deux composés.

Plusieurs études phytochimique sur la famille Verbenaceae dont le genre *Aloysia citrodora* ont été révélés la présence des polyphénols (Carnat et al., 1999 ; Adimi, L. 2018 ; Belgaid et al., 2013), la présence des tanin (Belgaid, S et al., 2013, Adimi, L. 2018). Adimi

Adimi a mentionné que la famille Verbenaceae contiennent des alcaloïdes, et aussi les flavonoïdes existent avec une grande quantité dans cette famille (Adimi, L. 2018), et il y a des glycosides (Adimi, L. 2018). Ces résultats sont très proches de notre.

I.1.2 Rendement d'extraction

Les calculs de rendement d'extraction des feuilles d'*Aloysia citrodora* sont représentés dans le tableau.

Tableau 06 : les calculs de rendement d'extraction

Extraits	Mv	Me	R(%)
25% éthanol	5g	0.54g	8
50% éthanol	5g	0.82g	10.4
75% éthanol	5g	0.52g	16.4
100% éthanol	5g	1.2g	24
100% eau	5g	0.71g	14.2

Les résultats de rendement d'extraction des feuilles représentés dans la figure 35

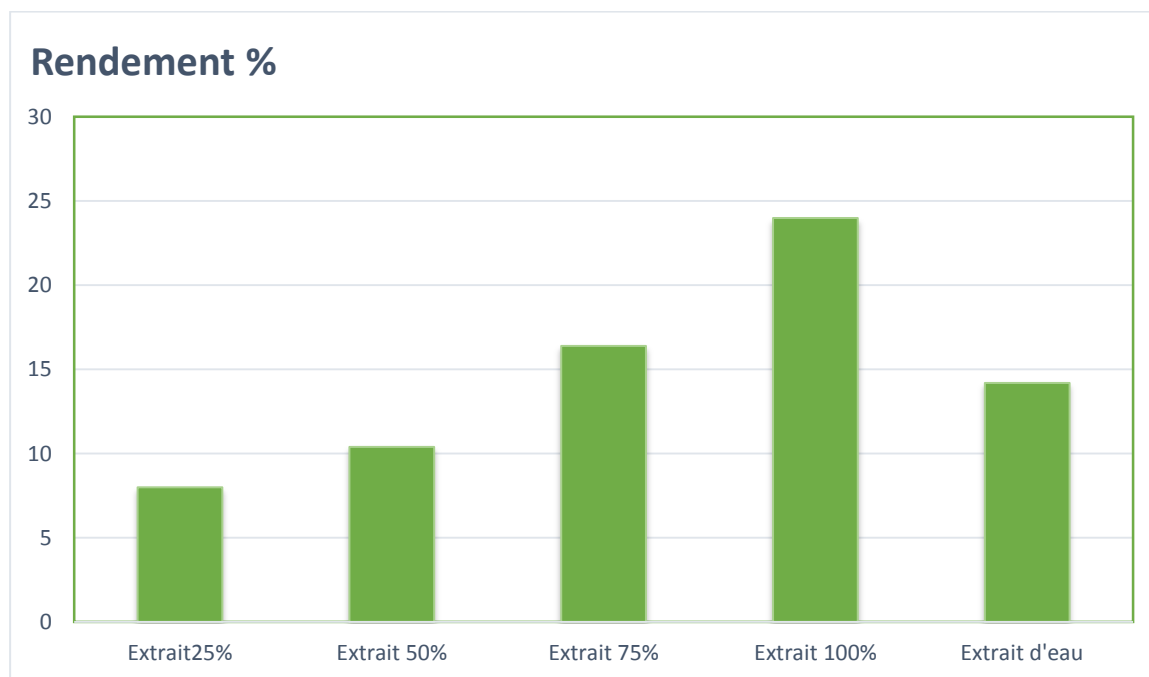


Figure 35 : Rendement des extraits bruts

Au vu des résultats rapportés dans la figure 28, il ressort qu'il y a une différence entre le rendement des extraits éthanoliques (25%, 50%, 75%, 100%) et l'extrait aqueux.

La valeur la plus élevée que vous pouvez obtenir dans le rendement 100% éthanol (24%) et la valeur la plus basse dans le rendement 25% éthanol (8%).

Alors qu'un rendement de 14.2% a été obtenu pour l'extrait aqueux, qui est une valeur inférieure à l'extrait 100% éthanol.

I.2. Activité antimicrobienne des feuilles d'*Aloysia citrodora*

Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait brut des feuilles d'*Aloysia citrodora* a été estimée en terme de diamètre de zone d'inhibition autour des disques contenant l'extrait brut à test vis-à-vis de quatre souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*).

La détermination de la zone d'inhibition permet de donner une estimation d'un caractère de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne contre des extraits testés.

Les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux suivants :

Tableau 07 : résultat de l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques d'*Aloysia citrodora* avec la bactérie d'*E. Coli*

Souche	Dilution	Zones d'inhibition (mm)				
		25%	50%	75%	100%	Extrait aqueuse
<i>E. coli</i>	Témoin	05	05	05	05	00
	SM	11	13	15	16	09
	1/2	10	11	13	14	08
	1/4	10	10	11	13	06
	1/8	06	06	07	07	04

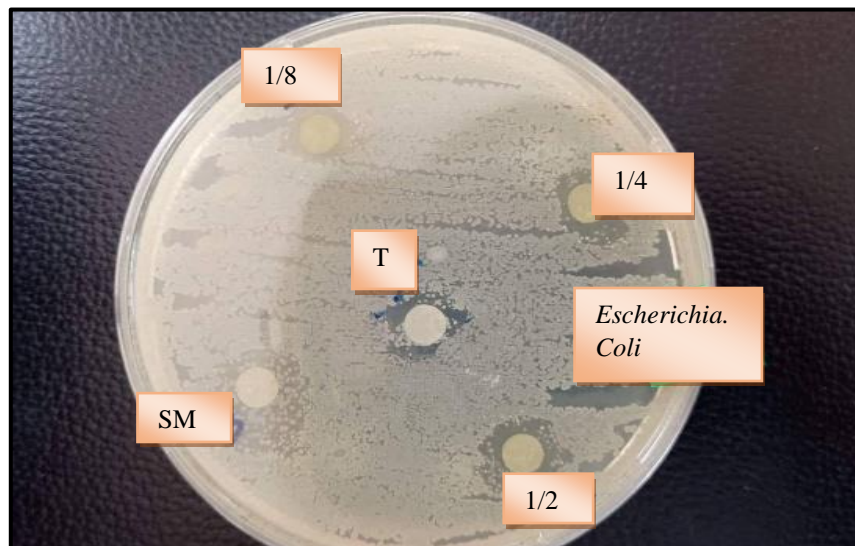


Figure 36 : Effet de l'extrait 100% éthanolique sur la bactérie *E.coli* (photo personnelle 2022)

Les meilleurs résultats obtenue dans les extraites éthanolique est celui observe chez la bactérie *E.coli* avec un diamètre de 16mm dans la concentration de solution mère (SM) 100% éthanol et la valeur la plus basse que nous ayons enregistréé dans ces bactérie est 4mm dans l'extrait aqueuse de 1/8.

Tableau 08 : résultat de l'activité antimicrobienne des extraits éthanolique d'*Aloysia citrodora* avec la bactérie de *P.aeruginosa*.

Souche	Dilution	Zones d'inhibition (mm)				
		25%	50%	75%	100%	Extrait aqueuse
<i>P.aeruginosa</i>	Témoin	04	04	04	04	00
	SM	08	09	09	10	07
	1/2	06	07	08	09	05
	1/4	05	06	06	07	03
	1/8	03	04	04	05	03

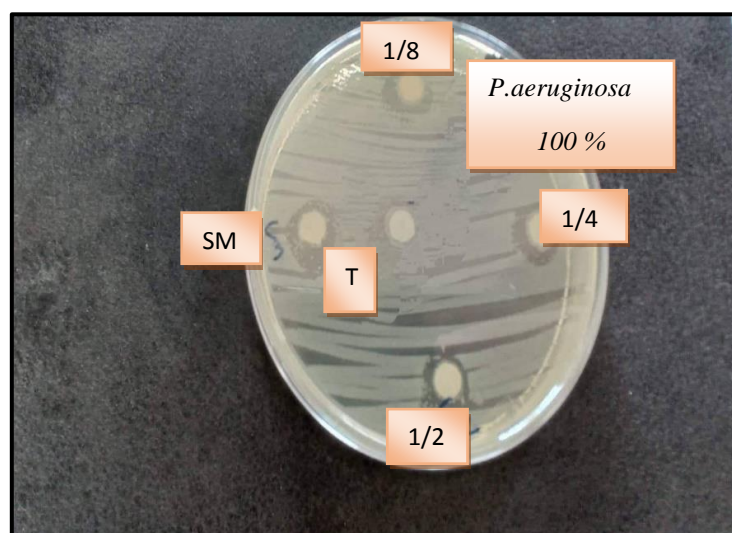


Figure 37 : Effet de l'extrait 100% éthanolique sur la bactérie *P.aeruginosa* (photo personnelle, 2022)

Sur la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*

En remarquée que la valeur élevée enregistré dans la concertation 100% éthanol de SM avec une diamètre 10mm

Et la valeur la plus basse 03mm dans l'extrait aqueuse de concentration 1/8

Tableau 09 : résultat de l'activité antimicrobienne des extraits éthanolique d'*Aloysia Citrodora* avec la bactérie de *S.aureus*

Souche	Dilution	Zones d'inhibition (mm)				
		25%	50%	75%	100%	Extrait aqueuse
<i>S.aureus</i>	Témoin	06	06	06	06	00
	SM	12	13	15	16	08
	1/2	11	12	14	15	07
	1/4	11	11	12	13	05
	1/8	07	07	08	09	03

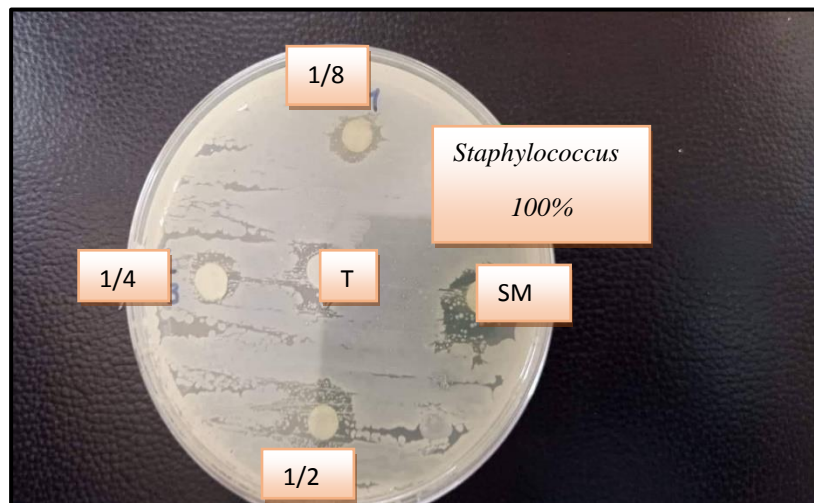


Figure 38 : Effet de l'extrait 100% éthanolique sur la bactérie *S.aureus* (photo personnelle ,2022)

Staphylococcus aureus

Marquée une zone d'inhibitions élevée 16 mm, dans la concentration 100% éthanol sur la solution mère

03mm c'est la valeur la plus basse marquée dans la concentration 1/8 de l'extrait aqueuse .

Tableau 10 : résultat de l'activité antimicrobienne des extraits éthanolique d'*Aloysia citrodora* avec la bactérie de *B.cereus*

Souche	Dilution	Zones d'inhibition (mm)				
		25%	50%	75%	100%	Extrait aqueuse
<i>B.cereus</i>	Témoin	03	03	03	03	00
	SM	03	04	04	05	03
	1/2	02	03	03	04	02
	1/4	02	03	02	03	02
	1/8	02	02	02	03	01

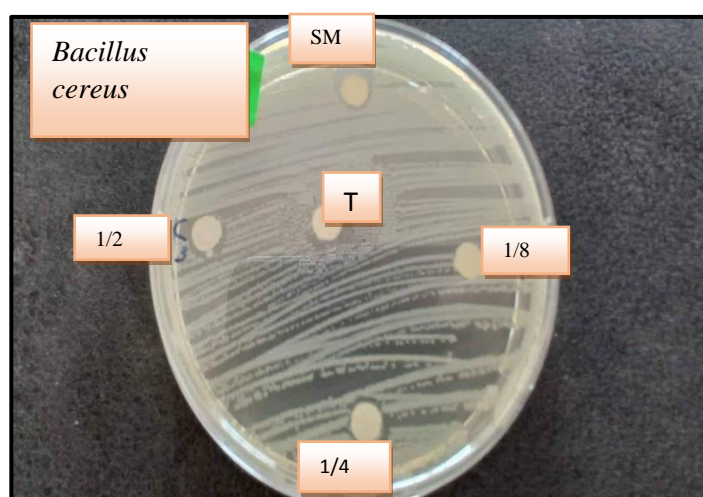


Figure 39 : Effet de l'extrait 100% éthanolique sur la bactérie *Bacillus* (photo personnelle 2022)

Dans la bactérie *Bacillus cereus* nous avons enregistré la valeur la plus élevée dans la concentration 100% éthanol de la solution mère avec une diamètre de 05mm Et la valeur la plus basse de concentration 1/8 de l'extrait aqueuse ,01mm

Aloysia citrodora. Ou nous avons observé la formation des zones d'inhibitions vis-à-vis à trois souche des bactéries étudiées avec des valeurs variées (*E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*).

Discussion

L'inhibition des extrait brute de note plante contre la bactérie *P.aeruginosa* était faible par rapport aux autres souches, et cela est dû à la capacité des bactéries a résistes l'extrait.

La raison pourrait également s'explique par l'incapacité de l'agent antibactérien à se répartir uniformément dans la gélose (Hayouni et al, 2007), ou la faible capacité de solubilité de l'extrait dans l'éthanol, et donc son effet n'était pas efficace sur cette souche bactérienne.

L'extrait de notre plante *Aloysia citrodora* fait une faible inhibition sur la souche *Bacillus cereus* et donc les zones d'inhibition ne sont pas apparus, et cela est dû à l'absence de la membrane externe des bactéries gram-positives (Balantine et al ,2006), ces souche bactérienne sont sensibles aux changements environnementaux externe.

Il y a une initions des deux souches bactérien *E.coli* et *S.aureus* de manière acceptable, ce qui s'explique par la présence de composés phénoliques en grande proportion dans la plante, car les composés phénoliques contenant des groupes hydroxyle possèdent une meilleure activité antibactérienne (Mori, 1987).

Et selon (Ultee et al, 2002) s des métabolites secondaires contenant de l'oxygène, tels que les phénols, tendent à afficher une forte activité antimicrobienne.

L'étude menée par (Adimi.L, 2018) sur l'activité antibactérienne de plusieurs plantes d'une même famille d'*Aloysia citrodora* ; (*Mellisa officinalis*, *Origanum vulgare.L*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita folia.L*), a montré une activité anti bactérienne sur les souches *Escherichia. Coli* et *Staphylococcus aureus*.

La sensibilité des bactéries gram-positives par rapport aux bactéries gram négative diffère en raison des différentes couches externes de bactérie (Turkmen et al, 2007 ; Falleh et al, 2008).

Les résultats obtenus montrent que l'extrait brut de notre plante *Aloysia citrodora* possède un spectre d'activité antibactérienne sur gram-négatif (*Escherichia.Coli*) que sur gram-positif (*Bacillus cereus*). Les bactéries gram-négatives sont plus sensibles que les bactéries gram-positives contrairement à ce qui est obtenu par (Fellah et al ,2015)

Généralement, toutes les plantes de la famille Verbenaceae connues pour leurs composés phénoliques, ont été prouvées actives contre une variété de micro-organismes (Gortzi et al. 2007).



Conclusion

Conclusion

La plante *Aloysia citrodora L.* est l'une des plantes médicinales les plus répandues en raison de ses multiples utilisations dans le domaine de la médecine traditionnelle, qui ont été évoquées précédemment.

Nous avons détecté les substances actives dans notre plante à travers de screening phytochimique et avons constaté que la plante contient des flavonoïdes, des polyphénols, de la quinone, des tanins, des glycosides et des alcaloïdes, tandis que nous avons remarqué l'absence de saponines et de coumarines.

La macération des feuilles d'*Aloysia citridora* dans l'éthanol et dans l'eau a donné des rendements variables en extrait sec. Un faible rendement est obtenu par l'extrait éthanolique 25%, et le plus élevé par l'extrait éthanolique 100%

L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en disque contre les quatre bactéries relativement résistantes montre que les extraits bruts d'*Aloysia citrodora* étaient efficaces contre les trois souches *E.coli*, *S.aureus* et *P.aeruginosa* alors qu'il n'a pas montré d'activité contre la souche de *B.cereus*.

Au vu des résultats obtenus dans notre savoir-faire, il peut y avoir d'autres points de vue d'action :

- étendre l'activité antibactérienne de ces extraits in vitro à d'autres que les souches que nous avons étudiées.
- caractériser et isoler les principes actifs responsables de cette propriété pharmacologique.
- étendre l'activité antibactérienne à d'autres que la plante utilisée.
- Fournir des conditions appropriées telles que la stérilisation, la chaleur et autres pour obtenir de meilleurs résultats.



Références bibliographiques

A

- 1) **Abaza L, Talorete TP, Yamada P, Kurita Y, Zarrouk M., (2007).** Induction of Growth Inhibition and Differentiation of Human Leukemia HL-60 Cells by Tunisian Gerboui Olive Leaf Extract. *Biosci Biotechnol Biochem* 71. P 1306-1312.
- 2) **Abuhamdah R et Mohammed A,** 2013. Chemical, molecular pharmacology and neuroprotective properties of the essential oil derived from *Aloysia citrodora* Palau: Durham University
- 3) **Adimi,A.(2018)** .Contribution à l'étude des effets antimicrobiens et antioxydants d'une plante médicinale : la Mélisse (*Melissa officinalis*).Mémoire Doctorat en science : Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,51.63.69.90p.
- 4) **Albrecht, H., Yoder, J. I., Phillips, D. A., 1999.** "Flavonoids Promote Haustoria Formation in the Root Parasite *Triphysaria versicolor*". *Plant Physiology*. 119(2): 585-592.
- 5) **Arimboor, Kumar K.S et al., (2008).** Simultaneous estimation of phenolicacids in seabuckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) using RP-HPLC with DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.*; 47(1): 31-38.

B

- 6) **Balentine, C. W, Crandall, P. G, O' Bryan, C. A, Duong, D. Q, Pohlman, F. W., (2006).** The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*. 73, 413-421.
- 7) **Békro Y.A, Békroj A.M, Bouab.B, Trab F.H and Ehilé E.E., (2007).** Etude ethnobotanique et Screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpiniaaceae). *Rev. Sci. Nat*, 4 (2): P 217-225.
- 8) **Belgaid,S.,Chikhoub,L.(2013).** Etude de l'activité antimicrobienne et antifongique des extraits du phlomis boveLi de noe -preparation d'une forme pharmaceutique. Mémoire Master Recherche : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou Faculté des sciences, 29p.
- 9) **Benadji.H et Khoukhi.N** ; « L'extraction et la caractérisation de l'huile essentielle de Thym(*Thymus vulgaris*) de Miliana et l'étude de l'activité antibactérienne » ; thèse de magister ; université de Khemis -Miliana ; 2012.
- 10) **Benzahi K, (2001).** Contribution à l'étude des flavonoides dans la Plante cynodn *DactylonL* (chindent), mémoire de Magister. Université d'Ouargla, 15-17p.

Références Bibliographiques

- 11) **Betts G.D., Linton P., Betteridge R.J. (1999):** food spoilage yeasts: effects of pH, NaCl and temperature on growth. *Food Control*, 10, 27-33.
- 12) **Bossokpi IPL. (2002).** Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloïdes Lam* (*Rutaceae*), Thèse : pharmacie, Université de Bamako, 127 p.
- 13) **Botrel.A ;** « Encyclopédie des plantes médicinales » ; Edition Larousse ; France ; 2001; pp 228.
- 14) **BOUCHET. P., 2004.** Encyclopédie universalis. Vol 10, Tannins.
- 15) **Bruneton .J ;** « Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales »; 2eme Edition. Tec; Doc ; Lavoisier ; Paris ; France ; 1993.
- 16) **Bruneton J., (1999)** .Pharmacognosie « Phytochimie Plantes » Médicinales 3^{ème} Ed, Tec et doc,Paris-P484-540.inales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.
- 17) **Bruneton J., (2008).** Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.
- 18) **Bruneton J., (2009).** Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales. 4e éd., revue et augmentée, Paris, France : Tec & Doc - Éditions médicales internationales,p 1288.
- 19) **BRUNETON J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales .2eme édition. Lavoisier tee et doc paris. p : 268.274.
- 20) **Bubulka.P ;** « Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales ; la médecine traditionnelle à la phytothérapie » ; 2007 ; pp 137-145.

C

- 21) **Carnat A., Carnat A.P., Fraisse D., Lamaison J.L. (1999) :** The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. *Fitoterapia*.70 :44-49.
- 22) **Cazes, J. (2001).** Encyclopedia of Chromatography (Print). Edition Marcel Dekker, p 206.
- 23) **Cazes, J. (2005).** Encyclopedia of chromatograph. Second Edition.Edition Taylor & Francis, p 1250.
- 24) **Cazin M; Cazin J. C. Et Pinkas M. 1996-**Oxygen species scavenging activity of
- 25) **Chaabi M., 2008.** Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines : *Euphorbia stenocla Baill. (Euphorbiaceae)*, *Anogeissuslio carpus Guill. Etperr. (Combrétaceae)*, *Limoniastrum feei (Girard) Batt. (Plumbaginaceae)*. Thèse de doctorat en pharmaco chimie, Université, Louis Pasteur et Université MENTOURI de Const.
- 26) **Chaboussou AD, Chabauty A, 2013.** Modes opératoires des extraits végétaux en viticulture biologique. L'Agriculture Biologique en pays de la Loire, 1-4.

- 27) **Chaouch N. (2001)**. Etude des Alcaloïdes dans la coloquinte *colocynthis vulgaris* L.Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya d'Ouargla). Mémoire de magister. Université d'Ouargla, p 44.
- 28) **Cheurfa M et Allem R, 2015**. Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'Aloysia triphylla. *Phytothérapie*, 14(3): 181-187.
- 29) **Chira K, Such J, Saucier C, Teissèdre L., (2008)**. Les polyphénols du raisin. Ed : Springer. 6 :75-82.
- 30) **Clé, C., Hill, L. M., Niggeweg, R., Martin, C. R., Guisez, Y., Prinsen, E., Jansen, M. A., 2008**. "Modulation of chlorogenic acid biosynthesis in *Solanum lycopersicum*; consequences for phenolic accumulation and UV-tolerance". *Phytochemistry*. 69(11): 2149-2156.
- 31) **Collin, S., & Crouzet, J. (2011)**. Polyphénols et procédés. Edition Lavoisier TEC & DOC, p 5, 13, 16, 235.
- 32) **COLMAR N., 2007**. Etude de la voie de biosynthèse des fucoumarine. Qualité des fruits et métabolisme secondaire, technologie plante a traire. UMR.INPL (ENSAIA)-INRA agronomie et environnement.
- 33) **Cowan, M. M., 1999**. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12(4) : 564-582.

D

- 34) **Dacosta Y. (2003)**. Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317p. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
- 35) **De Figueiredo RO, Stefanini MB, Ming LC, Marques M et Facanali R, 2002**. Essential Oil Composition of Aloysia triphylla (L'Herit) Britton Leaves Cultivated in Botucatu, São Paulo, Brazil, page 131-134.
- 36) **De Roode BM., Franssen MC., van der Padt A., Boom, RM. (2003)**. Perspectives for the industrial enzymatic production of glycosides. *Biotechnol. Prog*, 19 :p.1391-1402.
- 37) **Deak T., Beuchat L.R. (1996)** : Handbook of food spoilage. New York, USA: CRC Press.

E

- 38) **Edardes, J. P. (2008)**. Coumarin Anticoagulant Research Progress. Edition Nova Biomedical Books, p 100.
- 39) **El Hmamouchi ME, 2006**. Partenariats Agricoles pour la productivité et la prospérité. Numéro special : L'Institut Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques (INPMA)

de Taounate, 4. Emile C, 2012. Marqueurs de l'inflammation : à partir de deux cas cliniques. Option Bio, 23(476): 22-24.

- 40) EL Hmamouchi.M** ; « Partenariats Agricoles pour la productivité et la prospérité. ÀP 3. Numéro spécial »; L'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques (INPMA); Taounate ; 2006.
- 41) El-Lakany A., Abdel-kader M.S., Hammouda H.M., Ghazy N.M., Mahmoud Z.F. (1997):** Anew flavones glycoside with antimicrobial activity from *Carduus pycnocephalus* L. pharmacie.52P.78679.

F

- 42) Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008)** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological Activities .C. R. Biologies. 331: 372-379.
- 43) Fellah, A., Mouaici, N. (2015).** Etude de l'extraction et de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits de la verveine '*Lippia citriodora*'. Mémoire Master recherche : Université Djilali Bounaama –Khmis Miliana Faculté des sciences et de la technologie ,79p.

G

- 44) Gamet-Payraastre L , Manenti S , Gratacap M.P, Tulliez J, Chap H et Payraastre B.,(1999).** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase.General Pharmacology. p 32: 279-286.
- 45) Ghédira K et Goetz P, 2017.** Verveine odorante *Aloysia citriodora* Paláu (*Lippia citriodora*). Phytothérapie, 15(1): 33-37.
- 46) Ghestem A, Seguin E, Paris M, Orecchioni A.M., (2001).** Le préparateur en pharmacie .Dossier 2.Editions TEC & DOC Paris. P275
- 47) Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M. (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- 48) Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., Tsaknis, J. (2007)** Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum dictamnus* Extracts before and after Encapsulation in Liposomes. Molecules. 12: 932-945.
- 49) Gressier B ; Trotin F ; Brunet C ; Dine T ; Luyckx M ; Vasseur J ;** phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Journal of Arzneimittel-Forschung. 46 : 1086-1089.

- 50) **GUHADJEJ S. et LABEB H., 1993.** Le métabolisme secondaire et l'extraction de flavonoïdes chez une plante- la menthe - .IGNARD J.L., COSSON L., HENRY M., 1985. Alirégé de phytochimie .Masson p: 138 -154.
- 51) **GUIGNARD J.L., COSSON L., HENRY M., 1985.** Alirégé de phytochimie .Masson p: 138 -154.

H

- 52) **Hadni D.** (1982). Contribution à l'étude technique et socioéconomique de la verveine. Mémoire de second cycle. IAV Hassan-II. Agadir-Rabat.
- 53) **Han X.H, Hong S.S, Hwang J.S, Lee M.K, Hwang B.Y, Ro J.S., (2007).** Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. Archives Pharmacal Research. 30: 07-13.
- 54) **Harborne. J.B et Swain.T., (1969).** Perspectives In Phytochemistry, Academic Press, London, New York.
- 55) **Hayouni, E. A, Abedrabba, M, Bouix, M., Hamdi, M., (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chem. 105, 1126-1134.
- 56) **Hopkins, W. G. (2003).** Physiologie végétale. 2 ème édition. Edition de Boeck. Université, p 268, 280.

J

- 57) **Jarrige, R., Ruckebusch, Y., Demarquilly, C., Farce, M. H., & Journet, M. (1995).** Nutrition des ruminants domestique: ingestion et digestion. Edition Inra, p 57.

K

- 58) **Kalla A., (2012).** Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*. Thèse doctorat. Université Mentouri - Constantine.
- 59) **Khanbaba K ET Ree T.R., (2001).**Tannins: Classification and Definition. Journal of Royal Society of Chemistry, 18:641-649.
- 60) **Kraft K et Hobbs C,** 2004. Pocket guide to herbal medicine: Georg Thieme Verlag.
- 61) **Kren V., Martinkova L. (2001).** Glycosides in medicine: "The role of glycosidic residue in biological activity".Curr. Med. Chem, 8:p.1303-1328.4

L

- 62) **Larousse. . (2001)** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation et soins. 2ème Edition, Edition Larousse. Paris.
- 63) **Lenoir L. (2011)** : Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Université d'Auvergne. Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé. P. 290.
- 64) **Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002)**. Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. p 211.

M

- 65) **MA B., Hieter P. et Boeke JD. (1997)**. Petits cadres de lecture ouverts : de belles aiguilles dans la palette de foin. *Genome Res* 7 (8) : 768-71
- 66) **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005)**. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Edition Presses Polytechniques & Universitaires Romandes, p Vii, 2, 3.
- 67) **MANCHADO P. et CHEGNIER V., 2006**. Les polyphénols en agroalimentaire. Editions Tee et Doc .Lavoisier .Paris pp: 1-30-50.
- 68) **MANCHADO P. et CHEGNIER V., 2006**. Les polyphénols en agroalimentaire. Editions Tee et Doc .Lavoisier .Paris pp: 1-30-50.
- 69) **Manuel**. Différence entre les métabolites primaires et secondaires (06 juin 2017).
- 70) **Merghem, R (2009)**. Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine.
- 71) **MOL J., GROTEWOLD E., KoE S.R., 1998**. Haw genes paint flowers and seeds, trends plant sci 3. pp: 212-217
- 72) **Mori, A, Nishino, C, Enoki, N, Tawata, S., (1987)**. Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*.26, 2231–2234.
- 73) **Murry R.D.H., Mendez J., Brown S. A., 1982**. The natural coumarins Occurrence Chemistry and Biochemistry. Ed. Chichester John Wiley and Sons, UK. New York. England, 702.

N

- 74) **NUTR. J., 1996**. Flavonoïde, chimie cardioprotectrice, effet antidirectery, source, *biochem vol7*.p.165.

O

Oloyede OI., (2005). Chemical profile of Unripe Pulp of Carica papaya. Pak J Nutr; 4. P379 - 381.

75) Ozek.T et Kirimer.N et Baser.K.H.C ; « Composition of the essential oil of Aloysia triphylla (L'Herit) Britton grow in Turkey » ; J. essentiel oil research ; 1996.

P

76) Paris M et Hurabielle. (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris. pp: 102-103-104-107.

77) Pascual M, Slowing K, Carretero E, Mata DS et Villar A, 2001. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: à review. Journal of ethnopharmacology, 76(3): 201-214.

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

79) Perrot.E et Paris.R ; « Les plantes médicinales » ; Presses universitaires ; France ; 1974 ; pp 244.

80) Pibiri M.C, 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, P.177.

81) Pitt J.!, Hocking A.D. (1997): Fungi and food spoilage (seconded). UK, London: Blackie Academic and professional, *Methods Enzymol* 234: 279-293.

R

82) Ramoul,B., Bouchouha,A .(2021). Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire de l'espèce : Aloysia citrodora L .Mémoire Master Recherche : Université des Frères Mentouri Constantine, 43-47 p

83) Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettaybi M. (1993): improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J. Essent. Ou. Res., p. 5.* 179-184.

84) Ribéreau-Garyon. P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, Paris, 254p.

S

85) Sanago R., 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.

- 86) Scalbert A, Williamson G, 2000.** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*. Vol. (130): 2073-2085.
- 87) Seyoum A., Asres K., and El-Fiky F.K. (2006).** Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. **67**: 2058–2070
- 88) Shan, B, Cai, Y. Z, Brooks, J. D, Corke, H., (2007).** The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International J. Food microbiology*. 117, 112-119.
- 89) Sharma, S., Sheehy, T., Kolahdooz, F., & Barasi, M. (2015).** *Nutrition at a Glance*. Second Edition Wiley Backwell, p 162.
- 90) Slimani.N et Dahmane.M ;** « Effet des huiles essentielles extraites a partir des feuilles de *Mentha Spicata*, *Mentha pulegium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia citriodora*, *Ocimum basilicum* sur quelques bactéries pathogènes » ; thèse de master ; université de Hassiba Ben Bouali-Chlef ; 2013.
- 91) Slimani.N et Dahmane.M ;** « Effet des huiles essentielles extraites a partir des feuilles de *Mentha Spicata*, *Mentha pulegium*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Lippia citriodora*, *Ocimum basilicum* sur quelques bactéries pathogènes » ; thèse de master ; université de Hassiba Ben Bouali-Chlef ; 2013.

T

- 92) Tadros S. H., (1979).** Pharmacognostical study of *entolobuimcyclocarpumgriseb* growing in Egypt. Ph. D. thesis. Faculty of pharmacy. Cairouniversity. Florida state horticultural society. 426p.
- 93) Taleb-Toudert.K ;** « Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Aloysia Triphylla*. Evaluation in vitro de son effet sur la croissance de certains agents pathogènes de l'homme » ; thèse de master ; 2002.
- 94) Trease E et Evans W.C., (1987).** *Pharmacognosy Billiaire*. Ed. Tindall London. **13**: P 61-62.
- 95) Treutter, D., 2006.** "Significance of flavonoids in plant resistance: a review". *Environmental Chemistry Letters*. 4(3): 147-157.
- 96) Turkmen, N., Velioglu, Y. S, Sari, F., Polat, G. (2007)** Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*. 12:484-496.

U

- 97) Ultee, A, Bennik, M.H.J, Moezelaar, R., (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 68, p1561-1568.

V

- 98) VI CAN P., 2001. La rousse encyclopédies des plantes médicinales, ed .France.1259 pages.

W

- 99) Waiker S.J. (1988): Major spoilage microorganisms in milk and dairy products. *Journal of the society of dairy technology*.41, 91-92.
- 100) Waston, R. R., Preedy, V. R., & Zibadi, S. (2013). Polyphenol in Human Health and Disease. Edition Academic Press is an Imprint of Elsevier, p 643.
- 101) Wichtel M. et Anton R. (1999) : Plantes thérapeutiques : tradition pratique, officinale, science et thérapeutique. Ed. Tech. ET. Doc.antine (Alger) : 179, 180.
- 102) WICHTL M. et ANTON R., 1993. Plantes thérapeutiques «tradition, pratique officinale, science et thérapeutiques», 3eme édition Tech et Doc, la voisier.
- 103) WINKEL-S.HIRLEY B., 2001. Flavonoid biosynthesis A, colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology, plant physiology, vol 162, PP: 485-493.

Y

- 104) Yousefzadeh N et Meshkatsadat Mh, 2013. Quantitative and qualitative study of bioactive compound of essential oils of plant *Lippia citriodora* by use of GC-MS technique. *Journal of Novel Applied Sciences*, 2(2S): 964-968.

Sites Web

- 105) <https://fr.sawakinome.com/articles/science/difference-between-primary-and-secondary-metabolites.html>.
- 106) <https://fr.sawakinome.com/articles/science/difference-between-primary-and-secondary-metabolites.html>)
- 107) https://www.google.com/search?q=aloesia+citrodora&client=firefox-b-d&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwizvqG1ra_3AhXpi_0HHeuzDRQ_Q_AUoAXoECAIQAw&biw=1600&bih=775#imgrc=qgIG_4Mrni2wWM

Annex I : Matériel de laboratoire.

Les verreries

- Pipettes
- Bécher
- Spatule
- Pipettes pasteur
- Micro pipette
- Boîtes de pétries
- Tubes à visse
- Flacons
- Erlenmeyer
- Entonnoir
- Papier filtre
- Papier film
- Papier d'aluminium
- Papier Whatmann
- Eprovette
- Eppendorf

Solvants

- Éthanol (C₂H₆O)
- Eau distillée
- Chlorure de fer (FeCl₃)
- Acide chlorhydrique(HCl)
- Acide sulfurique (H₂SO₄)
- Hydroxyde l'ammonium (NH₄OH)
- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Eau de javel

Appareillage :

Les Annexes



Chambre UV



Plaque chauffante



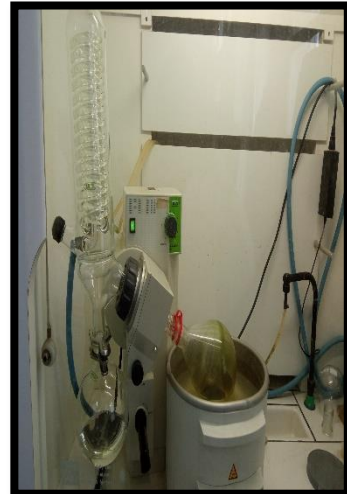
Bain marie



PH mètre



Centrifugeuse



Évaporateur



Balance



Étuve



Autoclave

Les Annexes



Bec benzène



Balance de précision

Annex II : Résultat

Zone d'inhibition

E.coli		25%			50%			75%			100%			Extrait aqueuse		
		t	L	M	t	L	M	t	L	M	t	L	M	t	L	M
SM	Test 1	12.2	19.8	16	13.2	22.8	18	16.9	23.1	20	18.8	23.2	21	05.9	12.1	09
½	Test 1	13.7	16.3	15	14.4	17.6	16	18	18	18	17.1	20.9	19	05.4	10.6	08
¼	Test 1	13.3	16.7	15	13.4	16.6	15	14	18	16	16.1	19.9	18	05.2	06.8	06
1/8	Test 1	06.2	15.8	11	09.2	12.8	11	09.2	12.8	12	11.2	12.8	12	03	05	04

Zone d'inhibition

P.aeruginosa		25%			50%			75%			100%			Extrait aqueuse		
		t	L	M	t	L	M	T	L	M	t	L	M	t	L	M
SM	Test 1	09.3	14.7	12	11.1	14.9	13	11	15	13	13.2	14.8	14	05.1	08.9	07
1/2	Test 1	09.9	10.1	10	08.1	13.9	11	11.7	12.3	12	09.1	16.9	13	03.4	06.6	05
1/4	Test 1	08.8	09.2	09	08	12	10	07.2	12.8	10	07.1	14.9	11	02	04	03
1/8	Test 1	06.3	07.7	07	07.5	08.5	08	06.7	09.3	08	08.1	09.9	09	03	03	03

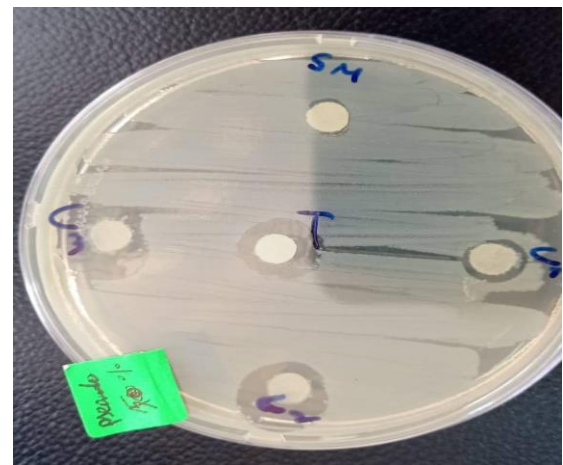
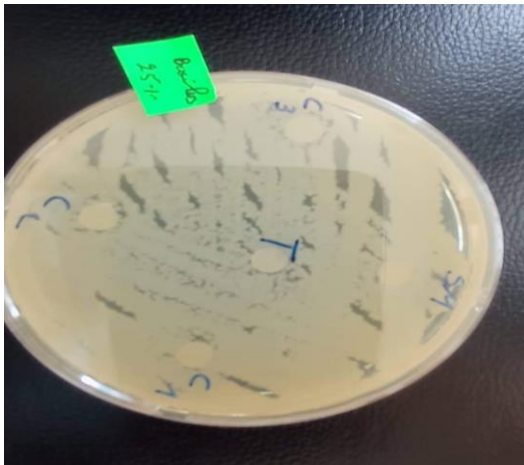
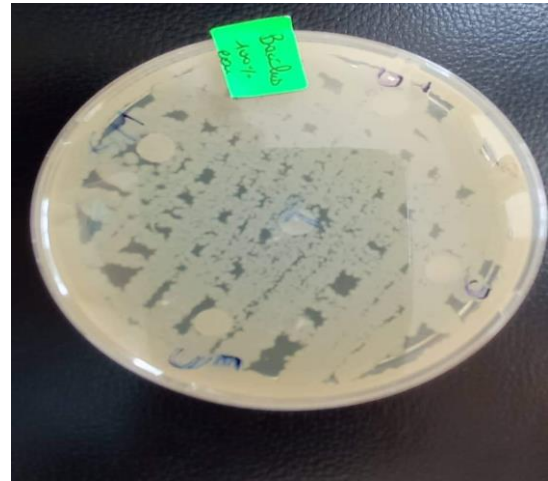
Zone d'inhibition

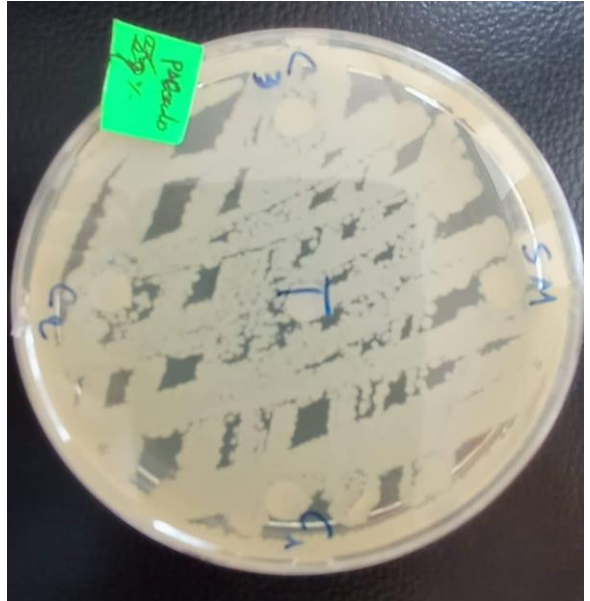
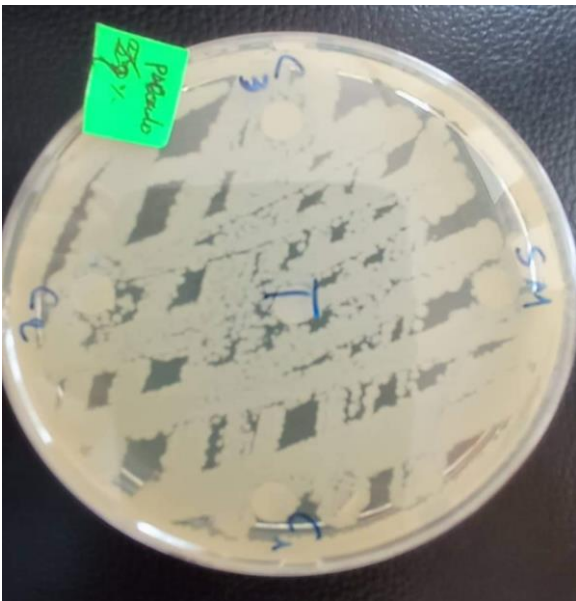
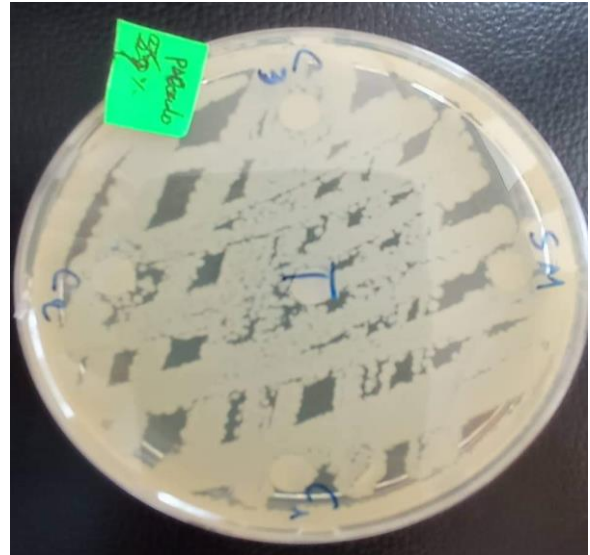
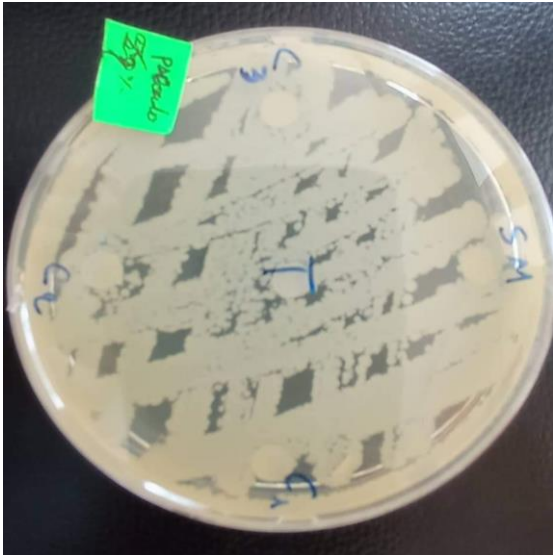
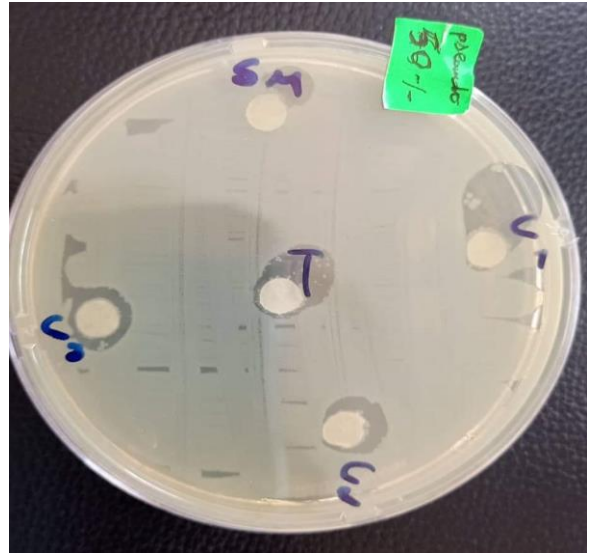
S.aureus		25%			50%			75%			100%			Extrait aqueuse		
		t	L	M	t	L	M	t	L	M	t	L	M	t	L	M
SM	Test 1	15	21	18	16.5	21.5	19	20.8	21.2	21	20	24	22	06	10	08
1/2	Test 1	15	19	17	15.1	20.9	18	13.6	26.4	20	19.6	22.4	21	06.9	07.1	07
1/4	Test 1	15.5	18.5	17	15	17	16	25	11	18	19.5	18.5	19	03.4	06.6	05
1/8	Test 1	13.5	12.5	13	09.2	16.8	13	08	20	14	10.7	19.3	15	02	04	03

Les Annexes

Zone d'inhibition

B.cereus		25%			50%			75%			100%			Extrait aqueuse		
		t	L	M	t	L	M	t	L	M	t	L	M	t	L	M
SM	Test 1	04.6	07.4	06	04.3	09.7	07	06.8	07.2	07	08	08	08	02.8	03.2	03
1/2	Test 1	03.4	06.6	05	05.4	06.6	06	05.1	06.9	06	06.1	07.9	07	01.9	02.1	02
1/4	Test 1	04.1	05.9	05	04	08	06	03.5	05.5	05	04.1	07.9	06	00	04	02
1/8	Test 1	03.2	06.8	04	06	04	05	05	05	05	05.9	06.1	06	06	00	03





Les Annexes

