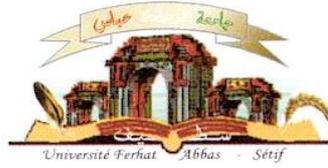


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET D'ÉCOLOGIE VÉGÉTALE

N°...../SNV/2018

THÈSE

Présentée par

BOUCHEKRIT Moufida

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: BIOLOGIE

Spécialité: BIOLOGIE VÉGÉTALE

THÈME

**ETUDE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE ET DE
L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE
DEUX APIACEAE *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. et
Margotia gummifera (Desf.) Lange**

Soutenue publiquement le : 15/01/2018

DEVANT LE JURY

Président	Harzallah Daoud	Pr. UFA Sétif 1
Directeur	Laouer Hocine	Pr. UFA Sétif 1
Examineurs	Akkal Salah	Pr. U. Constantine 1
	Zellagui Amar	Pr. U. Oum Bouaghi
	Yahia Abdelouahab	Pr. C. U. de Mila

Laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles Biologiques

REMERCIEMENT

Le travail de cette thèse a été réalisé au sein de plusieurs laboratoires dans le cadre du vaste projet de valorisation des plantes médicinales. Il a pu voir le jour grâce à l'aide et l'encouragement de nombreuses personnes dont les mots ne suffisent pas pour les remercier. Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à...

Monsieur le Pr. LAOUER Hocine, mon promoteur, qui a guidé, surveillé le déroulement et l'exécution de ce travail en me prodiguant toute aide disponible, et en me consacrant de son temps précieux. Pour tous ce qui m'a appris durant toutes mes années d'étude.

Monsieur le Pr. HARZALLAH Daoud professeur à l'université de Sétif 1 d'avoir accepté de présider le jury de soutenance de thèse. Je tiens à signaler que votre présence en tant que président m'honore.

Monsieur le Pr. AKKAL Salah de l'université de Constantine 1, le Pr. ZELLAGUI Amar de l'université d'Oum El Bouaghi ainsi que le Pr. YAHIA Abdelouahab du centre universitaire de Mila d'avoir accepté de juger ce travail et m'honoré par leur présence. Qu'ils trouvent ici toute ma gratitude.

Monsieur le Pr. NASRI Moncef, directeur de laboratoire de microbiologie et génie enzymatique à l'Ecole Nationale des Ingénieurs de Sfax (Tunisie) qui, par l'accueil qu'il m'a réservé au sein de son laboratoire, m'a beaucoup aidé de réaliser une partie de mon travail, qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude. Cette partie a été réalisée sous la direction de monsieur le Dr ELHAJJI Mohamed à qui j'adresse mes vifs remerciements. Je remercie aussi Dr SELIMI Sabine qui m'a accueilli dans sa maison pendant mon séjour en Tunisie sans oublier toute l'équipe de laboratoire de l'INIS: Rime, Intidhar, Imane, Samiha, Sawsen, Abdelkader ...

Monsieur CAKMAK Yavuz Selim, professeur associé à l'université d'Aksaray (Turquie) et directeur de l'École Professionnelle des Services de Santé qui m'a tellement bien accueilli dans son laboratoire pour réaliser les tests antioxydants, qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance. Je remercie, également, l'étudiant de master AKO HAMASAEED Abdulqadir (Iraq) qui m'a beaucoup aidé dans la réalisation de ces tests sans oublier Aicha (Ankara).

J'adresse également mes sincères remerciements à Monsieur SERKOS Artin Haroutounian de l'université d'Athens (Grece) et Monsieur GUIDO Flamini de l'université de Pisa (Italy) pour leurs aides concernant la réalisation des analyses chimiques des huiles essentielles des plantes étudiées.

Je voudrais remercier, aussi, l'ensemble du personnel de laboratoire de Microbiologie de l'EHS d'El-Eulma pour leur aide: Samra, Fouzia, Karima, Amel et le chef de service Abdelhamid.

Un immense merci pour mes amies et collègues de l'Université de Sétif 1: El Kolli Meriem, NOUIOUA Wafa, MERGHEM Mounira, RAHMOUNI Farida, CHERRAGUI Sabrina, ABABSA Ahlam, GAAMOUN Sofiane et BENMEDDOUR Tarek (Université de Biskra) pour leurs aides.

Les personnes qui ont supportées mes humeurs durant cette décennie, qui m'ont motivé, encouragé et poussé pour terminer ce travail quand c'était nécessaire, mes collègues au centre universitaire de Mila: Mr KELLAB, Mr ZOUAGHI, Mm HIMOUR, Mr YAHIA et particulièrement Mr BOUTELLAA, trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

Mes remerciements plus particulièrement à ma Mère, mon frère, mes sœurs et à la personne qui m'a donné toujours la volonté pour continuer, IYAD.

Que toute personne ayant contribué de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail et que je ne l'ai pas mentionné par son nom, qu'elle trouve ici l'expression de mes très vifs remerciements.

SOMMAIRE

Résumé	I
Liste des abréviations	IV
Liste des figures	VI
Liste des tableaux	VIII
Introduction	01

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LES APIACEAE	06
I.1. Généralités sur la famille des Apiaceae.....	06
I.2. Distribution de la famille des Apiaceae à travers le monde	06
I.3. Systématique des Apiaceae.....	07
I.4. Intérêt de la famille des Apiaceae.....	08
I.5. Botanique et propriétés des Apiaceae.....	09
I.5.1. Organes souterrains	09
I.5.2. Tiges	09
I.5.3. Feuilles.....	09
I.5.4. Inflorescences	09
I.5.5. Fleurs.....	10
I.5.6. Ovaires	10
I.5.7. Ovules	11
I.5.8. Fruits	11
II. LES HUILES ESSENTIELLES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES	13
II.1. LES HUILES ESSENTIELLES	13
II.1.1. Généralités.....	13
II.1.2. L'aromathérapie	13
II.1.3. Localisation et origine des huiles essentielles dans la plante	14
II.1.4. La composition chimique d'une huile essentielle	16
II.1.4.1. Les terpènes.....	17
II.1.4.1.1. Les monoterpènes.....	17
II.1.4.1.2. Les sesquiterpènes	17
II.1.4.2. Les composés aromatiques dérivés de phenylpropane.....	18
II.1.5. Les propriétés des huiles essentielles	18
II.1.5.1. Propriété pharmaceutique	18
II.1.5.2. Utilisation en aéro-ionisation	19
II.1.5.3. Parfumerie et cosmétologie	19
II.1.6. Les procédés d'extraction	19
II.1.6.1. L'hydro-distillation	19

II.1.6.2. L'entraînement à la vapeur d'eau	21
II.1.7. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles	22
II.1.7.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	22
II.1.7.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).....	23
II.2. LES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HE.....	24
II.2.1. L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE	24
II.2.1.1. Principes actifs et mécanisme d'action antibactérien des HE	25
II.2.1.2. Principes actifs et mécanisme d'action antifongique des HE	26
II.2.1.3 Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne.....	27
II.2.1.3.1. L'aromatogramme.....	27
II.2.1.3.2. Méthode de micro-atmosphère	27
II.2.1.3.3. Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide.....	28
II.2.2. L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	28
II.2.2.1. Les radicaux libres	28
II.2.2.2. Le stress oxydant et ses conséquences biologiques.....	29
II.2.2.3. Les antioxydants.....	30
II.2.2.4. Les rôles des complexes antioxydants.....	30
II.2.2.5. Les huiles essentielles comme antioxydants.....	31
III. TRAVAUX ANTERIEURS SUR LES GENRES <i>ELAEOSELINUM</i> ET <i>MARGOTIA</i>.....	34
III. 1. Le genre <i>Elaeoselinum</i> Koch ex DC.	34
III-1.1. Généralités.....	34
III.1.2. Caractéristiques botaniques.....	35
III.1.2.1. Le genre <i>Elaeoselinum</i> Koch ex DC.	35
III.1.2.2. L'espèce <i>Elaeoselinum asclepium</i> (L.) Bertol.....	36
III.1.3. Systématique et nomenclature.....	37
III-1.4. Répartition géographique et noms vernaculaires	38
III-1.5. Travaux phytochimiques antérieurs sur le genre <i>Elaeoselinum</i>	39
III-1.5.1 Métabolites secondaires de quelques espèces du genre <i>Elaeoselinum</i> ..	39
III-1.5.1.1. <i>Elaeoselinum asclepium</i> (L.) Bertol ssp. <i>asclepium</i>	40
III-1.5.1.2. <i>Elaeoselinum asclepium</i> ssp. <i>Meoides</i> (Desf.) Fiori.....	40
III-1.5.1.3. <i>Elaeoselinum thapsioides</i> (Desf.) Maire	41
III-1.5.1.4. <i>Elaeoselinum foetidum</i> (L.) Boiss.	43
III-1.5.2. Les huiles essentielles de quelques espèces du genre <i>Elaeoselinum</i> ...	43
III-1.5.2.1. <i>Elaeoselinum asclepium</i> ssp. <i>meoides</i>	43
III-1.5.2.2. <i>Elaeoselinum asclepium</i> ssp. <i>millefolium</i>	44
III-1.5.2.3. <i>Elaeoselinum asclepium</i> ssp. <i>asclepium</i>	44
III-1.5.2.4. <i>Elaeoselinum asclepium</i> (L.) Bertol.....	45
III-1.5.2.5. <i>Elaeoselinum gummiferum</i> (Desf.) Tutin.....	45
III-1.5.2.6. <i>Elaeoselinum thapsioides</i> Maire	45
III-1.5.2.7. <i>Elaeoselinum foetidum</i> (L.) Boiss.	46

III-1.5.2.8. <i>Elaeoselinum fontanesii</i> Boiss.	46
III-1.5.2.9. <i>Elaeoselinum tenuifolium</i> (Lag.) Lange	47
III-1.6. Utilisation traditionnelle.....	47
III.2. Le genre <i>Margotia</i> Boiss.	47
III-2.1. Généralités.....	47
III.2.2. Caractéristiques botaniques de l'espèce <i>M. gummifera</i>	48
III.2.2.1. La tige.....	48
III.2.2.2. La feuille.....	49
III.2.2.3. La racine.....	50
III.2.2.4. L'inflorescence	50
III.2.3. Répartition géographique	51
III.2.4. L'habitat de l'espèce	51
III.2.5. Noms vernaculaires de <i>M. gummifera</i>	52
III.2.6. Synonymes de l'espèce <i>M. gummifera</i>	52
III.2.7. Systématique et nomenclature.....	53
III-2.8. Travaux phytochimiques antérieurs sur <i>M. gummifera</i>	53
III-3.8.1. Les métabolites secondaires de <i>M. gummifera</i>	53
III-3.8.2. L'analyse chimique de l'HE de <i>M. gummifera</i>	53
III-3.8.3. L'activité scavenger d'ON par l'HE de <i>M. gummifera</i> et ses principaux composés.....	54
III-3.8.4. La cytotoxicité de l'HE de <i>M. gummifera</i> et ses principaux composés	54

PARTIE EXPERIMENTAL

IV. MATERIEL ET METHODES.....	57
IV.1. MATERIEL.....	57
IV.1.1. Matériel végétal	57
IV.1.2. Matériel et réactifs des tests biologiques.....	57
IV.1.3. Matériel du test de l'activité antimicrobienne.....	57
IV.1.3.1. Les souches microbiennes.....	57
IV.1.3.2. Les milieux de cultures	58
IV.2. METHODES.....	58
IV.2.1. Extraction des HE.....	58
IV.2.2. Analyse des HE.....	60
IV.2.2.1. Analyse de l'HE d' <i>E. asclepium</i>	60
IV.2.2.2. Analyse de l'HE de <i>M. gummifera</i>	61
IV.2.3. Méthodes d'étude des activités biologiques.....	61
IV.2.3.1. Détermination de l'activité antimicrobienne des HE <i>in vitro</i>	61
IV.2.3.1.1. Technique par contact direct.....	62
a. La méthode de diffusion sur gélose	62

b. La méthode des puits.....	65
IV.2.3.1.2. Technique par contact indirect: micro-atmosphère	66
IV.2.3.2. Détermination de l'activité antioxydante des HE <i>in vitro</i>	66
IV.2.3.2.1. Test du DPPH.....	66
IV.2.3.2.2. Test du FRAP.....	68
IV.2.3.2.3. Test du blanchiment du β -carotène	69
IV.2.3.2.4. Test du TAC.....	69
IV.2.3.2.5. Test du CUPRAC	70
IV.2.4. Analyse statistique	71
V. RESULTATS ET DISCUSSION.....	73
V.1. RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE.....	73
V. 2. ETUDES PHYTOCHIMIQUE DES HE	77
V. 2.1. Etude de l'HE d' <i>Elaeoselinum asclepium</i>	77
V.2.2. Etude de l'HE de <i>Margotia gummifera</i>	82
V.3. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE	86
V.3.1. L'activité antibactérienne	86
V.3.1.1. La méthode de contact direct: aromatoigramme	86
V.3.1.1.1. Méthode des disques	87
V.3.1.1.2. Méthode des puits.....	90
V.3.1.1.3. Synthèse et discussion générale de l'activité antibactérienne par contact direct	92
V.3.1.2. La méthode de contact indirect: micro-atmosphère	95
V.3.1.3. Etude comparative: aromatoigramme vs micro-atmosphère	97
V.3.2. L'activité antifongique.....	99
V.4. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTI-OXYDANTE.....	103
V.4.1. Test du DPPH.....	103
V.4.2. Test du blanchiment du β -Carotene.....	106
V.4.3. Test du FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power).....	108
V.4.4. Test du CUPRAC.....	110
V.4.5. Test du TAC (Total Antioxydant Capacity)	112
VI. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	116
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	120
ANNEXE	154

الملخص

في إطار تبيين الموارد النباتية الجزائرية، قمنا بدراسة الزيوت الأساسية لنباتي *Elaeoselinum asclepium* الذي تم جنيه من فلفة (سكيكدة) و *Margotia gummifera* الذي تم جنيهه من المنطقة المحيطة بولاية بجاية والذان ينتميان إلى العائلة الخيمية. تم استخلاص الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي باستخدام جهاز من نوع Clevenger ليتم بعدها إجراء التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية بواسطة كروماتوغرافيا الطور الغازي المرفقة بمطيافية الكتلة وكروماتوغرافيا الطور الغازي المرفقة بكاشف تأين اللهب. تمت دراسة النشاطية ضد البكتيرية باستعمال طريقتين: طريقة الانتشار على الوسط الصلب (أقراص وأبار) وطريقة الميكروأتموسفير. أما التأثير ضد الفطري، فقد تم تقديره باستعمال طريقة واحدة وهي طريقة الأقراص. كما تمت دراسة النشاطية ضد تأكسدية للزيوت الأساسية باستعمال طرق وهي طريقة DPPH، FRAP، TAC، CUPRIC و كذلك ال β -carotène. لقد كشف التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية لنبات *Elaeoselinum asclepium* و *Margotia gummifera* عن وجود 40 و 30 مكونا على التوالي، مع هيمنة التربينات الأحادية الهيدروكربونية. وتميز الزيت الأساسي لنبات *E. asclepium* بهيمنة α -pinene (43.9%)، sabinene (27.9%) و β -pinene (16.0%)، في حين أن الزيت الأساسي لنبات *M. gummifera* فقد تكون أساسا من α -pinène (34.0%) و β -pinène (41.6%). يتغير الأثر ضدالمكروبي للزيوت الأساسية حسب الجراثيم والطرق والتركيزات المستعملة، لكن فعاليتها ضد البكتيريا المختبرة متوسطة على العموم. من خلال الدراسة تبين أن السلالة البكتيرية *S. aureus* هي الأكثر حساسية للزيت الأساسي لنبات *E. asclepium* بقطر تثبيط قدر ب 13 ملم عند التخفيف 2/1 (ح/ح)، بينما كانت السلالة البكتيرية *S. aureus* المقاومة للمضاد الحيوي ميتيسلين الأكثر حساسية للزيت الأساسي لنبات *M. gummifera* في التخفيف نفسه (12ملم). أما فيما يخص طريقة الميكروأتموسفير، فقد بينت أن الزيت الأساسي لنبات *E. asclepium* هو الأكثر فعالية ضد البكتيريا غرام (+) مقارنة مع الزيت الأساسي لنبات *M. gummifera*. ومن بين السلالات الفطرية المختبرة، نجد أن *Candida albicans* هي الأكثر حساسية لكلا الزيتين بقطر تثبيط قدر ب 13 و 15 ملم على التوالي. كما أبدى الزيتان الأساسيان نشاطا مضادا للجدر التأكسدي (DPPH) ونشاطية ضد تأكسدية (CUPRAC) متناسبة مع التركيز، إضافة إلى امتلاكهما القدرة على إرجاع الحديد والموليبدان (VI) وتثبيط تكوين الجذور الحرة المشتقة من حمض اللينولييك بقيم مختلفة. وفي الختام، يمكن القول ان النوعين النباتيين لهما تأثير دوائي مهم، وهو ما يستدعي التحقق من سُمِّيَّتَهُمَا.

الكلمات المفتاحية: *Elaeoselinum asclepium*، *Margotia gummifera*، العائلة الخيمية،

الزيوت الأساسية، النشاطية ضد ميكروبية، النشاطية ضد تأكسدية.

Résumé

Dans le cadre de la valorisation des ressources végétales algériennes, les huiles essentielles de deux plantes de la famille des Apiaceae, à savoir: *Elaeoselinum asclepium* récoltée de Felfla (Skikda) et *Margotia gummifera* récoltée dans les environs de Béjaia ont fait l'objet de cette étude. L'extraction des HE a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. L'analyse chimique des HE a été effectuée par CPG/FID et CPG/SM. L'activité antibactérienne a été mise en évidence par deux méthodes, la méthode de diffusion sur milieu gélosé (disques et puits) et celle de microatmosphère, cependant l'effet antifongique a été estimé par une seule méthode, la méthode des disques. L'activité antioxydante des HE a été réalisée par plusieurs méthodes à savoir la méthode du DPPH, FRAP, TAC, CUPRIC ainsi que la β -carotène. L'analyse chimique de l'HE d'*Elaeoselinum asclepium* et celle de *Margotia gummifera* a révélé la présence de 40 et 30 constituants, respectivement dominés par les monoterpènes hydrocarbonés. L'HE d'*E. asclepium* est caractérisée par la dominance de l' α -pinène (43.9%), sabinene (27.9%) et β -pinène (16.0%) alors que celle de *M. gummifera* est constituée principalement par l' α -pinène (34.0%) et le β -pinène (41.6%). L'effet antimicrobien des HE varie en fonction des germes, les méthodes et les dilutions utilisées mais dans l'ensemble elles sont modérément efficaces sur les bactéries testées. La souche de *S. aureus* est la plus sensible à l'HE d'*E. asclepium* avec un diamètre d'inhibition de 13mm pour la dilution $\frac{1}{2}$ (v/v), par contre la souche *S. aureus* résistant à la méthicilline est la plus sensible à l'HE de *M. gummifera* à la même dilution (12mm). Quant à la méthode de microatmosphère, l'HE d'*E. asclepium* est plus efficace à l'encontre des bactéries Gram (+) par rapport à l'HE de *M. gummifera*. Parmi les souches fongiques testées, *Candida albicans* est la plus sensible à l'huile d'*E. asclepium* et celle de *M. gummifera* avec un diamètre de 13 et 15mm, respectivement. Les HE ont montré également une activité antiradicalaire (DPPH) et antioxydante (CUPRAC) dose dépendante. De même, les deux HE ont une tendance de réduire le fer et le molybdène (VI) et d'inhiber la formation des radicaux libres dérivés de l'acide linoléique avec des valeurs différentes. En conclusion, les deux espèces végétales ont un effet pharmacologique intéressant, ce qui nécessite plus d'investigation du côté de toxicité.

Mots clés: *Elaeoselinum asclepium*, *Margotia gummifera*, Apiaceae, huiles essentielles, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

Abstract

In the framework of the valorization of Algerian plant resources, the essential oils of two plants of the Apiaceae family, namely: *Elaeoselinum asclepium* harvested from Felkla (Skikda) and *Margotia gummifera* harvested in the vicinity of Béjaia are the subject of this study. The extraction of EO was carried out by hydro-distillation using a Clevenger apparatus type. The chemical analysis of EO was performed by GC/FID and GC/MS. The antibacterial activity was demonstrated by two methods, the diffusion method on agar medium (discs and wells) and that of microatmosphere, however the antifungal effect was estimated by one method, the disc method. The antioxidant activity of EO was carried out by several methods, namely the DPPH, FRAP, TAC, CUPRIC and β -carotene method. The chemical analysis of the EO of *Elaeoselinum asclepium* and that of *Margotia gummifera* revealed the presence of 40 and 30 constituents, respectively dominated by the hydrocarbon monoterpenes. The EO of *E. asclepium* is dominated by α -pinene (43.9%), sabinene (27.9%) and β -pinene (16.0%), while that of *M. gummifera* is mainly composed of α -pinene (34.0%) and β -pinene (41.6%). The antimicrobial effect of EO varies depending on the germs, the methods and the dilutions used but overall they are moderately effective on the bacteria tested. The strain of *S. aureus* is the most sensitive to the EO of *E. asclepium* with an inhibition diameter of 13mm for $\frac{1}{2}$ dilution, whereas the *S. aureus* methicillin resistant strain is the most sensitive to the EO of *M. gummifera* at the same dilution (12mm). As for the micro-atmosphere method, the EO of *E. asclepium* is more effective against Gram (+) bacteria than the EO of *M. gummifera*. Among the fungal strains tested, *Candida albicans* is the most sensitive to the EO of *E. asclepium* and that of *M. gummifera* with a diameter of 13 and 15mm, respectively. The EOs also showed antiradical (DPPH) and antioxidant activity (CUPRAC) dose-dependent. Similarly, both EOs have a tendency to reduce iron and molybdenum (VI) and inhibit the formation of free radicals derived from linoleic acid with different values. In conclusion, both plant species have an interesting pharmacological effect, which requires more investigation of their toxicity.

Key words: *Elaeoselinum asclepium*, *Margotia gummifera*, Apiaceae, essential oils, antimicrobial activity, antioxidant activity.

Liste des abréviations

APG: Angiosperms Phylogeny Group

AFNOR: Association Française de Normalisation

CPG/SM: Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse.

NIST/EPA/NIH: National Institute of Standards and Technology/Environmental Protection Agency/National Institutes of Health Mass Spectral

FID: Flame Ionization Detector

NIST/NBS: National Institute of Standards and Technology/National Bureau of Standards (1998)

GC/CIMS: Gas Chromatography/Chemical Ionization Mass Spectrometry

MRSA: Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus*

HE: Huile Essentielle

EO: Essential Oil

ADN: Acide désoxyribonucléique

ARN: Acide ribonucléique

LPS: Lipo-polysaccharides

SIDA: Syndrome d'Immunodéficience Acquise

MTT: Methyl Thiazolyl Tetrazolium

ATCC: American Type Culture Collection

NRRL: Northern Regional Research Laboratory

CIP: Collection de l'Institut Pasteur

MHA: Mueller Hinton Agar

GN: Gélose Nutritive

LB: Lauria Bertani

BN: Bouillon Nutritif

DMSO: Diméthylsulfoxyde

UFC: Unité Formant Colonies

UV: Ultra-Violet

ERO: Espèces Réactives Oxygénées

ROS: Reactive Oxygen Species

RNS: Reactive Nitrogen Species

BHT: Butylhydroxytoluène

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

RP: Reducing Power

CUPRAC: CUPric Reducing Antioxidant Capacity

TAC: Total Antioxidant Capacity

BHA: Butylatedhydroxyanisole

ABTS: Acide 2,2'- azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Répartition géographique mondiale des Apiaceae.....	07
Figure 02: Schéma d'une ombelle	10
Figure 03: Structure générale d'un diakène d'Apiaceae	11
Figure 04: Glandes sécrétrices	15
Figure 05: Glandule sécrétrice sur la surface supérieure de la feuille d' <i>Origanum heracleoticum</i> , montrant l'espace sub-cuticulaire rempli d'huile essentielle (x 420)	15
Figure 06: Localisation des structures sécrétrices (canal sécréteur) dans la graine de Carvi (x406)	16
Figure 07: Appareil d'extraction type Clevenger	20
Figure 08: Montage d'entraînement à la vapeur d'eau	21
Figure 09: Cibles biologiques et endommagements oxydatifs induits par les espèces oxygénées réactives	29
Figure 10: Répartition géographique du genre <i>Elaeoselinum</i>	35
Figure 11: Photo d' <i>Elaeoselinum asclepium</i> dans son habitat	36
Figure 12: Hespéridine (2S)	41
Figure 13: Hespéridine (2R)	42
Figure 14: Isorhamnétine-3-O-rutinoside	42
Figure 15: La structure de foetidine	43
Figure 16: Tige et gaines foliaires sèches	48
Figure 17: Gomme-résine coagulée	48
Figure 18: Feuille basale (<i>exsiccatum</i>)	49
Figure 19: Feuille basale (détail)	49
Figure 20: Racine et suc sur des sections de racine de <i>Margotia gummifera</i> (Desf.) Lange	50
Figure 21: Appareil utilisé pendant l'hydrodistillation de l'huile essentielle, Clevenger	59
Figure 22: Technique de diffusion sur gélose par disques	64
Figure 23: La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH'	66

Figure 24: Test de l'activité antiradicalaire, DPPH	67
Figure 25: Réaction FRAP entre Fe ³⁺ -TPTZ et l'antioxydant	68
Figure 26: La réaction de test CUPRAC	70
Figure 27: Activité antiradicalaire des HE et celle de la référence	104
Figure 28: Cinétique de blanchiment du β-carotène à 490 nm en absence et en présence des HE d' <i>E. asclepium</i> et de <i>M. gummifera</i> , des témoins négatifs et du BHT.....	106
Figure 29: Activité antioxydante en présence et en absence des HE, des témoins négatifs et du BHT après 24 h d'incubation par le test de β-carotène / acide linoléique	107
Figure 30: Droites de régression du Trolox	109
Figure 31: Courbes représentant l'activité antioxydante des HE d' <i>E. asclepium</i> et de <i>M. gummifera</i> , BHA et BHT en utilisant le test du CUPRAC.....	111
Figure 32: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique	113

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Répartition mondiale des genres d'Apiaceae	06
Tableau 02: Souches utilisées dans le test antimicrobien	58
Tableau 03: Rendement en huiles essentielles de diverses espèces des genres <i>Elaeoselinum</i> et <i>Margotia</i>	74
Tableau04: Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Elaeoselinum asclepium</i> ...	78
Tableau 05: Les principaux composants des huiles essentielles de différentes espèces d' <i>Elaeoselinum</i>	80
Tableau06: Composition chimique en pourcentage des huiles essentielles de <i>Margotia gummifera</i>	83
Tableau 07: La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les HE d' <i>E. asclepium</i> et de <i>M. gummifera</i> à la concentration 50% (méthode des disques)	87
Tableau 08: Diamètres d'inhibition des HE d' <i>E. asclepium</i> et de <i>M. gummifera</i> en mm	88
Tableau 09: La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis l'HE d' <i>Elaeoselinum asclepium</i> et de <i>Margotia gummifera</i>	95
Tableau 10: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des souches fongiques de l'huile essentielle d' <i>E. asclepium</i> et de <i>M. gummifera</i>	99
Tableau 11: Activité antiradicalaire des HE d' <i>E. asclepium</i> et de <i>M. gummifera</i>	104
Tableau 12: Le pouvoir réducteur des HE étudiées exprimé en Trolox équivalent (mg/g HE)	109
Tableau 13: Pourcentage d'inhibition des HE d' <i>E. asclepium</i> et de <i>M. gummifera</i> en utilisant le test du CUPRAC	111
Tableau 14: La capacité antioxydante totale des HE	113

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION

Le régime végétarien est connu depuis l'antiquité chez l'être humain qui a essayé de chercher dans son environnement végétal des plantes pour satisfaire ses besoins quotidiens que ce soit alimentation, parfum ou hygiène et notamment comment traiter ses blessures et soulager ses maux (Sévenet et Tortora, 1994). Ces observations et utilisations des plantes enregistrées depuis l'ancien temps sont aussi applicable jusqu'aux nos jours dans les diverses régions du monde grâce aux différents travaux qui se sont consacrés pour l'étude des substances actives (essences, fragrances et parfums) des plantes aromatiques et médicinales.

L'Algérie, la porte de l'Afrique, par son climat très varié (la mer méditerranéenne au Nord et le Sahara dans le sud) et sa situation géographique particulière bénéficie d'une flore très riche et diversifiée répartie sur tout le territoire algérien. En effet, le Nord algérien présente une large gamme des espèces endémiques adaptées au climat de la zone et appartiennent aux différentes familles entre autre: les Lamiaceae, les Asteraceae, les Apiaceae, etc. (Quézel et Santa, 1963). Ces plantes endémiques constituent un important réservoir de substances actives ce qui peut conduire à la découverte de nouveaux agents antimicrobiens ou molécules d'intérêts scientifiques (Zenasni, 2014).

L'utilisation des Plantes Aromatiques et Médicinales (PAM) dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique et agroalimentaire) est due principalement à leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes (Paolini, 2005). Ainsi, ces plantes renferment un nombre très élevé de composés chimiques (huile essentielle, flavonoïdes, quinone, vitamine, saponines, caroténoïdes, terpènes, polyphénols, alcaloïdes, etc) de propriétés physico-chimiques très variées et qui ont des activités biologiques différentes (antimicrobienne, antioxydante, antivirale, ...) (Michel, 2011). Ces propriétés, dues souvent aux huiles essentielles (HE). Ces dernières peuvent être utilisées pour traiter les infections mycosiques. L'usage des HE en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont irremplaçables (Ouraini *et al.*, 2007; Boughendjioua, 2015).

De nos jours, les HE s'utilisent par plusieurs chimistes, biologistes, ... et même médecins dans le traitement de certaines maladies infectieuses pour lesquelles les

antibiotiques de synthèse deviennent de plus en plus inactifs ou dans la préservation des aliments contre l'oxydation comme alternatives aux produits chimiques de synthèse (Ouis, 2015). Leur composition chimique est assez complexe (Peano *et al.*, 1999) dont les principaux constituants sont les composés terpéniques et aromatiques. Aussi, il existe d'autres molécules de faibles concentrations comme les acides organiques, les cétones et les coumarines volatiles. La nature du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle principal dans leur efficacité biologique (Franchomme, 1981; Carson et Riley, 1995; Rhayour, 2002).

Plusieurs maladies sont dues principalement au stress oxydatif (Pincemail *et al.*, 2003) qui se définit comme la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses antioxydants (Favier, 2003). Dans l'état physiologique, le pouvoir oxydant des radicaux libres peut être arrêté par plusieurs antioxydants notamment les vitamines (E et C) ainsi que les nutriments d'origine végétal (polyphénol, caroténoïdes, ...) (Edeas, 2006).

De même, les maladies infectieuses causées par les bactéries et les champignons affectent un nombre très élevé de personnes dans le monde entier, et causent de lourdes pertes économiques (Rhayour, 2002). Ainsi, 27 antibiotiques et 12 antifongiques ont été développés en 1998 contre les infections bactériennes et fongiques (Persidis, 1999), ce qui montre l'énorme effort exercé pour la lutte contre les maladies infectieuses. Cependant, les antibiotiques ne sont pas totalement inoffensifs pour l'organisme et peuvent provoquer, en plus de leur action antibactérienne, un certain nombre d'effets indésirables (Berche *et al.*, 1988). Ces antibiotiques, qui ont sauvé des vies et soulagé des souffrances de millions de personnes durant des années et jusqu'à ce jour, sont menacés aussi par l'apparition et la propagation des germes multirésistants (WHO Media centre, 2002). Pour cette raison, plusieurs chercheurs ont essayé de trouver des alternatives d'origines naturelles et qui doivent suivre quelques conditions pour une utilisation aussi vaste que les agents anti-infectieux, et qui est devenu très large d'un jour à l'autre avec des molécules plus puissantes, moins toxiques et moins coûteuses. La condition principale pour ce regain, est une étude scientifique rigoureuse et rationnelle de l'activité antimicrobienne des différents extraits naturels.

Dans le cadre de continuer la valorisation du pouvoir antioxydant et antimicrobien des plantes médicinales et aromatiques algériennes par notre laboratoire ainsi que la

recherche de nouvelles molécules bioactives, nous nous sommes intéressés à étudier les HE de deux plantes endémiques du bassin méditerranéen de la famille des Apiaceae: *Elaeoselinum asclepium* en provenance de Flifla (wilaya de Skikda) et *Margotia gummifera* en provenance de la wilaya de Béjaia.

Les objectifs fixés par la présente étude sont:

- Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation;
- Analyse phytochimique des huiles essentielles par CPG/FID et CPG/SM;
- Evaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles sur une panoplie de souches microbiennes (bactéries et champignons) par différentes méthodes;
- Evaluation du pouvoir antioxydant des huiles essentielles par différentes techniques.

Notre manuscrit est divisé en deux parties, une partie bibliographique et une partie expérimentale. La partie bibliographique consiste en une étude descriptive et caractéristique des deux plantes et elle est divisée en trois chapitres dont le premier porte sur la famille des Apiaceae, le deuxième porte sur la description de la composition chimique des HE ainsi que leurs activités biologiques (antimicrobiennes et antioxydantes) alors que dans le troisième chapitre, nous avons présenté les deux plantes étudiées ainsi que leurs travaux phytochimiques antérieurs.

La deuxième partie qui est la partie expérimentale est divisée en deux chapitres dont le premier chapitre présente le matériel et les différentes méthodes suivies afin d'atteindre nos objectifs et le deuxième chapitre expose les résultats obtenus.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
Les Apiaceae

I. LES APIACEAE

I.1. Généralités sur la famille des Apiaceae

Autrefois appelées Ombellifères (reconnaissables par leur inflorescence en ombelle), les Apiaceae renferment environ 3000 - 3750 espèces et 300 - 455 genres (Tabanca *et al.*, 2006). C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres.

De nos jours, c'est la terminologie de Lindley (1836) qui fait autorité, elle donne la préférence au terme Apiaceae (basé sur le genre *Apium*), mais l'emploi alternatif d'Ombellifères est autorisé.

I.2. Distribution de la famille des Apiaceae à travers le monde

La famille des Apiaceae est répartie sur une grande partie du globe (Tab. 01; Fig. 01), et particulièrement dans les régions montagneuses tempérées et relativement rare en zone tropicale (Heywood *et al.*, 1996). Aussi, elle occupe une place importante dans la flore algérienne où elle est représentée par 55 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (Quézel et Santa, 1963).

Tableau 01: Répartition mondiale des genres d'Apiaceae.

Continent	Genres	Endémiques
Afrique	126 divers	50
Amérique	197	52
Asie	265	159
Australie	36	11
Europe	139	29

(Pimenov et Leonov, 1993; Heywood *et al.*, 1996)

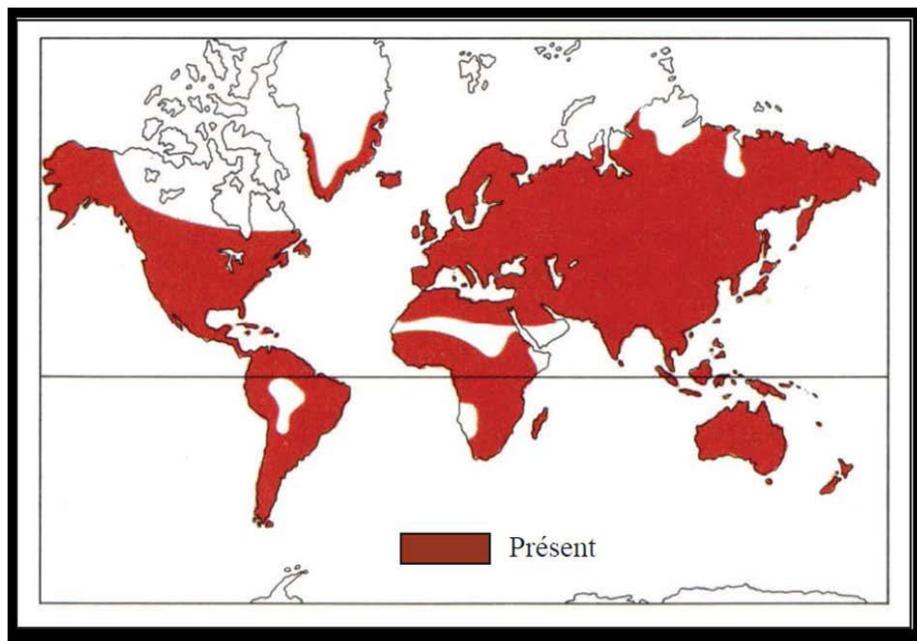


Figure 01: Répartition géographique mondiale des Apiaceae
(Pimenov et Leonov, 1993).

Les genres *Bupleurum* et *Daucus* sont les plus abondants en Algérie et qui renferment respectivement 14 et 11 espèces alors que la majorité est représentée par une ou deux espèces (Annexe 1) (Quézel et Santa, 1963).

I.3. Systématique des Apiaceae

Cette vaste famille a été créée par Antoine Laurent de Jussieu en 1789 sous le nom d'Umbelliferae, puis nommée Apiaceae par John Lindley en 1836 (Botineau, 2010). Selon la classification classique d'Arthur Cronquist (Cronquist, 1981-1988) basée sur des caractères morpho-anatomiques et chimiques, la famille appartient à la division des Magnoliophyta (encore appelées Angiospermes ou plantes à fleurs), classe des Magnoliopsida, sous-classe des Rosidae et ordre des Apiales. Cette position systématique a été adoptée par la communauté scientifique des Botanistes.

Dans la systématique classique, et en suivant les travaux de Drude (1898), les Apiaceae se répartissent en 3 sous-familles selon les caractères morphologiques des fruits: les Apioideae (sous-famille la plus vaste), les Hydrocotyloideae et les Saniculoideae.

La position systématique de la famille selon la classification de Cronquist (1981) est la suivante:

Règne: Plantae

Sous-règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Rosidae

Ordre: Apiales

Famille: Apiaceae.

I.4. Intérêt de la famille des Apiaceae

Les Apiaceae renferment de nombreuses plantes alimentaires et aromatiques. Les racines de la carotte (*Daucus carota* L.), du panais (*Pastinaca sativa* L.), du maceron (*Smyrniium olusatrum* L.) et du céleri, les feuilles de persil (*Petroselinum crispum* L.) ainsi que de céleri (*Apium graveolens* L.) peuvent être consommées, les grains du cumin (*Cuminum cyminum*) et l'anis (*Pimpinella anisum*) sont utilisés comme des épices. Le cerfeuil (*Anthriscus cerefolium* L.) est utilisé en tant que condiment (Botineau, 2010).

Quelques genres contiennent des plantes décoratives utiles, y compris *Schefflera* (magnolier) (Wood, 1974), alors que d'autres sont utilisées comme arômes pour les boissons, tels que l'*Angelica archangelica* (angélique), *Laserpitium gallicum* et plusieurs espèces d'*Heracleum* (Olle et Bender, 2010). D'autres Apiaceae sont utilisées comme des plantes médicinales ainsi que les graines d'*Ammi visnaga* qui ont une activité spasmolytique (Sofowara, 2010). Cependant, l'*Anethum graveolens* (Aneth) a des propriétés analogues à celle de l'anis et du fenouil, autrement dit antispasmodique digestif, eupeptique, carminatif et diurétique (Boullard, 2001).

Dans la famille des Apiaceae, ils existent des espèces toxiques telles que la grande ciguë (*Conium maculatum*), celle qui fut fatale à Socrate, une autre espèce vénéneuse est la ciguë vireuse (*Cicuta virosa*), herbe de marécages de l'Europe jusqu'au Japon.

Cette famille riche en métabolites secondaires présente des intérêts économiques et médicaux, comportant des coumarines, des flavonoïdes, des composés acétyléniques et des lactones sesquiterpéniques, ainsi qu'une grande richesse en huile essentielle dans la quasi-totalité de ses organes anatomiques.

I.5. Botanique et propriétés des Apiaceae

Les plantes appartenant à la famille des Apiaceae sont essentiellement herbacées annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces, rarement ligneuses et arbustives, elles ont un plan floral fixe, des fleurs hermaphrodites, rarement dioïques ou polygames, disposées en ombelles, souvent munies à la base d'un verticille de bractées (involucre) ou composées de plusieurs ombelles simples (ombellules), presque toujours pourvues de bractéoles (involucelle) (Bach *et al.*, 1979).

I.5.1. Organes souterrains

Ce sont souvent des racines pivotantes, dures (persil, fenouil), pouvant même se tubérisées (carotte) et ayant au collet une structure de tiges. Celle-ci, se prolonge en un pivot radicaire portant des radicelles ou de petites racines secondaires (Bach *et al.*, 1979).

I.5.2. Tiges

Tiges à entre-nœuds souvent creux, canaux sécréteurs, contenant des huiles essentielles, des résines, des saponines triterpéniques, des coumarines, des polyacétylènes, des monoterpènes et des sesquiterpènes, de l'umbelliférose (un trisaccharide) comme matière de réserve. Ces tiges portent à l'extérieur des sillons dans le sens de la longueur (tiges cannelées) (Bach *et al.*, 1979).

I.5.3. Feuilles

Les feuilles sont alternes, sans stipules, pennées ou palmées et le plus souvent composées à folioles profondément découpées ou lobées, mais certaines espèces ont des feuilles entières (buplèvre par exemple), à nervation pennée à palmée. Les pétioles sont souvent élargis à leur base, engainant la tige (Bach *et al.*, 1979).

I.5.4. Inflorescences

Une ombelle est une inflorescence où tous les pédoncules floraux partent du même point, elle est la partie la plus importante de la plante, car c'est grâce à elle que la famille des Apiaceae est facilement reconnaissable. Avant la classification phylogénétique APG, cette famille portait le nom d'Ombellifères en référence à son inflorescence bien caractéristique (Fig. 02) (Bach *et al.*, 1979).

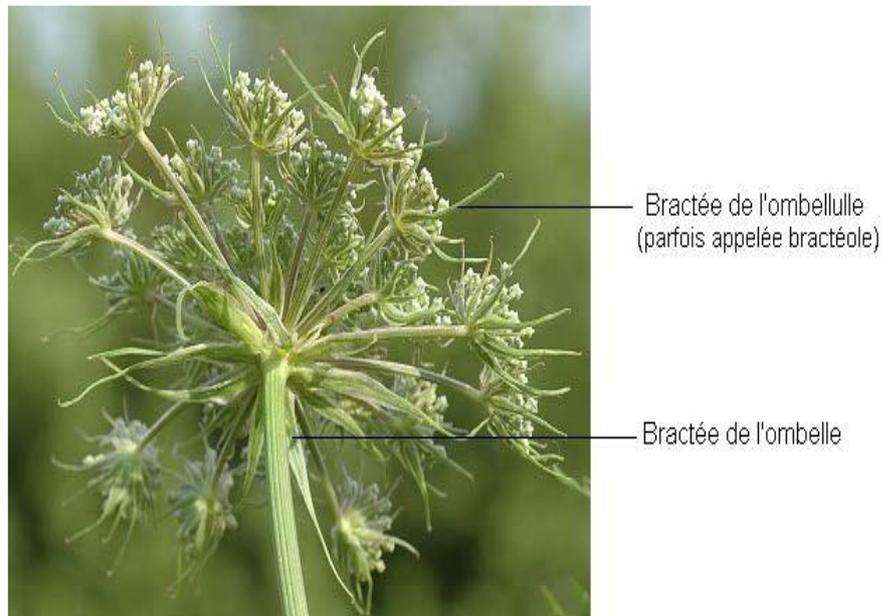


Figure 02: Schéma d'une ombelle.

Les ombelles peuvent être simples, munies à leur base d'un verticille de bractées formant un involucre. Les ombelles peuvent également être composées d'ombellules, pourvues à leur base de bractéoles disposées en involucrelle (Bach *et al.*, 1979).

I.5.5. Fleurs

Les fleurs des Apiaceae sont petites, pentamères, souvent blanches ou jaunâtres, quelquefois rougeâtres comme la fleur centrale de l'ombelle de carotte. Elles comptent 5 pétales, 5 étamines et un ovaire au centre infère à deux carpelles. Les sépales sont absents ou très réduits du fait que le calice est presque complètement soudé à l'ovaire. Parfois, les fleurs externes d'une ombelle peuvent avoir des pétales externes nettement plus grands que les autres (Bach *et al.*, 1979).

I.5.6. Ovaire

Ovaire infère à placentation généralement axile, styles plus ou moins renflés à la base, formant un organe nectarifère (le stylopode) au sommet de l'ovaire, stigmates généralement de 2 à 5, réduits, capités à tronqués, ou allongés (Bach *et al.*, 1979).

I.5.7. Ovules

Un ovule par loge, unitégumentés et ténuinucellés ou plus rarement crassinucellés (Bach *et al.*, 1979).

I.5.8. Fruits

Le fruit est un diakène (double méricarpe indéhiscent) où la paroi du fruit est constituée par la base des verticilles floraux externes et par la paroi des carpelles. Les deux méricarpes, habituellement soudés et surmontés des restes du style se séparent bientôt de bas en haut d'une columelle centrale qui les maintient unis (Fig. 03). Chaque méricarpe présente une face commissurale plane et une face dorsale, plus ou moins arrondie, qui porte cinq côtes longitudinales saillantes: une dorsale, deux latérales et deux marginales (ce sont les côtes primaires). Sur la face commissurale, chaque méricarpe possède deux nervures et deux faisceaux. Entre deux côtes primaires existe une dépression (vallécule) où l'on trouve une ou plusieurs poches sécrétrices allongées ou bandelettes qui sont propres à la paroi du fruit (Bach *et al.*, 1979).

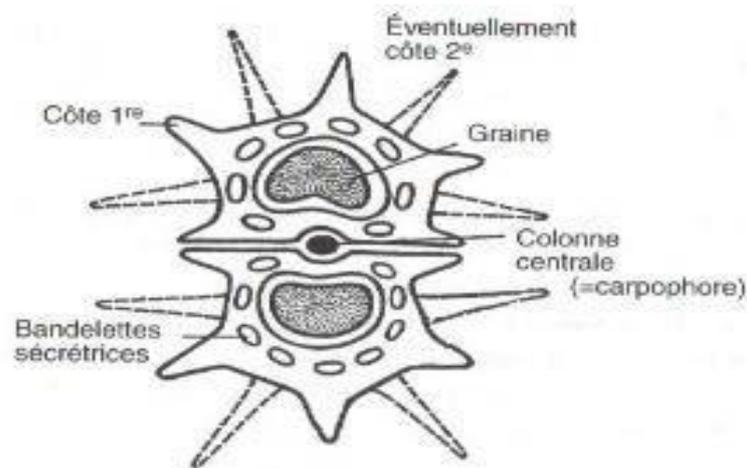


Figure 03: Structure générale d'un diakène d'Apiaceae

(Bach *et al.*, 1979).

Par ailleurs, les différentes formes du fruit ainsi que la présence ou l'absence de bandelettes, leur nombre et leur évolution sont autant de critères permettant la classification des différentes espèces au sein de cette famille (Bach *et al.*, 1979).

CHAPITRE II

Les Huiles Essentielles et leurs Activités Biologiques

II. LES HUILES ESSENTIELLES ET LEURS ACTIVITES BIOLOGIQUES

II.1. LES HUILES ESSENTIELLES

II.1.1. Généralités

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

Les huiles volatiles ou essences aromatiques végétales nommées huiles essentielles, car elles renferment la «Quinta essentia», la fragrance de la plante (Lamarti *et al.*, 1994). Elles sont des substances odorantes, volatiles, huileuses, de nature hydrophobe totalement solubles dans les alcools, l'éther et les huiles végétales et minérales. Lorsqu'elles sont pures et naturelles, elles ne contiennent aucun corps gras et uniquement constituées de molécules aromatiques volatiles, liquides à la température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, leur densité est inférieure à celle de l'eau à l'exception de quelques cas (cannelle, saffras et girofle), volatiles, insolubles dans l'eau, rarement colorées, et elle convient de les conserver à l'abri de l'air et de la lumière (Duval, 2012).

L'association française de normalisation (AFNOR NF T-75-006) a défini l'huile essentielle comme étant : «le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation «sèche», elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques» (AFNOR, 2000).

II.1.2. L'aromathérapie

Le terme *Aromathérapie* désigne, l'emploi thérapeutique exclusif des huiles essentielles en usage interne par absorption ou en usage externe. La naissance de l'aromathérapie était en 1928 par RENE MAURICE GATTEFOSSE qui, en travaillant sur les parfums et suite à un accident, redécouvrit les vertus de l'huile essentielle de la Lavande. Plongeant par réflexe sa main brûlée, lors d'une explosion dans le premier liquide à proximité, il nota une guérison rapide et sans infection, c'était l'huile essentielle de la

Lavande qui a été, ensuite, étudiée de façon approfondie par cette personne. En 1937, il publia son livre intitulé "Aromathérapie", cette appellation est conservée pour désigner l'emploi médicinal des huiles essentielles. La publication de cet ouvrage a marqué le début d'un intérêt croissant de la médecine pour cette forme de thérapeutique, et cet intérêt s'est manifesté encore davantage depuis les années 1944-1945. Il ne fait que s'amplifier, tant dans les applications déjà connues que dans la recherche de nouvelles possibilités (Bernadet, 2000).

Cette spécialité préoccupe de plus en plus des médecins et des pharmaciens qui ont publié un nombre important d'ouvrages de l'aromathérapie.

II.1.3. Localisation et origine des huiles essentielles dans la plante

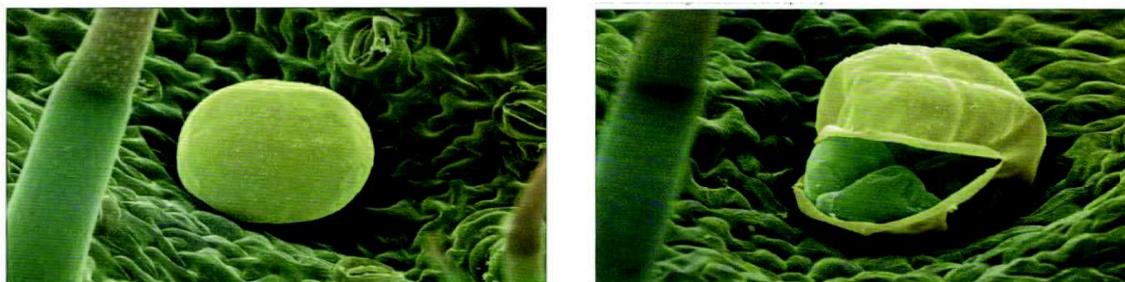
Les huiles essentielles sont presque exclusives de l'embranchement des Spermaphytes, et n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. D'après Bruneton (1999) et Degryse *et al.* (2008), parmi les 1 500 000 espèces végétales, 10% seulement sont dites «aromatiques», c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique.

Elles peuvent être localisées dans tous les organes végétaux: les feuilles (*Torilis arvensis*) (Saad *et al.*, 1995), les racines (*Heracleum persicum*) (Mojab et Nickavar, 2003), le bois (*Santalum album*) (Howes *et al.*, 2004), les rhizomes (*Zingiber officinale*) (Geiger, 2005), les écorces (*Cinnamomum verum*) (Jham *et al.*, 2005), les fruits (*Daucus carota*) (Glisic *et al.*, 2007b), les graines (*Daucus carota*) (Özcan et Chalchat, 2007) ou les fleurs (*Ferulago angulata*) (Akhlaghi, 2008).

Il n'existe pas de règle générale concernant les lieux d'accumulation des métabolites secondaires comme les huiles essentielles dans l'organisme végétal (Guignard *et al.*, 1985), mais dans la plus part des cas, les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des trichomes glandulaires sécréteurs (Lamiaceae), dans des cavités sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae) (Bruneton, 1999; Bakkali

et al., 2008). Selon les périodes, ces essences traversent la paroi cellulaire vers l'extérieur de la cuticule sous forme de vapeurs.

D'après Garneau (2004), la plupart des huiles essentielles se retrouvent dans des glandes sécrétrices (Fig. 04) qui se répartissent sur l'ensemble de la plante, mais rares sur les faces supérieures des feuilles et des tiges, ces glandes servent à synthétiser tous les constituants des huiles essentielles, afin de les stocker de façon durable.



Glande sécrétrice de l'épiderme d'une feuille avec cuticule intacte

Rupture de la cuticule montrant les cellules sécrétrices

Figure 04: Glandes sécrétrices (Svoboda et Greenaway, 2003).

Par contre, pour Svoboda (2000), elles sont produites et stockées dans des structures cellulaires spécialisées, ces structures sont divisées en deux groupes:

- Celles qui produisent l'huile essentielle sur la surface de la plante (sécrétion exogène).
- Celles qui produisent les huiles essentielles dans le corps de la plante (sécrétion endogène).

Par exemple, l'huile essentielle de l'Origan vulgaire (Fig. 05) est localisée dans les deux épidermes et principalement dans l'épiderme supérieur (Skoula *et al.*, 1999).

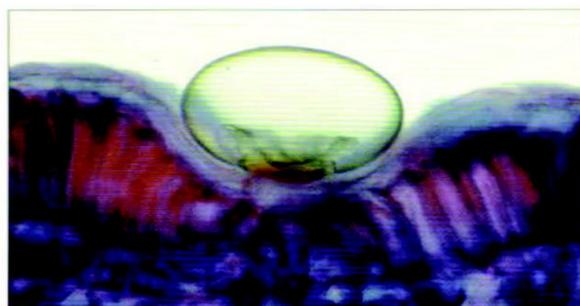


Figure 05: Glandule sécrétrice sur la surface supérieure de la feuille d'*Origanum heracleoticum*, montrant l'espace sub-cuticulaire rempli d'huile essentielle (x 420) (Svoboda et Greenaway, 2003).

- Canaux sécréteurs (Apiaceae)

Cavité ou conduit de forme plus ou moins cylindrique, né par écartement des cellules qui le délimitent et qui reçoit les produits après leurs sécrétions. Le nombre des canaux sécréteurs est extrêmement variable dans les fruits des Apiaceae, par exemple, six pour *Carum capticum* et une dizaine pour *Crithmum maritimum* (Gersbach et Reddy, 2002). Chez la famille des Apiaceae, ces structures ne sont pas seulement liées à la production et l'accumulation des HE (Sarafis et *al.*, 1990), mais semblent également être des sites de la synthèse de substances biologiquement actives, y compris les coumarines, les furanocoumarines et les flavonoïdes (Zobel et March, 1993).

La figure 6 montre les structures sécrétrices cellulaires de la graine de *Carum carvi* (Apiaceae) réalisés par Svoboda et Greenaway (2003).

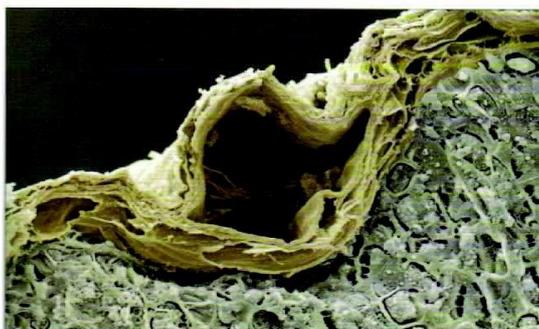


Figure 06: Localisation des structures sécrétrices (canal sécréteur) dans la graine de Carvi (x406) (Svoboda et Greenaway, 2003).

II.1.4. La composition chimique d'une huile essentielle

Un mélange complexe de constituants hétérogènes, ces constituants appartiennent quasi exclusivement, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distincts: le groupe des terpènes et des terpénoïdes (isopréniques, monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes) (Bruneton, 1999; Rhayour, 2002; Clarke, 2008; Baser et Buchbauer, 2010.) d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane d'autre part. Elles peuvent également contenir des constituants non volatils issus de processus de dégradation (Bakkali *et al.*, 2008; Bruneton, 2009) en plus des hydrocarbures (terpènes et sesquiterpènes) et des composés oxygénés (les alcools, les esters,

les éthers, les aldéhydes, les cétones, les phénols et les éthers de phénol). La complexité des HE rend souvent difficile la mise en évidence de leurs activités (Bruneton, 2009).

II.1.4.1. Les terpènes

Les composés de type terpénique sont largement rencontrés dans les HE, ils sont formés d'un multiple pair ou impair d'unités de 2-méthylbuta-1,3-diène ou appelé encore isoprène (C_5H_8). On distingue ainsi selon le nombre d'entités isoprènes le groupe des monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), les diterpènes ($C_{20}H_{32}$), les tétraterpènes de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes et les polyterpènes (C_5H_8)_n ou n peut-être de 9 à 30 (Hernandez-Ochoa, 2005). Aussi, parce que les terpènes proviennent de l'isoprène, ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes.

Les terpènes les plus rencontrés dans les HE sont les terpènes les plus volatils, c'est à dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée tels que les mono et les sesquiterpènes (Langenheim, 1994). En outre, la synthèse des terpènes n'est pas propre aux végétaux parce que le squalène, ainsi que son nom l'indique, est un terpène abondant chez les requins, ainsi que les sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent également chez les spongiaires et les cœlentérés (Guignard, 2000).

II.1.4.1.1. Les monoterpènes

Sont les molécules les plus représentatives, constituant 90% des HE et permettent une grande variété de structure, ils sont formés par le couplage de deux unités isopréniques ($C_{10}H_{16}$) (Annexe 02).

Ces composés peuvent être: monoterpènes acycliques (myrcène, ocimène), monoterpènes monocycliques (α - et γ -terpinène, *p*-cymène) ou monoterpènes bicycliques (pinènes, Δ^3 -carène, camphène, sabinène).

II.1.4.1.2. Les sesquiterpènes

Ils sont formés par l'assemblage de trois unités isopréniques ($C_{15}H_{24}$), l'extension de la chaîne augmente le nombre de cyclisation qui permet une grande variété de structure (Annexe 03). Les exemples des plantes contenant ces composants sont: Angélique, Bergamote, Cumin des prés, Céleri, Citronnelle, Coriandre, Eucalyptus, Géranium,

Genièvre, Lavande, Citron, Mandarine, Menthe, Pastille de menthe, Petit grain, Pin, Romarin et Thym (Bakkali *et al.*, 2008)

Ils contiennent plus de 3000 molécules comme par exemple: β -caryophyllène, α -humulène, α -bisabolol, farnesol (Brunton, 1999; Hernandez-Ochoa, 2005).

II.1.4.2. Les composés aromatiques dérivés de phenylpropane

Les composés aromatiques (Annexe 04) sont des dérivés de phenylpropane (C6-C3) et sa production est moins fréquente que les terpènes. Généralement, il s'agit d'allyle de propénylphénols et parfois des aldéhydes caractéristiques de certaines huiles essentielles, telle celle de girofle (Eugénol) (Ghestem *et al.*, 2001). On peut également rencontrer dans les HE des composés en C6-C1, plus rares, comme le safrole, la vanilline (assez fréquente) et l'antranilate de méthyle (Belaiche, 1979; Bruneton, 1999).

En plus des principaux constituants cités, les HE peuvent contenir d'autres produits d'origines diverses. Ce sont le résultat de la dégradation d'acides gras comme le (3Z)-hexen-1-ol ou la dégradation des terpènes comme les ionones (Selles, 2012), on peut rencontrer les composés azotés et soufrés, mais ils sont souvent rares.

II.1.5. Les propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont une variété d'applications et, dans bien des cas, la même huile peut être recherchée pour des propriétés différentes. Les propriétés médicinales des HE sont nombreuses, mais chacune possède ses vertus particulières (Nicole, 1996).

II.1.5.1. Propriété pharmaceutique

Plusieurs activités peuvent être attribuées aux HE : cholérétique, cicatrisante, neurosédative, spasmolytique, digestive, stomachique, antimicrobienne, anti-inflammatoire (Bruneton, 1999), désinfectante du système respiratoire (Inouye *et al.*, 2001a/b), antioxydante (Dorman *et al.*, 2000), en médecine dentaire (la listerine) (Kato *et al.*, 1990). Selon Dorman *et al.* (2000), les terpènes font partie des composés chimiques responsables de ces vertus et par conséquent, usages médicaux des plantes aromatiques et médicinales.

II.1.5.2. Utilisation en aéro-ionisation

Dans les locaux, on peut aseptiser l'atmosphère avec un ionisateur des huiles essentielles. Il se forme ainsi des aérosols aromatiques, ionisés, créant de l'oxygène naissant ionique, fortement bactéricide, tout en contribuant à dépolluer l'atmosphère (Inyoue *et al.*, 1983). Elles servent dans la fabrication du "paragerm", solution volatile à base d'essences naturelles (citron, lilas), à activité bactéricide, acaricide et fongistatique qui s'est révélée sans aucune toxicité pour l'homme aux doses utilisées (Mallea *et al.*, 1979).

II.1.5.3. Parfumerie et cosmétologie

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable (Vargas *et al.*, 1999), elles sont utilisées aussi pour la fabrication des parfums, dans les compositions parfumantes des détergents et des produits de parfumerie fonctionnelle. Dans le secteur de cette dernière, les huiles essentielles sont sélectionnées pour renforcer l'impression de la propreté (Loza-Tavera, 1999), de même, elles ont aussi une grande importance économique comme saveurs et solvants (Robinson, 1991).

II.1.6. Les procédés d'extraction

Les huiles essentielles sont composées par des molécules aromatiques d'origines végétales présentant une très grande diversité de structure. D'ailleurs, elles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, mais toujours précieuses. Plusieurs modes d'extractions sont disponibles.

II.1.6.1. L'hydro-distillation

C'est la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée pour extraire les composés volatiles des plantes. Le principe de l'hydro-distillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition (Fig. 07). La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange,

c'est à dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux (Chemat, 2009).

Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe et utilisé généralement pour l'extraction des huiles essentielles en accord avec la Pharmacopée Européenne est le Clevenger (Clevenger, 1928).

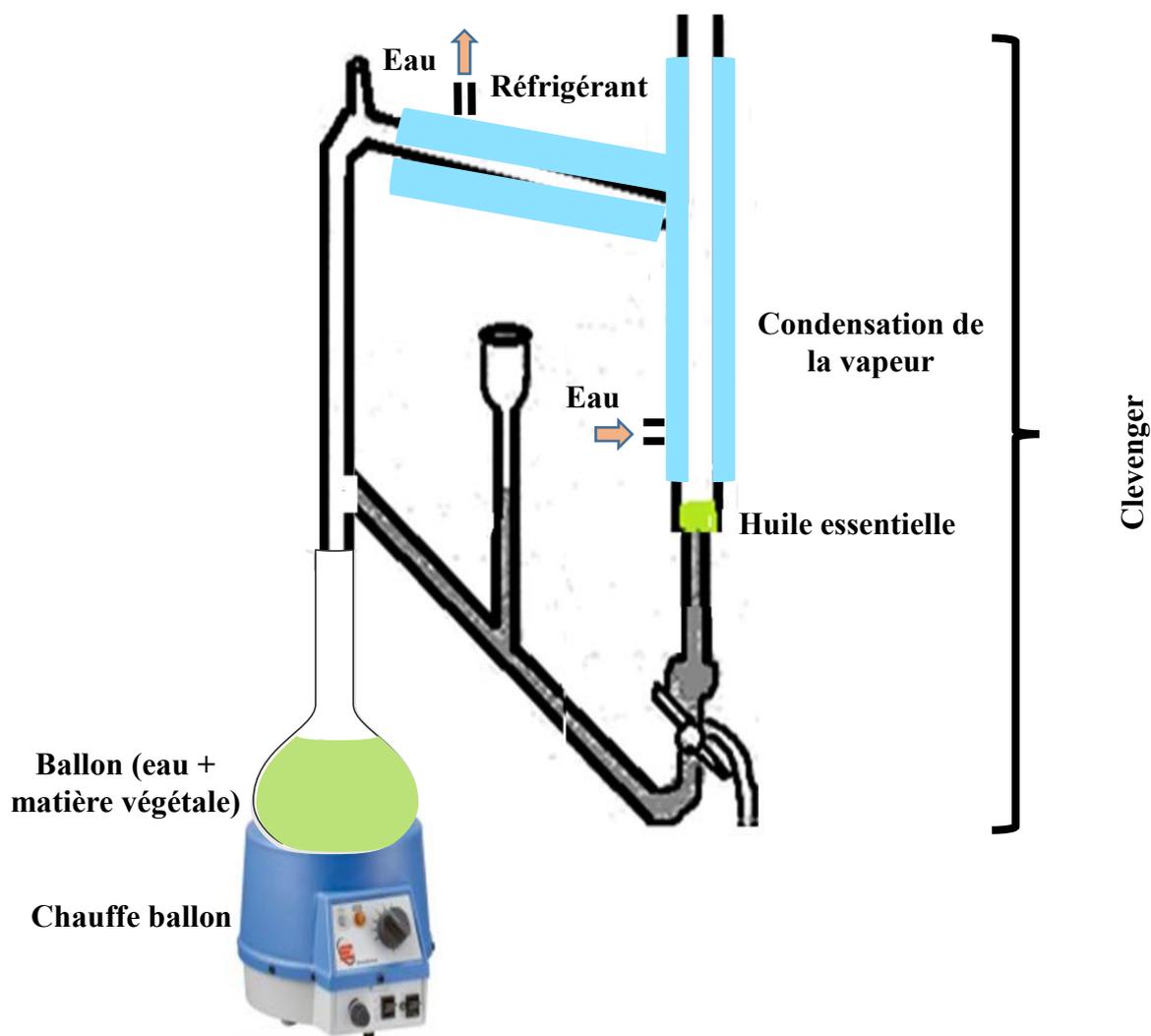


Figure 07: Appareil d'extraction type Clevenger

La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) porte une modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (Chalchat *et al.*, 1997).

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter (Hernandez-Ochoa, 2005). La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

II.1.6.2. L'entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau «Vapo-Hydrodistillation» est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (Fig. 08). La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange «eau + huile essentielle». La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée (Belaiche, 1979).

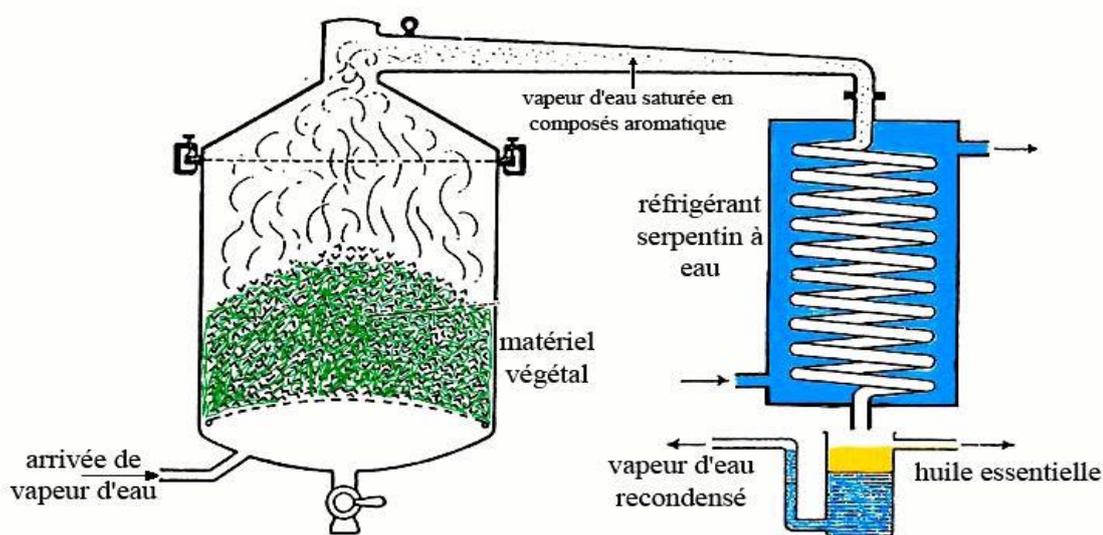


Figure 08: Montage d'entraînement à la vapeur d'eau (El Haib, 2011).

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Franchomme *et al.*, 1990; El Haib, 2011). Dans une huile

essentielle obtenue par hydrodistillation, les composés oxygénés ont une plus grande affinité que les hydrocarbures pour la phase aqueuse et se trouve donc l'hydrolat (Sutour, 2010).

L'entraînement à la vapeur d'eau est préférable à l'hydrodistillation du fait qu'elle permet une extraction totale des huiles essentielles en améliorant le rendement de 33% par rapport à l'hydrodistillation (Rudloff, 1968).

Plus que les méthodes suscitées, d'autres méthodes sont aussi utilisées pour extraire les HE, entre autre : hydrodiffusion, extraction par micro-ondes, l'enfleurage, CO₂ supercritique ...etc.

II.1.7. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles

Selon la Pharmacopée Française et Européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, parmi eux la chromatographie qui est fréquemment utilisée pour séparer les constituants des huiles essentielles. Elle se base sur les différentes affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions et de leurs désorptions successives sur la phase stationnaire, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase (Schwedt, 1993) et il en existe plusieurs:

II.1.7.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition (Arpino *et al.*, 1995; Adams, 2001). Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie et reste la méthode la plus adaptée pour l'analyse des huiles essentielles, compte tenu de la volatilité de leurs constituants (Arpino *et al.*, 1995).

Le principe de la chromatographie en phase gazeuse basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...), on parle de la chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption (Audigie *et al.*, 1995). Pour

chacun des composés, des indices de rétention expérimentaux peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir du temps de rétention des composés qui sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature) (Souici *et al.*, 2007).

La technique présente plusieurs avantages à savoir une mise en œuvre facile, un temps d'analyse assez court, des résultats fiables et une automatisation possible du processus (Bruneton, 2009). Elle permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit (Arpino *et al.*, 1995; Adams, 2001).

II.1.7.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) est une méthode d'analyse qui associe les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément les divers constituants d'un mélange (Constantin, 1996). Les premières tentatives de couplage remontent aux années soixante. Depuis, cette méthode de couplage n'a cessé d'évoluer et a trouvé de nombreuses applications dans les domaines de l'agroalimentaire, des produits pétroliers et des produits naturels, etc... (Mc Lafferty et Michnowicz, 1992). Dans le secteur particulier des huiles essentielles, le couplage CPG/SM est la technique de référence (Constantin, 1996; Paolini, 2005).

Le principe de cette méthode consiste à transférer par le gaz vecteur (phase mobile) les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils seront fractionnés en ions de masse variables et ils vont être distribués suivant leur rapport masse/charge, après séparation, les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées. Finalement, l'outil informatique enregistre les données provenant du spectromètre de masse et les convertit en valeurs de masses et d'intensités de pics puis en courant ionique total. Les spectres de masse ainsi obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles commerciales (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library) à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisant et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables

(Bruneton, 1999; Bouderdara, 2013). Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (CPG/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe (Paolini, 2005).

II.2. LES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HE

II.2.1. L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE

Les pathologies infectieuses bactériennes entraînaient, dans la majorité des cas, la mort de l'être vivant avant la découverte des antibiotiques. Un antibiotique selon la définition de SELMAN WAKSMAN (1942) est toute substance antibactérienne. Aussi, c'est un dérivé produit par le métabolisme des microorganismes possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte.

Avec la découverte de la pénicilline en 1929 par Fleming et puis d'autres antibiotiques, on est passé à l'ère des antibiotiques qui a connu un grand essor (Gaudy et Buxeraud, 2005). Les antibiotiques ont été très efficaces pour le traitement de nombreuses maladies qui étaient un fléau pour le genre humain parce qu'ils provoquent une spectaculaire guérison pour des maladies autrefois considérées comme incurables (Perry *et al.*, 2004). Après une longue période d'utilisation massive des antibiotiques, nous arrivons maintenant à une période plus délicate. Le monde bactérien est capable de s'adapter à une nouvelle situation écologique, y compris la présence des antibiotiques. En développant des stratégies de résistance vis-à-vis des molécules d'antibiotiques (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline), les bactéries reprennent l'avantage (Gaudy et Buxeraud, 2005). De ce fait, les huiles essentielles antimicrobiennes présentent une sérieuse alternative à la médecine des antibiotiques contre les pathologies infectieuses.

L'utilisation des HE est empiriquement reconnue depuis des siècles mais sans bases scientifiques, la confirmation scientifique de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est récente. Elle ne date que du début du dernier siècle avec les travaux du Dr GATTEFOSSE (1919), le père de l'aromathérapie en France.

Beaucoup de groupes de recherche ont étudié, par exemple, l'effet de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* contre la souche *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* ou MRSA) (Dryden *et al.*, 2004). Cette huile,

dont le composé majoritaire est le terpinène-4-ol, a montré de très bons résultats *in vitro* contre la prolifération de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline.

Le pouvoir antifongique des HE des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (Ouraini *et al.*, 2005), les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans* (levure), *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* (Teixeira-Duarte *et al.*, 2005). En 2007, Omidbeygi *et al.* ont démontré que les HE de thym, de la sarriette et du clou de girofle présentent une activité antifongique *in vitro* contre *Aspergillus flavus*, alors qu'en 2008, Jaset-Dongmo *et al.* ont étudié les HE d'*Eucalyptus saligna* et d'*Eucalyptus camalduiensis* et ont montré qu'elles ont un effet fongistatique vis-à-vis *Phaeoramularia angolensis*.

Encore, l'effet anticandidosique de l'HE du théier (*Melaleuca alternifolia*) *in vitro* a été rapporté par plusieurs auteurs (Cox *et al.*, 2001), ainsi que l'HE de *Santolina chamaecyparissus* (Suresh *et al.*, 1997).

II.2.1.1. Principes actifs et mécanisme d'action antibactérien des HE

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (Dorman et Deans, 2000; Ultee *et al.*, 2002). Les composés chimiques de plus grande efficacité et à plus large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools (α -terpinéol, terpinène-4-ol et linalol), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les terpènes (Cosentino *et al.*, 1999; Dorman et Deans, 2000). En effet, les alcools agissent généralement en dénaturant les protéines, comme solvants ou comme agents de déshydratation. Les aldéhydes peuvent induire des réactions de transferts d'électrons et réagir avec des composés nitrés vitaux pour la bactérie tels que protéines et acides nucléiques (Dorman et Deans, 2000).

Les phénols sont responsables des dégâts irréversibles au niveau de la membrane dont plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les huiles essentielles sont efficaces (Cosentino *et al.*, 1999). En effet, la plupart des études avancent que le principal site d'action des HE est la membrane plasmique (Shunying *et al.*, 2005), car le caractère hydrophobe des HE leur permet de se lier avec les lipides de la membrane plasmique qui perd sa structure et devient plus perméable aux ions potassium et proton (Burt, 2004). Ceci entraîne une diminution du gradient de pH, du potentiel membranaire et une inhibition de la synthèse d'ATP qui s'ensuit

par la mort de la bactérie (Ultee *et al.*, 1999; Burt, 2004). Cependant, les phénols ne sont pas les seuls responsables de l'intégralité de l'activité, la totalité de la composition chimique doit être prise en compte (Cosentino *et al.*, 1999).

Les mécanismes par lesquels les HE exercent leur activité antibactérienne sont mal connus. Du fait de la complexité de leur composition chimique, il est difficile de donner une idée précise sur le mode d'action des HE. Il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Dorman et Deans, 2000).

Les terpènes ainsi que les flavonoides agissaient sur les cellules bactériennes en induisant une rupture de la paroi et de la membrane microbienne et par conséquent la libération du contenu cellulaire à l'extérieur en provoquant la mort cellulaire (Tsuchiya *et al.*, 1996). Les HE peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides (Johansen *et al.*, 1997). Certains auteurs suggèrent que ces produits naturels pénètrent à l'intérieur de la cellule microbienne et sont susceptibles d'interférer avec son métabolisme cellulaire (Marino *et al.*, 2001).

Le mode d'action des HE dépend du type de microorganismes. En général, les bactéries à Gram (-) sont plus résistantes que les bactéries à Gram (+) grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram (-) est plus riche en lipo-polysaccharides (LPS) qui la rendent plus hydrophiles, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (Cristiani *et al.* 2007). Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipo-polysaccharides membranaires grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Zani *et al.*, 1991).

II.2.1.2. Principes actifs et mécanisme d'action antifongique des HE

L'étude de l'effet fongicide et fongistatique des huiles essentielles vis-à-vis de champignons pathogènes a fait l'objet de plusieurs travaux (Rasooli et Abyaneh, 2004; Teixeira Duarte *et al.*, 2005). L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la cellule (Cox *et al.*, 2000). En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes

membranaires et dégradent la membrane plasmique des cellules (Giordani et Kaloustian, 2006). Ils ont constaté également que les alcools et les lactones sesquiterpéniques avaient une activité antifongique.

D'autre part, Viollon et Chaumont (1994) ont décrit l'effet fongitoxique du thymol et du carvacrol sur *Cryptococcus neoformans*, champignon opportuniste rencontré au cours du SIDA. Arras et Usai (2001) ont rapporté l'effet fongitoxique du carvacrol, composé majoritaire de *Thymus capitatus* sur le champignon *Penicillium digitatum*. Cependant, l'effet des composés quantitativement minoritaires n'est pas forcément négligeable (Tantaoui-Elaraki *et al.*, 1993).

II.2.1.3 Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne

Il existe plusieurs méthodes pour tester le pouvoir antimicrobien et le choix de la méthode doit être conditionné par l'insolubilité des huiles essentielles dans les milieux aqueux, leur volatilité et la nécessité de les tester à des faibles concentrations.

II.2.1.3.1. L'Aromatogramme

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques.

II.2.1.3.2. Méthode de micro-atmosphère

Cette technique consiste à cultiver les microorganismes à tester dans les boîtes de Pétri sur milieux de culture appropriés. La différence réside principalement dans la position de disque imprégné en HE qui est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boîte de Pétri et peut exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes testés (Pibiri, 2006).

II.2.1.3.3. Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide

La détermination de l'effet bactéricide ou bactériostatique d'une HE est réalisée en procédant un repiquage des zones d'inhibition formées et ne présentant aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu sur milieu de culture.

- S'il ya croissance bactérienne, l'HE a un effet bactériostatique sur la souche testée.
- S'il ya une absence de la croissance bactérienne, l'HE présente un effet bactéricide vis-à-vis cette souche.

II.2.2. L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

II.2.2.1. Les radicaux libres

Les électrons sont généralement associés par paires au niveau des atomes ou des molécules. Un radical libre est une espèce chimique, ayant un ou plusieurs de ses électrons non appariés, extrêmement instable, doté d'une forte énergie et qui avant d'être neutralisé détruit ce qu'il rencontre (Halliwell, 1997).

L'oxygène moléculaire (O_2) est la source de vie pour les organismes aérobies mais peut être également une source d'agression pour eux aussi. En effet, des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons U.V. (Ekoumou, 2003). Les formes de l'oxygène provoquant ces troubles sont: radical superoxide ($O_2^{\bullet -}$), qui est rapidement converti en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier peut être réduit en radical hydroxyle (HO^{\bullet}) qui est à son tour donne un radical peroxyde (ROO^{\bullet}) lorsqu'il se trouve en contact avec les acide gras polyinsaturé (Gomes *et al.*, 2008). Ces radicaux sont communément appelés ERO (Espèces Réactives Oxygénées) et ils ont une durée de vie extrêmement très courte de la nano à la milli seconde (Lehucher-Michel *et al.*, 2001). Ces radicaux libres peuvent causer des dommages au niveau des substrats oxydables (ADN, lipides et protéines) (Ahamet, 2003) et pour cette raison, notre organisme, lors de son évolution, a développé en parallèle des systèmes de défense afin de le protéger contre cet effet toxique (Halliwell, 1997).

II.2.2.2. Le stress oxydant et ses conséquences biologiques

Le stress oxydatif réfère à une perturbation dans la balance métabolique cellulaire durant laquelle, la génération des oxydants accable le système de défenses antioxydants, que ce soit par une augmentation de la production d'oxydants et/ou par une diminution des défenses antioxydantes. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, citons la surproduction endogène d'agents prooxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons UV, herbicides, ozone, amiante, métaux toxiques) (Fig. 09) (Smirnof, 2005).

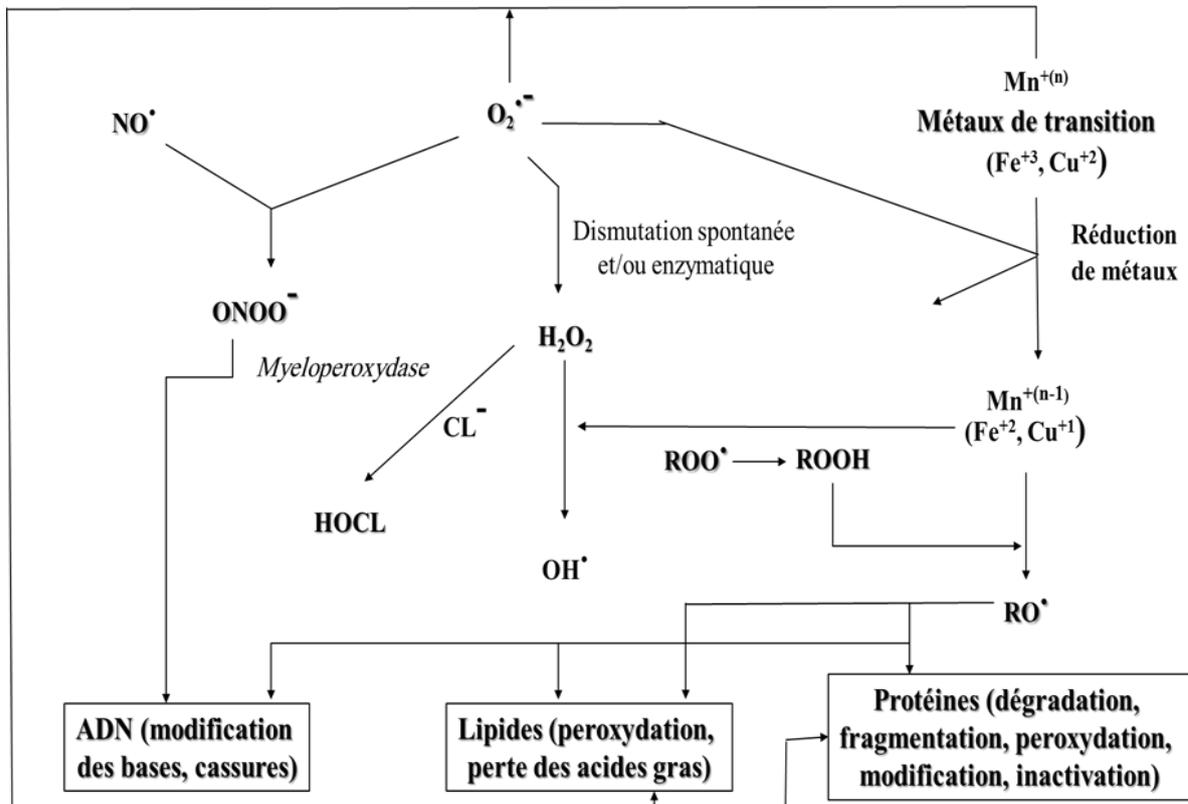


Figure 09: Cibles biologiques et endommagements oxydatifs induits par les espèces oxygénées réactives (Kohen et Nyska, 2002).

L'accumulation des espèces oxygénées réactives a pour conséquence l'apparition de dégâts cellulaires et tissulaires souvent irréversibles dont les cibles biologiques les plus vulnérables sont les protéines, les lipides et l'acide désoxyribonucléique (Fig. 09) (Smirnof, 2005).

II.2.2.3. Les antioxydants

Les défenses cellulaires antioxydantes peuvent être classées en deux types de défenses; les systèmes de défenses primaires et secondaires. Le système de défense primaire est constitué de systèmes enzymatiques spécifiques tels que le superoxyde dismutase, la catalase, le glutathion peroxydase ainsi que une grande variété de petites molécules antioxydantes. Le système de défense secondaire est formé, d'une part par des enzymes lipolytiques et protéolytiques qui vont éviter l'accumulation de composés oxydés résultant d'une attaque radicalaire et d'autre part, par les systèmes de réparation de l'ADN (Halliwell *et al.*, 1995).

Un antioxydant est toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle d'un substrat oxydable, retarde ou évite l'oxydation de ce substrat (Halliwell *et al.*, 1995). En suivant cette définition on trouve qu'un antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, non toxique, n'entraîne ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques et il est stable dans le produit fini (Pokorny *et al.*, 2001).

L'antioxydant peut agir par de nombreux mécanismes différents qui peuvent être l'élimination direct de l'oxygène, le piégeage des espèces oxygénées ou azotées réactives (ROS et RNS), l'inhibition de la formation de ces ROS et RNS, la chélation des ions métalliques nécessaires à la génération des ROS ou la stimulation des défenses antioxydantes endogènes (Halliwell, 1997).

Parmi les molécules antioxydantes, spécialement les petites, on trouve : les vitamines (α -tocophérol, acide ascorbique, etc...) ainsi que de nombreux composés naturels extraits de plantes, notamment des composés polyphénoliques (flavonoïdes...) (Halliwell *et al.*, 1995).

II.2.2.4. Les rôles des complexes antioxydants

Dans toutes les cellules aérobies, les radicaux libres sont essentiellement des radicaux oxygénés. Leur hyperactivité les engage dans des réactions de dénaturation des constituants cellulaires de type peroxydation, avec les glucides, les lipides, les protéines et l'ADN, formant des produits très instables. Ceux-ci donnent lieu à des réactions en chaîne générant de nouveaux radicaux libres. Ce processus de peroxydation s'auto-entretient de lui-même et il faut attendre l'obtention de produits stables par réaction entre deux radicaux ou

l'intervention de substances protectrices dites "*piégeurs de radicaux libres*" pour l'arrêter. La protection contre les effets délétères induits par les radicaux oxygénés s'effectue à l'aide de trois types d'agents différents:

- Les protéines non enzymatiques (albumine, haptoglobine et transferrine) jouent un rôle antioxydant par chélation des ions;
- Les enzymes tels que les superoxydes dismutases et les glutathions peroxydases transforment des radicaux très prooxydants en substances inoffensives;
- Les antioxydants d'origine nutritionnelle, les caroténoïdes, les tocophérols (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C). Outre ces trois agents, il est important de citer les composés phénoliques (les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins) (Bruneton, 1999), les coumarines et les huiles essentielles.

II.2.2.5. Les huiles essentielles comme antioxydants

Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibre entre la production des radicaux libres et d'enzymes antioxydantes, est en relation avec l'apparition des maladies telles que l'alzheimer (Butterfield et Lauderback, 2002), l'artériosclérose et le cancer (Gardner, 1997). Une façon de prévenir ce stress oxydatif qui endommage et détruit les cellules est de rechercher, dans l'alimentation, un apport supplémentaire de composés antioxydants (vitamine C, α -tocophérol, BHT, etc.) (Béliveau et Gingras, 2005). Les huiles essentielles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants (Edris, 2007). Le thymol et le carvacrol sont encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (Braga *et al.*, 2006). L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones, aldéhydes monoterpéniques (le tinalool, le 1,8-cinéole, le géraniol/nérol, le citronellal, l'isomenthone, la menthone) et quelques monoterpènes: α -terpinène, γ -terpinène et α -terpinolène (Edris, 2007).

D'après plusieurs travaux récemment publiés dans des revues scientifiques au sujet de l'activité antioxydante des huiles essentielles, il est possible d'enregistrer une telle diversité sur l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles. La tendance des HE à inhiber l'oxydation d'acide linoléique est due principalement à la présence ou l'absence des

composés phénoliques et ce résultat a été approuvé par plusieurs travaux (Mighri *et al.*, 2010; Aidi Wannes *et al.*, 2010). De même, certains auteurs ont utilisé les méthodes de DPPH, FRAP et RP pour déterminer le pouvoir antioxydant (Mothana *et al.*, 2010; Saleh *et al.*, 2010).

CHAPITRE III

***Travaux Antérieurs sur les
Genres: Elaeoselinum et Margotia***

III. TRAVAUX ANTERIEURS SUR LES GENRES *ELAEOSELINUM* et *MARGOTIA*

III-1. Le genre *Elaeoselinum* Koch ex DC.

III-1.1. Généralités

Le genre *Elaeoselinum* (en grec: persil à huile) appartient à la famille des Apiaceae, sous-famille Apioideae, tribu Laserpitieae et sous-tribu Daucineae, dont les principales caractéristiques sont le mode d'inflorescence en ombelles et la présence d'un appareil sécréteur interne. Cette tribu est considérée comme typique de l'ancien monde et comprend les genres *Laserpitium*, *Siler*, *Melanoselinum*, *Guillonea*, *Rouya*, *Polylophium*, *Thapsia* et *Elaeoselinum* (Heywood, 1971; Pimenov et Leonov, 1993; Bader *et al.*, 2010)

Selon Tutin *et al.* (1968), le genre *Elaeoselinum* Koch ex DC. est représenté dans la flore européenne par quatre espèces: *E. asclepium* (L.) Bertol. (contient: subsp. *asclepium* et subsp. *meoides* (Desf.) Fiori), *E. foetidum* (L.) Boiss., *E. gummiferum* (Desf.) Tutin et *E. tenuifolium* (Lag.) Lange (Gutiérrez Bustillo *et al.*, 1986; Bader *et al.*, 2010). Le dernier d'entre eux est maintenant classé comme *Disticoselinum tenuifolium* (Lag.) Garcia Martin et Silvestre. (Garcia Martin et Silvestre, 1985; Bader *et al.*, 2010). Garcia Martin et Silvestre (1983/1985) ont proposé de diviser le genre *Elaeoselinum* en trois genres distincts représentés par *Elaeoselinum* s.s., *Margotia* Boiss. et *Distichoselinum* Garcia Martin et Silvestre. Ce traitement est basé sur quelques caractères, qui sont utiles pour distinguer les simples sections (Brullo *et al.*, 2003).

D'autres espèces qui ont été décrites comme appartenant au genre *Elaeoselinum*: *E. laxum* Pomel, *E. exinvolucratum* Cosson et Balansa, *E. humile* Ball, *E. mangenotianum* Emb., *E. cuatrecasii* Sennen et Mauricio et *E. cadevallii* Sennen et Mauricio, ils devraient être inclus dans la synonymie d'*E. meoides* ou *E. fontanesii* ou la séparation définitive du genre *Elaeoselinum* (Garcia Marin et Silvestre, 1985; Gutiérrez Bustillo *et al.*, 1986).

La figure 10 est une carte qui représente les aires de répartition des principales espèces du genre *Elaeoselinum* en méditerranée.

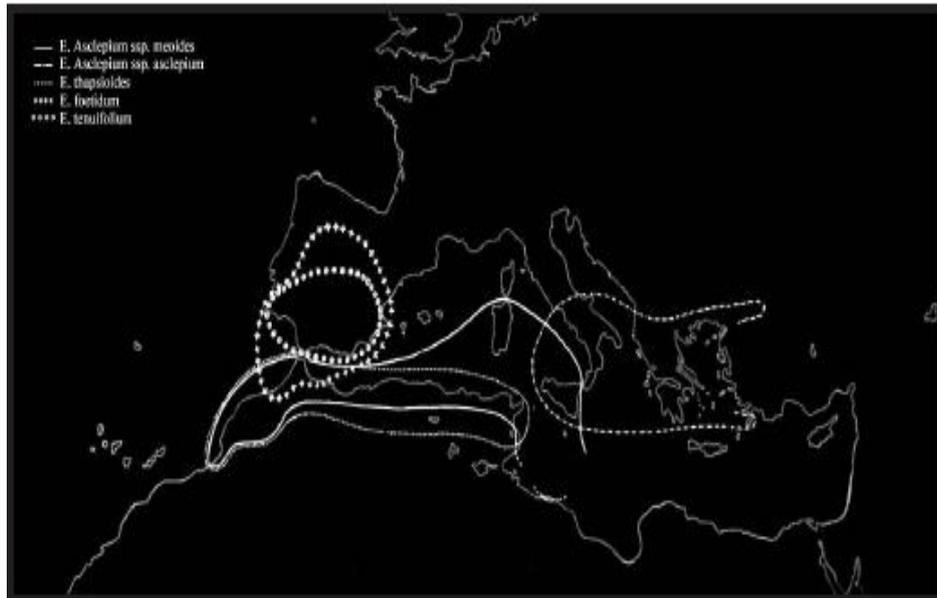


Figure 10: Répartition géographique du genre *Elaeoselinum* (VeUILLET, 1959).

III.1.2. Caractéristiques botaniques

III.1.2.1. Le genre *Elaeoselinum* Koch ex DC.

Plantes herbacées, vivaces à souche fistuleuse. Les tiges de 30-100 cm sont rameuses, dressées, cylindriques, légèrement striées et ramifiées, glabres, entourées à leurs bases par des restes de gaines foliaires. Les feuilles sont très découpées, basales dispersées, 3-4 pennatiséquées, avec des pétioles et des nerfs scabres ou villosités, avec 2-7 segments primaires basales et des lobes terminaux linéaires à triangulaires, aplaties ou légèrement canaliculés, mucronés, bifaces. Cette divergence permet aux feuilles d'être un excellent élément de diagnostic. De même, ce genre possède un involucre et involucelle polyphylles, le nombre de bractées et bractéoles a une grande importance taxonomique. Involucre absent ou contient de 1 à 9 bractées entièrement herbacées, caduques ou persistantes. Involucelles généralement contient plusieurs bractéoles (Quézel et Santa, 1963; García Martín et Silvestre, 1985).

Le méricarpe a une forme oblongue elliptique, convexes sur la face dorsale et aplaties dans les coins, avec cinq nervures primaires filiformes et quatre nervures secondaires, deux ailes latérales étendues, bien développées, large ou plus large que le corps du méricarpe et 2 ailes étroites dans les arêtes dorsales souvent absents (Tutin *et al.*,

1968; Brullo *et al.*, 2003). Les aptères sont largement ailées, ailes légèrement ondulés, jaune doré ou brun-jaunâtre. Voies de sécrétion sont généralement du nombre de six, le nombre de chromosomes n est de 11. Les fleurs sont jaune, sépales légèrement marqués, subulées, persistante en fructification. Pétales entières et lobe fléchie. Leur disposition est en ombelles de l'ordre de deux, avec un long pédoncule, légèrement rainurée, section glabre et circulaire. Le centre contient une ombelle bisexuelle, tandis que les côtés ont indistinctement des fleurs bisexuelles ou masculines. Les ombelles latérales sont généralement plus petits que la centrale, apparaissant au nombre de 1 à 3 (García Martín et Silvestre, 1985).

III.1.2.2. L'espèce *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol.

Les feuilles de cette espèce ont des pétioles hispides ou scabres, des divisions filiformes frisées, divariquées en tous sens. Les ombellules ont des pédicelles plus courts que les fruits. Le méricarpe à ailes larges tronquées au sommet ne dépassant pas le stylopode (Quézel et Santa, 1963).



Figure 11: Photo d'*Elaeoselinum asclepium* dans son habitat
(photo Bouchekrit, 2015).

En particulier, le genre *Distichoselinum* diffère principalement d'*Elaeoselinum* s.s par la présence des feuilles basales distiques et glabres, tandis que le genre *Margotia* diffère principalement d'*Elaeoselinum* en ayant pétales blanc et échancré (Brullo *et al.*, 2003)

L'espèce d'*Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol est nommé aussi *Thapsia asclepium* L. et *Laserpitium asclepium* (L.) Calest. (Garcia Martin et Silvestre, 1985). Elle se divise en deux sous-espèces *E. asclepium* subsp. *millefolium* (Boiss.) Garcia Martin et Silvestre appelé aussi *Elaeoselinum millefolium* Boiss., *Laserpitium millefolium* (Boiss.) Calest. et *Elaeoselinum meoides* sensu Willk. (1893), non (Desf.) Koch ex DC. (1830) (Garcia Martin et Silvestre, 1985) et *E. asclepium* subsp. *asclepium* qui a de même plusieurs nominations: *Elaeoselinum meoides* (Desf.) Koch ex DC. var. *hispanica* Lange, *E. hispanicum* (Lange) Pau., *E. asclepium* (L.) Bertol. var. *hispanicum* (Lange) Font Quer et *E. meoides* auct. hisp. non (Desf.) Koch ex DC. 1830) nec Willk. (1893) (Garcia Martin et Silvestre, 1985).

III.1.3. Systématique et nomenclature

Elaeoselinum asclepium appartient au:

Règne: Végétal

Division: Spermatophyte

Sous-division: Magnoliophyte (Angiosperme)

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Asteridae

Ordre: Apiales

Famille: Apiaceae

Genre: *Elaeoselinum*

Espèce: *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol.

Selon la bibliographie, on a trouvé que l'espèce *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol., se divise en deux sous-espèces qui diffèrent selon les auteurs. Selon Pignatti (1982), *E. asclepium* contient ssp *asclepium* et ssp *meoides* (Desf.) Fiori (syn. *E. meoides* (Desf.) Koch ex DC) (Gutiérrez Bustillo *et al.*, 1986), alors que Garcia Martin et Silvestre (1985) ont proposé les deux sous-espèces ssp *asclepium* et ssp *mellefolium* (Boiss.).

III-1.4. Répartition géographique et noms vernaculaires

Dans le monde, les espèces du genre *Elaeoselinum* sont, presque, toutes méditerranéennes, avec une extension et une diversité plus poussée en Méditerranée occidentale (Péninsule ibérique, Ibiza, Sardaigne, Sicile, le sud de l'Italie, la Grèce et les îles adjacentes, le Maroc, l'Algérie et la Tunisie) (Garcia Martin et Silvestre, 1985).

Dans la péninsule ibérique, le genre est représenté par *E. foetidum* et *E. asclepium* (Garcia Martin et Silvestre, 1984). L'*E. asclepium* ssp. *asclepium* (syn. *E. hispanicum* (Lange) Pau) est distribué dans les régions orientales de l'Espagne, Ibiza, régions du sud de l'Italie, la Sicile, la Grèce et les îles adjacentes, tandis que *E. asclepium* ssp. *meoides* (Desf.) Fiori (syn. *E. meoides* (Desf.) Koch ex DC) se développe dans le sud de l'Italie, la Sardaigne, la Sicile, l'Algérie et le Maroc (Garcia Martin et Silvestre, 1985; Bader *et al.*, 2010).

Selon Quézel et Santa (1963), l'*E. asclepium* (L.) Bertol. est très commun dans les montagnes du Tell algérien et rare à l'intérieur, la sous-espèce *meoides* (Koch) Fiori. est méditerranéenne. L'endémique mauritanienne est *E. fontanesii* Boiss. et elle est la seule espèce non européenne (Garcia Martin et Silvestre, 1985; Gutiérrez Bustillo *et al.*, 1986).

Le nom vernaculaire d'*Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. en Algérie est: «Tafs» ou «Klikha» (Quézel et Santa, 1963), tandis qu'au Maroc, elle s'appelle «Ark Yabou» (Hseini *et al.*, 2007).

- Habitat

Elaeoselinum foetidum (L.) Boiss., Géophytes (plantes herbacées vivaces dont les bourgeons à la période de repos sont enfouis dans le sol), sol sab-arg, matorrals, coteaux secs, terrains sablonneux, broussailles de la plaine et des basses montagnes, endémique du Maroc et de la péninsule ibérique (Tahri *et al.*, 2011).

Elaeoselinum meoides (Desf.) Koch ex DC. (= *Elaeoselinum asclepium* ssp. *meoides* (Desf.) Fiori); Géophytes; sol arg-lim ou arg-sab, parfois squelettique. Forêts claires, pâturages sablonneux et rocailleux de la plaine et des basses et moyennes montagnes, jusqu'à vers 2200 m (Tahri *et al.*, 2011).

Elaeoselinum asclepium subsp. *asclepium* pousse dans le maquis fortement dégradé sur les régosols et pitons calcaires jusqu'à une altitudes de 800m. *Elaeoselinum asclepium* subsp. *mellifolium*, pousse dans la Serranía de Ronda, il occupe des enclaves constituées de roches ultrabasiqes (péridotite et serpentine), même si elle a été recueillie dans la région d'Algésiras (Espagne) sur les pentes pierreuses de grès acides. *Elaeoselinum fontanesii* Boiss. pousse dans les fourrés dégradés et les marges des cultures fréquentes (Garcia Martin et Silvestre, 1985).

III-1.5. Travaux phytochimiques antérieurs sur le genre *Elaeoselinum*

Après une recherche bibliographique poussée, on a arrivé à rassembler quelques travaux antérieurs sur cette plante et qui seront exposés ci-dessous. Les espèces du genre *Elaeoselinum* ont été intensivement étudiées soit du point de vue composition de leurs huiles essentielles (Ortega *et al.*, 1985b; Palá-Paúl *et al.*, 2001) soit du côté de leurs métabolites terpéniques (Grande *et al.*, 1991b; Grande *et al.*, 1993).

III-1.5.1. Métabolites secondaires de quelques espèces du genre *Elaeoselinum*

Les métabolites les plus caractéristiques des Apiaceae sont les coumarines, les terpénoïdes (monoterpénoïdes et sesquiterpénoïdes) et les dérivés aromatiques composants les huiles essentielles, ainsi que les phénylpropanoïdes, polyacétylènes et les flavonoïdes habituellement présents en faible quantités (Villalobos *et al.*, 1994).

Les diterpenoides sont assez rares dans ces plantes, quelques diterpenoides tétracycliques avec des squelettes atisane, beyerane et kaurane ont été signalés dans plusieurs espèces d'*Elaeoselinum*, telles que *Elaeoselinum gummiferum* (Pinar *et al.*, 1978; Rodriguez et Pinar, 1979), *E. foetidum* (Pinar *et al.*, 1983; Villalobos *et al.*, 1994), *E. tenuifolium* (= *Distichoselinum tenuifolium*) (Villalobos *et al.*, 1994) et *E. asclepium* subsp. *asclepium* (Grande *et al.*, 1989; Grande *et al.*, 1991b). A partir d'*E. asclepium* subsp. *millefolium*, certaines dérivées de kaurane ont été aussi isolées (Grande *et al.*, 1993).

III-1.5.1.1. *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. ssp. *asclepium*

Dans le cadre de leurs études sur de nouvelles substances naturelles des plantes indigènes à la communauté valencienne, Est de l'Espagne, Grande *et al.* (1989-1991b) ont examiné les constituants chimiques de l'extrait de benzène des racines d'*Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. ssp. *asclepium*, aussi connue comme *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. var. *hispanicum* (Lange) Font Quer, *E. hispanicum* (Lange) Pau et *E. meoides* (Desf.) Koch ex DC. var. *hispanica* Lange in Willk. and Lange (Garcia Martin et Silvestre, 1985).

Les même auteurs ont réussi à isoler les produits: **5** (acide *ent*-18-angéloyloxykaur-16-ene-19-oïque), **6**, **17** (*ent*-beyer-15-en-19-ol), **18** (acide *ent*-beyer-15-en-19-oïque), **19**, **20** (*ent*-beyer-14 β -tygloyloxy-15-en-19-ol), **21** (acide *ent*-beyer-14 β -tigloyloxy-15-en-19-oïque), **22** (méthyl-*ent*-14 β -tigloyloxybeyer-15-ène-19-oate), **23** (acide *ent*-beyer-14 β -angéloyloxy-15-en-19-oïque), **24** (*ent*-beyer-3- β -acétoxy-14 β -tigloyloxy-15-en-19-al), **25** (*ent*-14 β -angéloyloxybeyer-15-ène-19-al = asclepiol), **28**, **29**, **31**, **34** (acide *ent*-atis-16-en-19-oïque) et **35** de l'espèce *E. asclepium* (L.) Bertol. ssp. *asclepium*.

III-1.5.1.2. *Elaeoselinum asclepium* ssp. *Meoides* (Desf.) Fiori

Grande *et al.* (1989) ont examiné les constituants chimiques de l'extrait de benzène des racines d'*Elaeoselinum asclepium* (L.) ssp. *meoides* (Desf.) Fiori (= *E. meoides* (Desf.) Koch ex D.C. = *E. millefolium* Boiss (Tutin *et al.*, 1968)) récoltées de la communauté valencienne (l'Est de l'Espagne). Les résultats ont délivré la présence de deux nouveaux diterpénoïdes de beyerane qui ont été identifiés comme étant les principaux composants, ces diterpénoïdes sont: *ent*-14 β -tigloyloxybeyer-15-en-19-ol (**6**) (elasclepiol) et l'acide *ent*-14 β -tigloyloxybeyer-15-en-19-oic (**1**) (acide elasclepique).

Rosselli *et al.* (2008) ont étudié la composition chimique de l'extrait acétonique de la partie aérienne de la même espèce (ssp. *meoides*) qui pousse en Sicily (Italie), et ont pu isolé quatre diterpénoïdes: acide elasclepique (**1**) (Villalobos *et al.*, 1994), acide *ent*-atis-16-en-19-oic (**2**), acide *ent*-atis-16-en-19-oic (**3**) (Grande *et al.*, 1993) et l'acide *ent*-kaur-16-en-19-oic (**4**) (Ohno *et al.*, 1979) plus que le nouveau dérivé d'atisane, acide meoidique (**5**).

La cytotoxicité des composés isolés a été étudiée sur les cellules de gliomes C6 chez le rat par l'évaluation de la croissance cellulaire et la viabilité. Les cellules C6 ont été traitées par chaque composé en différentes concentrations pendant 48 heures, après le comptage cellulaire, la méthode de Méthyl Thiazolyl Tetrazolium (MTT) a été effectuée (Denecke *et al.*, 1997). Aucune activité d'inhibition de la croissance cellulaire n'a été observée pour les composés 1, 2, 4 et 5 à une concentration inférieure à 150 μM , tandis que le composé 3 ont présenté une $\text{IC}_{50} = 77 \pm 16$ (le contrôle positif est la digitonine-Calbiochem- avec une IC_{50} inférieur à 1 μM) (Rosselli *et al.*, 2008).

III-1.5.1.3. *Elaeoselinum thapsioides* (Desf.) Maire

Les produits (2S) 5,3'-dihydroxy-4'-méthoxyflavanone-7-O-rutinoside (Fig. 12), (2R) 5,3'-dihydroxy-4'-méthoxyflavanone-7-O-rutinoside (Hespéridine) (Fig. 13) et l'Isorhamnétine-3-O-rutinoside (Fig. 14) ont été isolés de l'extrait n-butanolique des parties aériennes par Djarri (2011).

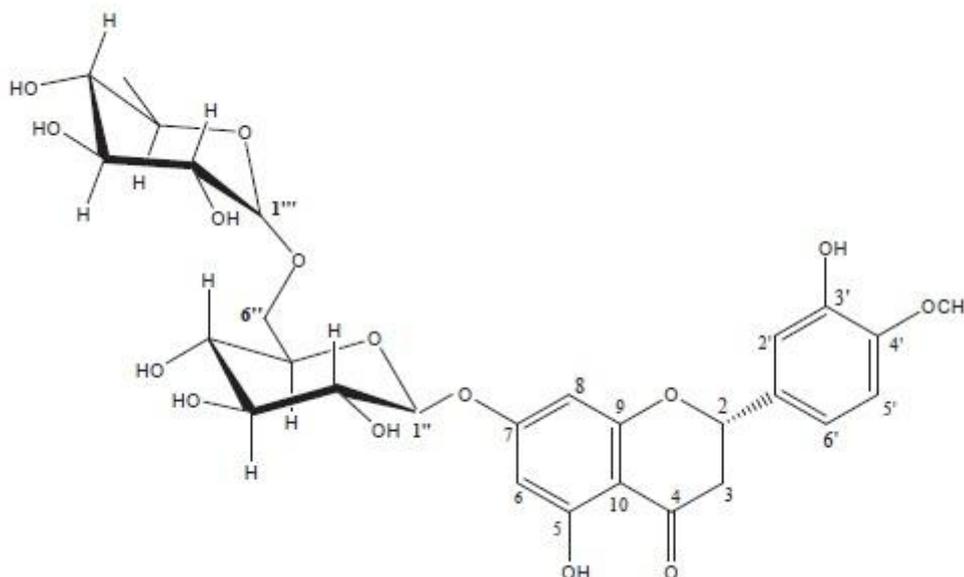


Figure 12: Hespéridine (2S)

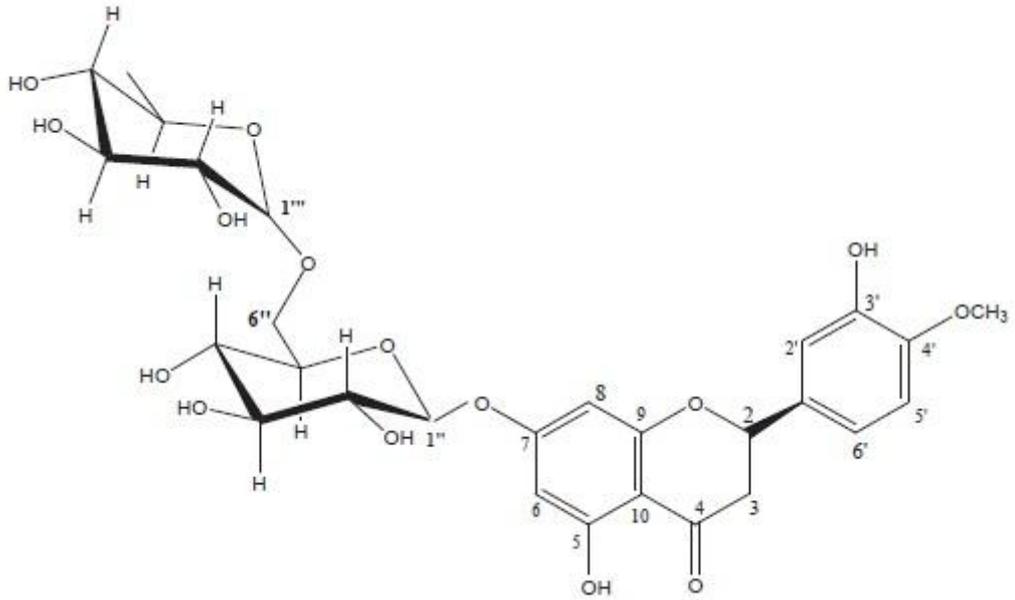


Figure 13: Hesperidine (2R)

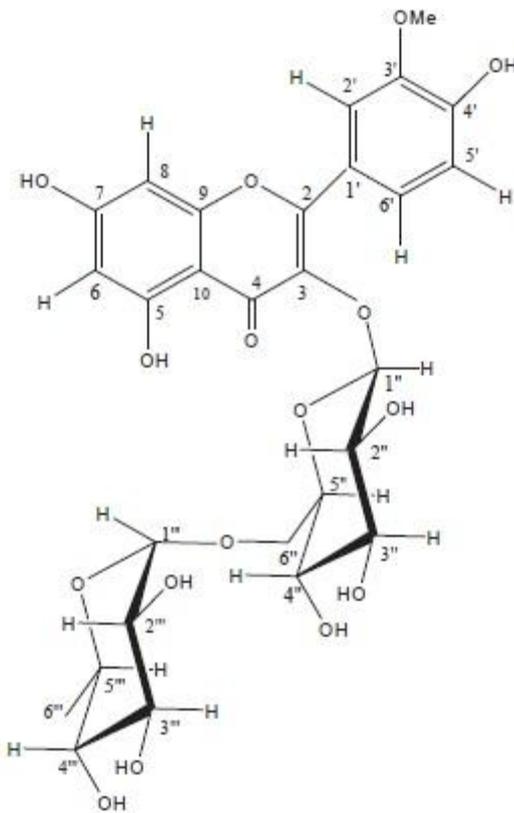


Figure 14: Isorhamnétine-3-O-rutinoside

L'hespéridine est utilisée pour ses propriétés vasculoprotectrice, veinotonique et anti-hémorroïdaire.

III-1.5.1.4. *Elaeoselinum foetidum* (L.) Boiss.

De la partie aérienne de cette espèce, un nouveau diterpénoïde a été isolé: 8,9-seco-ent-17-nor-kaurane, pour lequel Pinar *et al.* (1983) ont proposé le nom foetidine (Fig. 15). Sa structure est methyl-ent-8,9-seco-9,16-diketo-17-nor-kaur-8(15)-en-19-oate et elle a été établie sur la base des données spectroscopiques et par comparaison avec des composés étroitement apparentés.

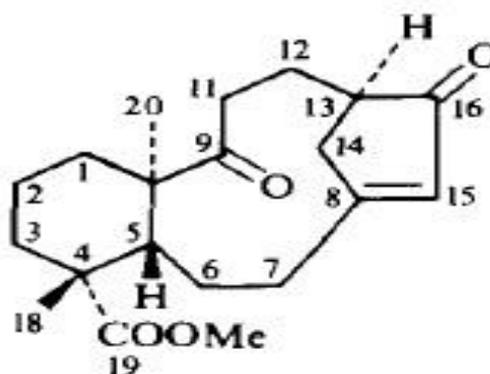


Figure 15: La structure de foetidine (Pinar *et al.*, 1983).
(methyl-ent-8,9-seco-9,16-diketo-17-nor-kaur-8(15)-en-19-oate)

III-1.5.2. Les huiles essentielles de quelques espèces du genre *Elaeoselinum*

III-1.5.2.1. *Elaeoselinum asclepium* ssp. *Meoides*

Bader *et al.* (2010) ont analysé par GC et GC / MS les huiles essentielles des fruits mûres, des racines et des parties aériennes en floraison de la plante *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. ssp. *meoides* (Desf.) Fiori collectée de Sicily (Province de Catane, Italie). Globalement, 46 constituants ont été identifiés, ce qui représente 92,2 à 99,1% des huiles entières. Toutes les parties de la plante ont produit des huiles dominées par les monoterpènes (>92%) dont les monoterpènes hydrocarbonés étaient la classe chimique la plus importante (86.4-98.8%), tandis que les monoterpènes oxygénés ont été moins

représentés, variant de 0% dans les racines à 0,9% dans les fruits mûrs et de 5,8% dans les parties aériennes.

Les produits majoritaires sont l' α -pinène (60,8, 77,1 et 92,2% pour les parties aériennes, les fruits mûrs et les racines, respectivement), suivis par le sabinène (12,8, 11,9 et 0,3%), β -pinène (8,2, 4,3 et 4,0%) et autres classes de monoterpènes et constituants volatils (le *cis*-verbénol, pinocarvone, le *p*-mentha-1,5-dien-8-ol, la verbénone, le *trans*-carvéol, thymol méthyl ether,...) qui sont enregistrées pour la première fois dans le genre.

L'analyse chimique de l'huile essentielle d'*E. asclepium* ssp. *meoides* a révélé la présence de kaurene et l'oxyde *epi*-13-manoyl en très petites quantités. La présence d'oxyde de manoyl dans *E. gummiferum* (Palá-Paúl *et al.*, 2001) confirme l'aptitude de ce genre pour synthétiser diterpènes labdanes.

III-1.5.2.2. *Elaeoselinum asclepium* ssp. *millefolium*

L'étude de la sous-espèce *millefolium* de l'espèce *Elaeoselinum asclepium*, plante endémique du sud de la péninsule ibérique, a permis à Carretero *et al.* (1988) l'isolement de 23 constituants dont 14 ont été identifiés. L' α -pinène (81,4%) et le β -pinène (8,9%) constituent à eux seuls plus de 90% de la composition de l'huile. Bien sûr on remarque aussi la présence du δ -3-carène (0,8%), du sabinène (0,6%), du myrcène et du limonène (0,5%). Il convient de remarquer la très forte concentration en monoterpènes et en particulier en α et β -pinène. Ceci existe également dans l'essence de térébenthine (Akssira *et al.*, 2004) et permet d'expliquer la similitude d'odeur entre les deux produits. Les résultats sont comparables à ceux obtenus dans les huiles essentielles d'*Elaeoselinum gummiferum* (Palá-Paúl *et al.*, 2001), *Elaeoselinum asclepium* ssp. *asclepium* (Ortega *et al.*, 1986) et *Elaeoselinum foetidum* (Ortega et Carretero, 1985).

III-1.5.2.3. *Elaeoselinum asclepium* ssp. *asclepium*

L'huile essentielle d'*Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. ssp. *asclepium* a été étudiée par Ortega *et al.* (1986), dont le matériel végétal est récolté au stade de fructification du côté d'Alicante en Espagne en juin 1984. L'huile est constituée principalement de l' α -pinène (67,02%), du β -pinène (21,4%), du sabinène (5,4%), du myrcène (1,4%), du terpinène-4-ol (0,9%), du limonène (0,5%) et du β - phellandrène (0,5%).

Ces résultats sont très semblables à ceux obtenus pour les huiles essentielles de *Margotia gummifera* (Desf.) Lange (Palá-Paúl *et al.*, 2001) et *Elaeoselinum foetidum* (L.) Boiss. (Ortega et Carretero, 1985)

III-1.5.2.4. *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol.

Selon Evergetis *et al.* (2009), les principaux constituants de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. poussant en Grèce: sont l' α -pinène (27,41%), le β -pinène (5,23%), le β -phellandrène (1,63%) et l' α -Terpinolène (0,71%), ces résultats sont similaires à ceux trouvés pour les huiles essentielles de la plante *Elaeoselinum gummiferum* (Palá-Paúl *et al.*, 2001). L'huile essentielle contient aussi le sabinène (35,34%), le myrcène (5,98%), le germacrène-D (5,09%), le *trans*- β -farnésène (4,79%), le terpinène-4-ol (4,28%), le γ -terpinène (1,1%) et le β -Caryophyllène (0,63%).

Cette huile essentielle a montré une faible activité larvicide contre *Culex pipiens*, vecteur du virus du Nil occidental ($CL_{50} = 96,96$ mg/L) parce qu'elle contient le terpinène-4-ol (4,28%) qui a un effet non toxique ($CL_{50} > 200$ mg/L) (Michaelakis *et al.*, 2008).

III-1.5.2.5. *Elaeoselinum gummiferum* (Desf.) Tutin

Palá-Paúl *et al.* (2001) ont étudié les huiles essentielles de la partie aérienne d'*Elaeoselinum gummiferum* récoltée dans les Monts de Toledo en Espagne et ont identifié 48 composés en utilisant la GC et la GC/MS. Les constituants majoritaires de l'huile étaient l' α -pinène (37,4%), le myrcène (22,8%), le β -pinène (14%), l' α -fenchène (10,4%), le β -phellandrène (7,1%) et l' α -terpénol (2,5%).

III-1.5.2.6. *Elaeoselinum thapsioides* Maire

L'étude de l'espèce *Elaeoselinum thapsioides* Maire, une plante récoltée de la région de Sétif (l'Algérie), a permis à Djarri (2011) l'isolement de près de 96% constituants dont 49,7% correspondent à des monoterpènes (48,3% de monoterpènes hydrocarbonés et 1,4% de monoterpènes oxygénés).

Les principaux composés de cette huile sont 2,3,4-triméthylbenzaldéhyde (36,0 %), de limonène (19,4 %), d' α -pinène (13,6 %), de δ -3-carène (5,0 %), de (Z)- β -ocimène

(3,3 %) et de β -myrcène (3,1 %), accompagné d'autres constituants à des teneurs relativement faibles. Le 2,3,4-triméthylbenzaldéhyde, isolé par des méthodes chromatographiques et identifié en utilisant la RMN à une et à deux dimensions, est le produit majoritaire avec un rendement de 36% et il est identifié pour la première fois dans le genre.

III-1.5.2.7. *Elaeoselinum foetidum* (L.) Boiss.

32 composants ont été isolés de l'huile essentielle des fruits mûrs d'*Elaeoselinum foetidum* (L.) Boiss. récoltés de l'Espagne, dont 22 ont été identifiés (Ortega et Carretero, 1985).

L'huile essentielle est riche en hydrocarbures monoterpéniques. Les constituants majeurs sont l' α pinène (77,3%), le β -pinène (17,3%) qui représentent plus de 94% de la composition entière de l'huile. Les autres constituants sont le myrcène (1,16%), le limonène (1,1%), le sabinène (1%), le β -phellandrène (0,4%), le camphène (0,3%), le β -caryophyllène (0,1%) et en plus faible concentration: le linalol, l' α -phellandrène, le terpinèn-4-ol, le *trans*-ocimène, l'acétate de bornyle, l'isobornéol, le γ -terpinène, le *p*-cimène, le bornéol, l' α -terpinéol, le *cis*-ocimène, le terpinolène, l' α -terpinène et l'*allo*-ocimène.

III-1.5.2.8. *Elaeoselinum fontanesii* Boiss.

Cette espèce collectée de différents endroits du Maroc (Chichaoua, Taliouine et Safi) a été étudiée par Akssira *et al.* (2004). L'analyse chimique de l'huile essentielle au moyen de GC et GC/MS a montré que ses principaux constituants sont les hydrocarbures terpéniques et les monoterpènes oxygénés, alors que les dérivés sesquiterpéniques représentent les constituants minoritaires.

Les produits majoritaires sont l' α -pinène avec des pourcentages allant de 65 à 81%, le sabinène (10,8 à 24,3%), le myrcène (25 à 47,9%), le limonène (7,1 à 32,9%), le terpinèn-4-ol (2,3 à 4%), l' α -terpinène (0,7 à 4,00%) et le γ -terpinène (1 à 2,1%). Ces huiles essentielles ont montré une activité antibactérienne modérée.

III-1.5.2.9. *Elaeoselinum tenuifolium* (Lag.) Lange

Ortega *et al.* (1985) ont analysé les huiles essentielles des fruits mûres d'*Elaeoselinum tenuifolium*, une plante endémique de la péninsule ibérique. L'analyse a permis la séparation de 24 composants, dont 15 ont été identifiés par co-chromatographie avec des standards.

Les hydrocarbures monoterpéniques sont les composés majoritaires et les plus abondants sont: le myrcène (66,2%), le sabinène (17,2%) et le limonène (8,7%). La composition totale s'élève à plus de 90%. D'autres constituants ont été trouvés comme le β -phellandrène, le terpinèn-4-ol, le γ -terpinène, l' α -pinène, le β -pinène, l' α -terpinène, le *p*-cimène, le terpinolène, mais en plus faible quantité.

III-1.6. Utilisation traditionnelle

Dans la région de Zaer, au Maroc, les racines d'*Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol., en décoction ou en poudre, sont utilisées contre les douleurs d'estomac (Lahsissene *et al.*, 2009), alors que la plante entière, pilée avec du clou de girofle et du henné, est utilisée en cataplasme, sur les tempes et le front et contre les céphalées (Bellakhdar, 1997).

D'après Bader *et al.*, (2010), les feuilles d'*E. asclepium* subsp. *meoides* sont utilisées comme des bouchons en vrac pour filtrer le lait, lors de son passage à travers la matière végétale, le lait acquiert un arôme agréable caractéristique.

III-2. Le genre *Margotia* Boiss.

III-2.1. Généralités

Margotia est un genre de la famille des Apiaceae qui contient une seule espèce *Margotia gummifera* (Desf.) Lang. Syn. *Laserpitium* Desf. (Garcia Martin et Silvestre, 1985).

III.2.2. Caractéristiques botaniques de l'espèce *M. gummifera*

Plante vivace à souche épaisse fibrilleuse (Quézel et Santa, 1963).

III.2.2.1. La tige

Rameuse de 60-100 (-120) cm selon les flores, 75 cm en moyenne pour les exemplaires mesurés à Troia (sud de Portugal), mais les variations de taille ont encore plus d'ampleur que sur la fêrle commune. Le diamètre est de l'ordre de 1 cm, mais malgré cette minceur les cannelures sont bien marquées et accentuées par la dessiccation (Fig. 16) (Quézel et Santa, 1963; Amigues, 2004).

M. gummifera a une tige dressée, glabre, cylindrique, légèrement rainurée, ramifiée au sommet en 1 à 5 branches, elle renferme une moelle blanche odorante. La gomme-résine dans la plante entière est imprégnée s'extravase spontanément ou en réaction à un stimulus (piqûre d'insecte parasite) et reste coagulée sur la tige sèche (Fig. 17) (Amigues, 2004). Les Feuilles basales 3 (-4) pinnatiséquées, ovoïde, avec pétiole, les nerfs ont des poils jusqu'à 0,6 mm, rigide et simple rarement glabre. Le nombre de chromosomes n est de 11, $2n = 22$ (Garcia Martin et Silvestre, 1985).



Figure 16: Tige et gaines foliaires sèches

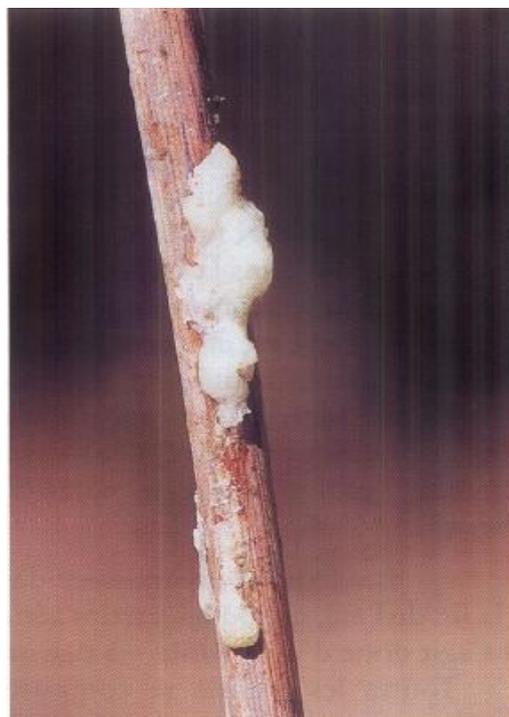


Figure 17: Gomme-résine coagulée

Margotia gummifera (Desf.) Lange (Amigues, 2004).

III.2.2.2. La feuille

Les feuilles apparaissent dès le début d'un nouveau cycle végétatif, à la fin d'été, quand les parties aériennes du cycle précédent sont détruites. Il s'agit donc d'une plante à tige annuelle, comme le *Silphium* (Amigues, 2004).

Toutes les feuilles se composent d'une gaine striée, plus ou moins ample et d'un limbe qui se réduit progressivement entre la base de la tige et l'inflorescence. Les feuilles basales (Fig. 18) sont très grandes (30-60 cm de long sur 16-22 cm de large pour les exemplaires algériens décrits par Desfontaines), 3 pennatiséquées vertes et glabres, à divisions courtes et aiguës (Fig. 19). A noter qu'avant l'entrée en vigueur de la nomenclature binominale, De Tournefort (1719) désignait notre *M. gummifera* par la périphrase «*Thapsia Apii folio, Lusitanica, foetidissima, flore albo*»: Thapsie à feuille de céleri, portugaise, très malodorante, à fleur blanche (Amigues, 2004).



Figure 18: Feuille basale (*exsiccatum*)



Figure 19: Feuille basale (détail)

Margotia gummifera (Desf.) Lange (Amigues, 2004).

III.2.2.3. La racine

La racine de *M. gummifera* est un long et gros pivot vertical ou coudé à l'horizontale, qui peut atteindre 1 m avant de se diviser en deux ou trois racines secondaires. De même, elle a une écorce noire peu adhérente et forme souvent des bourrelets ou des protubérances. Dans sa chair blanche, la grande quantité de gros canaux sécréteurs provoque à la moindre incision l'émission d'un latex incolore d'odeur pénétrante (Garcia Martin et Silvestre, 1985) (Fig. 20). Ce suc limpide, de saveur acre et fortement aromatique, se change au contact de l'air en cristaux d'un blanc pur, sa coagulation rapide permet de le recueillir sans perte (Amigues, 2004).



Figure 20: Racine et suc sur des sections de racine de *Margotia gummifera* (Desf.) Lange (Amigues, 2004)

III.2.2.4. L'inflorescence

La fleur blanche de type ombelle, disposée en ordre de deux, avec un long pédoncule, légèrement rainurée, section glabre et circulaire. Involucre absent ou de 3 à 8 bractées. Involucelles avec plusieurs bractées linéaires lancéolées (5-15). Ombelles à 12-20 rayons allongés. Sépales 0,5-1,2 x 0,4-0,7, subulées persistant dans les fruits. Pétales

échancré et blanc. Le centre contient une ombelle bisexuelle, tandis que les côtés ont indistinctement fleurs bisexuels ou masculins. Les ombelles du côté sont généralement plus petits que le centre, apparaissant au nombre de 5. Fruits de 1 cm de long, méricarpes de (7) 8 à 11.5 (-15) x (5,5) 6-9 (-9,5) mm, avec des ailes latérales 1-1,7 fois plus large que le corps de méricarpe, les ailes dorsales, plus réduit, ont 0,5-2,5 mm de large. Fleurit en Juin-Juillet et de fruits en Août-Septembre (Quézel et Santa, 1963; Garcia Martin et Silvestre, 1985).

III.2.3. Répartition géographique

L'appartenance reconnue de *M. gummifera* à la flore méditerranéenne occidentale pose un problème que Link a lui-même exposé honnêtement: « On peut certes objecter, dit-il dans sa communication, que cette plante pousse en Algérie, ainsi que dans le sud du Portugal, donc probablement pas dans la province de Cyrénaïque, beaucoup plus chaude,... ». Le premier argument a peu de poids: nous venons de voir *M. gummifera* caractérisée comme un végétal xérophile qui recherche un climat très chaud. Sur le second point, à savoir la distribution générale de l'espèce (Amigues, 2004).

Selon Garcia Martin et Silvestre (1985), le genre est réparti principalement dans la péninsule Ibérique, trois en tout pour le Maghreb: Oran et Arzeau en Algérie, la Kroumirie aux environs de Tabarqa en Tunisie. En attendant un inventaire méthodique, qui apparemment reste à faire, nous pouvons ajouter à ces maigres données quelques localisations bien attestées: au Maroc central, forêts de Sibara (Emberger, ci-dessus); en Algérie, où la plante est « assez commune dans le Tell » (Quézel et Santa, 1963.), «Alger, Bouzaréah, Guyotville et Zaccar de Miliana, etc.», forêt de Bâinem au N.-O. d'Alger (plusieurs exemplaires de l'Herbier Dubuis à l'Institut de Botanique de Montpellier), en Tunisie, dunes de Gammart (près de Tunis) où *M. gummifera* existait au début du XX^e siècle (Amigues, 2004).

III.2.4. L'habitat de l'espèce

Malgré l'absence des exigences écologiques strictes chez *M. gummifera*: dans le sud-ouest de la péninsule Ibérique elle peuple les cordons dunaires, et d'autre part s'élève à 700m dans la Sierra, Nord de Seville en Espagne, elle semble préférer les sols détritiques acides (Garcia Martin et Silvestre, 1985; Valdes *et al.*, 1987). En Algérie, elle peuple les

pelouses et les rocailles (Quézel et Santa, 1963), les terrains calcaires et privilège pour les lieux incultes, arides et chauds (Amigues, 2004). Plus explicitement Emberger (1939) a met *M. gummifera* au nombre des espèces qui caractérisent au Maroc des forêts sèches influencées par le voisinage du Tadla: «le climat est très chaud en été, l'humidité atmosphérique réduite. (...). Parmi les végétaux de petite taille figure (...) *M. gummifera* (...). Ces éléments "chauds" ne se trouvent que sur les versants exposés au Midi ou à l'ouest. Sur les versants nord, ils manquent presque complètement et y sont remplacés par des espèces moins xérophiles » (Amigues, 2004).

III.2.5. Noms vernaculaires de *M. gummifera*

Cette espèce est connue depuis l'antiquité (le Moyen âge) car Garcia de Orta (médecin et botaniste portugais, 1501-1568), au début de XVI^e siècle, a parlé d'un produit nommé *Altit* ou *Asa*, en usage dans l'Inde orientale, qui ne peut être que l'*assa-foetida*, le souvenir même du *Silphium africanum* serait à cette époque complètement perdu.

D'après Amigues (2004), l'étude de la question a été reprise en 1992 par Bolens sur l'ensemble des textes arabes et andalous des XI^e-XIII^e siècles où il ressort de ce corpus hétérogène qu'en général la gomme-résine aromatique est appelée *hiltit* et la plante qui la produit *anjudân*, mais l'identité de celle-ci reste indéterminable. Trabut (1935) a donné comme noms vernaculaires nord-africains de *M. gummifera* précisément *Haltit*, *Herltit*, *Hillit* et *Oundjoudan*. On serait tenté d'en déduire la double équivalence de *Hiltit*, en Orient s'appelle *assa-foetida* alors que au Maghreb prend le nom gomme-résine de *M. gummifera*. Une enquête sur les termes désignant *M. gummifera* dans les localités du Maghreb où elle se trouve, ainsi qu'en Espagne et au Portugal, serait peut-être instructive (Amigues, 2004).

III.2.6. Synonymes de l'espèce *M. gummifera*

L'espèce de *Margotia gummifera* (Desf.) Lange est appelée aussi *Laserpitium gummiferum*, *Thapsia gummifera*, *Margotia laserpitioides*, *Elaeoselinum gummiferum* et *Laserpitium thapsiaeforme* (Garcia Martin et Silvestre, 1985).

III.2.7. Systématique et nomenclature

Margotia gummifeta appartient au:

Règne: Végétal

Division: Spermatophyte

Sous-division: Magnoliophyte (Angiosperme)

Classe: Magnoliopsida

Sous-classe: Asteridae

Ordre: Apiales

Famille: Apiaceae

Genre: *Margotia*

Espèce: *Margotia gummifera* (Desf.) Lange

III-2.8. Travaux phytochimiques antérieurs sur *M. gummifera*

III-3.8.1. Les métabolites secondaires de *M. gummifera*

Dans le cadre de la recherche de nouvelles substances naturelles, les racines et la partie aérienne de *M. gummifera* (Desf.) Lange [= *Elaeoselinum gummiferum* (Desf.) Tutin] une ombellifère endémique de la péninsule ibérique, ont été examinées.

L'étude de l'espèce a conduit à isoler les molécules suivantes: un acide gummiférolique (1) (Pinar *et al.*, 1978), de la margotianine (2) (Rodriguez et Pinar, 1979), de l'acide *ent*-kaur-16-en-19-oïque (3) (Pinar *et al.*, 1978) et de l'acide isomargotianoïque (4) (De Pascual Teresa, 1984).

III-3.8.2. L'analyse chimique de l'HE de *M. gummifera*

La bibliographie sur la composition volatile est nettement moins abondante. L'huile essentielle de la partie aérienne de *M. gummifera* récoltée de l'Espagne a été étudiée, pour la première fois, par Palá-Paúl *et al.* (2001) au moyen de la GC et la GC/MS. Les constituants majoritaires de l'huile étaient l' α -pinene (37.4%) et le myrcene (22.8%).

Selon Amigue (2004), plusieurs équipes espagnoles ont déjà identifié les composants chimiques de la plante *M. gummifera* et elles ont publié leurs résultats (Velasco

Negueruela *et al.*, 1992). En particulier, l'huile essentielle des fruits a mis en évidence une forte teneur en pinènes (α -pinène = 47 % et β -pinène = 28,35 %) et la présence de camphre (2,88 %) entre autres composants, qui laissent présumer une action antiseptique notamment sur les voies respiratoires.

En plus des études ci-dessus, l'étude de Valent *et al.* (2013) a montré que les principaux constituants de l'huile essentielle de *M. gummifera* récolté de trois régions de Portugal (Cabo Sardão, Cabo de S. Vicente et Sagres) sont l' α -pinène (11-12.5%), le myrcène (20.4–23.0%) et le sabinène (21.0–23.5 %). Le pourcentage élevé de sabinène (21,0 à 23,5%) distingue les huiles essentielles du Portugal des autres.

III-3.8.3. L'activité scavenger d'ON par l'HE de *M. gummifera* et ses principaux composés

Le pouvoir antioxydant de l'HE et de ses composés purs a été évalué en utilisant le radical libre oxygéné, Oxyde Nitrique (ON). Les résultats ont montré que l'huile essentielle, le myrcène et le sabinène ont présenté une activité de piégeage forte dans toutes les concentrations testées (0,32 à 1,25 μ L/mL), le haut potentiel de balayage de l'huile de *M. gummifera* et ses principaux composés justifie la poursuite de leur exploitation à des fins thérapeutiques dans les maladies associées à des réponses inflammatoires déréglementées. (Valent *et al.*, 2013).

III-3.8.4. La cytotoxicité de l'HE de *M. gummifera* et ses principaux composés

La cytotoxicité de l'huile essentielle et ses composés majoritaires a été évaluée par Valent *et al.* (2013) en utilisant des macrophages de souris, des kératinocytes humains et des cellules épithéliales alvéolaires humaines. En ce qui concerne les macrophages, l'huile essentielle n'a aucun effet sur la viabilité des cellules, tandis que les deux composés majoritaires, le myrcène et le sabinène, ont montré une toxicité à la plus grande concentration testée (1,25 μ L/mL). Pour les kératinocytes et les cellules épithéliales alvéolaires, l'huile n'a pas affecté la viabilité cellulaire à des concentrations inférieures à 1,25 μ L/mL. Des résultats similaires ont été obtenus en utilisant le myrcène et le sabinène, mais ces composés ont été légèrement plus toxiques pour les kératinocytes (toxicité observée à 0,64 μ L/mL). Ces résultats sont très intéressants car ils suggèrent une application saine de ces produits soit par la voie orale ou par inhalation.

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV
Matériel et Méthodes

IV. MATERIEL ET METHODES

IV.1. MATERIEL

IV.1.1. Matériel végétal

Les parties aériennes (tige, feuilles et fleurs) d'*Elaeoselinum asclepium* et *Margotia gummifera* ont été récoltées dans la région de Felfla (Skikda) et Béjaia, respectivement, durant la période de floraison (juin et septembre, respectivement). Elles sont débarrassées des impuretés puis séchées à l'ombre à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, le matériel végétal de chacune des deux espèces est coupé en parties fines (2-5mm).

L'identification a été effectuée au niveau du département d'Ecologie et de Biologie Végétale, Université Ferhat Abbas, Sétif 1 par Pr LAOUER H. Les échantillons de référence sont conservés au niveau du laboratoire de Valorisation des Ressources Naturelles et Biologiques.

IV.1.2. Matériel et réactifs des tests biologiques

Les réactifs et produits utilisés pour l'étude des activités biologiques (antibactérienne et antioxydante) sont reportés en annexe (Annexe 05 et 06).

IV.1.3. Matériel du test de l'activité antimicrobienne

IV.1.3.1. Les souches microbiennes

L'activité antimicrobienne des HE de *M. gummifera* et *E. asclepium* a été évaluée sur 11 souches bactériennes appartenant à l'American Type Culture Collection (ATCC) et une seule souche de l'Institut Pasteur (CIP) (Tab. 02). En ce qui concerne les souches fongiques, l'activité a été testée sur *Candida albicans* ATCC 1024) et deux souches de champignon, *Aspergillus niger* (2CA 936) et *Aspergillus flavus* NRRL 391. Les micro-organismes ont été fournis gracieusement par le laboratoire de microbiologie appliqué de l'Université de Bejaia (Algérie) et le laboratoire de génie enzymatique et microbiologie, INIS, (Tunisie).

Tableau 02: Souches utilisées dans le test antimicrobien.

Souches bactériennes	Gram (Bactéries)	Références
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC25923
<i>Micrococcus luteus</i>	+	ATCC4698
<i>Escherichia coli</i>	-	ATCC25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC27853
<i>Klebsiella pneumonia</i>	-	ATCCE47
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	ATCC19430
<i>Salmonella enterica</i>	-	ATCC43972
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline	+	ATCC43300
<i>Enterococcus faecalis</i>	+	ATCC29212
<i>Bacillus subtilis</i>	+	ATCC 6633
<i>Bacillus cereus</i>	+	ATCC11778
<i>Listeria inocula</i>	+	CIP74915
Souches fongiques		
<i>Candida albicans</i> (levure)		ATCC1024
<i>Aspergillus niger</i>		2CA936
<i>Aspergillus flavus</i>		NRRL391

ATCC: American Type Culture Collection,
 NRRL: Northern Regional Research Laboratory
 CIP: Collection de l'Institut Pasteur

IV.1.3.2. Les milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens diffèrent selon la souche microbienne. Le test antibactérien est réalisé en utilisant le milieu de culture Mueller-Hinton Agar (MHA) et Lauria Bertani (LB), ainsi que la Gélose Nutritive (GN) et le Bouillon Nutritif (BN). Quant au test antifongique, le milieu utilisé est celui de Sabouraud (Annexe 05).

IV.2. METHODES

IV.2.1. Extraction des HE

Le matériel végétal est coupé en parties fines et soumises à l'hydrodistillation en se servant d'un appareil d'extraction type Clevenger (Fig. 21).

L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les HE. L'opération consiste à immerger une quantité de la masse végétale dans un grand ballon en verre (5L) contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans le remplir complètement (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les deux tiers) pour éviter les débordements au cours de l'ébullition. Le mélange est porté à l'ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel végétal, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est évaporée sous l'action de la chaleur pour former un mélange eau/huile essentielle. La vapeur chargée de l'huile essentielle passe à travers le tube vertical, puis à travers le réfrigérant (condensateur) où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli de l'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile surnage à la surface de l'eau distillée. L'huile essentielle obtenue est récupérée à l'aide d'une aiguille d'une seringue. L'hydrodistillation dure 3 heures après le début de l'ébullition. Les huiles essentielles obtenues sont conservées dans des flacons opaques bien scellés à l'abri de la lumière et à une température de 4 à 6 C°.



Figure 21: Appareil utilisé pendant l'hydrodistillation de l'huile essentielle, Clevenger
(photo Bouchekrit)

- Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme AFNOR (Association Française de Normalisation, 1986), le rendement en HE (R_{HE}), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'HE obtenue après extraction (M_{HE}) et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante:

$$R_{HE} \% = (M_{HE}/M) * 100$$

Dont:

R_{HE} : rendement de l'HE en %.

M_{HE} : masse de l'HE obtenue en gramme.

M : masse de la plante en gramme.

IV.2.2 Analyse des HE

IV.2.2.1. Analyse de l'HE d'*E. asclepium*

L'analyse GC/FID a été effectuée à l'aide d'un appareil Perkin Elmer, Clarus 500 gaz chromatograph, équipé d'une colonne capillaire HP 5MS (30 m X 0.25 mm, l'épaisseur de film 0.25 μ m) et d'un détecteur FID. Le gaz vecteur est l'hélium avec un flut de 1 ml/min. La température initiale de la colonne est 60°C. Cette température est augmentée progressivement jusqu'à 280°C avec 3°C/min. La température de l'injecteur et du détecteur ont été programmées à 230°C et 300°C, respectivement.

La GC/MS a été effectuée en utilisant un appareil de type Hewlett Packard 5973 à 6890, mode EI (HP 5MS: 30m x 0.25mm, l'épaisseur de film 0,25 μ m) en utilisant He comme le gaz vecteur avec un débit de 1 ml/min. La température initiale de la colonne était de 60°C et elle est augmentée progressivement jusqu'à 280°C avec une augmentation de 3°C/min. L'identification des composés des HE a été effectuée en comparant leurs spectres de masse (EI) avec les spectres de plusieurs librairies intégrées dans le logiciel Spectra Data. La confirmation de l'identification a été effectuée en comparant leurs indices de rétention obtenu (RI) en utilisant diverses n-alcanes (C_9 - C_{24}), avec ceux de plusieurs librairies intégrés dans le logiciel ESO 2000. En outre, l'identité des produits phytochimiques indiqués a été confirmée par comparaison avec des échantillons authentiques disponibles.

IV.2.2.2. Analyse de l'HE de *M. gummifera*

Les analyses ont été effectuées à l'aide d'un appareil HP 5890 (série II) équipé de deux colonnes capillaires WAX et DB-5 (30m * 0.25mm, l'épaisseur du film = 0.25µm), en utilisant une température varie de 60°C jusqu'à 240°C avec une augmentation de 3°C/min, la température de l'injecteur et le détecteur est de 220°C, le gaz vecteur est l'hélium avec un flux de 2ml/min, double détecteur FID, le rapport de division est de 1:30 (injection de 0.5µl). L'identification des composants a été effectuée, pour les deux colonnes, par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux des échantillons authentiques purs et au moyen de leurs indices de rétention linéaires (Lri) par rapport à la série des n-hydrocarbures.

Les analyses GC-EIMS ont été effectuées avec la chromatographie en phase gazeuse de type Varian CP-3800 équipé d'une colonne capillaire DB-5 (30 m x 0,25 mm, l'épaisseur du film 0,25 µm) et un détecteur de masse (Varian Saturn 2000) pour piéger les ions. En outre, les conditions analytiques: la température de l'injecteurs et de la ligne de transfert est de 220 et 240°C, respectivement; la température du four a été programmée de 60°C à 240°C (3°C/min), le gaz vecteur est l'hélium avec un flux de 1 ml/min; l'injection de 0,2 µl (solution d'hexane à 10%); rapport de division 1:30. Relative.

Par ailleurs, l'identification des constituants a été basée sur la comparaison des spectres de masse des composés des HE et ceux des substances purs enregistrés dans plusieurs bases (NIST 98, etc), ainsi que les MS connus dans la littérature (Massada, 1976; Davies, 1990; Adams, 1995). En outre, les masses moléculaires de toutes les substances identifiées ont été confirmés par GC-CIMS, en utilisant MeOH comme gaz ionisant CI. La confirmation de l'identification est réalisée également par la comparaison des temps de rétention avec ceux des échantillons authentiques, en comparant leurs indices de rétention linéaires.

IV.2.3. Méthodes d'étude des activités biologiques

IV.2.3.1. Détermination de l'activité antimicrobienne des HE *in vitro*

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de la partie aérienne de *M. gummifera* et *E. asclepium* est réalisée d'abord par la méthode du contact direct (méthode des disques et méthode des puits), en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries, ensuite, elle est accomplie par la méthode de contact indirect (micro-atmosphères).

IV.2.3.1. 1. Technique par contact direct

a. La méthode de diffusion sur gélose

L'antibiogramme est une méthode qui sert à déterminer l'effet des antibiotiques sur les bactéries testées, mais lorsqu'on substitue les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par les huiles essentielles, on l'appelle l'aromatogramme.

La méthode d'aromatogramme est la technique choisie pour déterminer l'activité antimicrobienne des HE à tester, elle se base sur le pouvoir migratoire des HE sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antimicrobien des HE sur les bactéries ainsi que sur les champignons, et déterminer leur résistance ou sensibilité vis-à-vis ces HE (Fig. 22).

- Préparation des milieux de culture

La gélose de Mueller Hinton et Sabouraud (Annexe 05) stériles prêtent à l'usage ont été coulées dans des boîtes de Pétri stériles de 90mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 4mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières ont été séchées pendant 30 min à la température du laboratoire et laissées 24h/37°C.

- Préparation des dilutions des HE

Après l'extraction des HE par hydrodistillation, on prépare trois dilutions: 1/2, 1/5, 1/10 (v/v) dans le DMSO (diméthylsulfoxyde). Ce choix a été fait parce que le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, notamment, Gachkar *et al.* (2007) qui ont prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antibactérien.

- Préparation de l'inoculum

Chaque souche bactérienne a été ensemencée en stries sur des boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive (GN) et incubée pendant 18 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies bien isolées. Après les 18 heures et à partir de ces boîtes, on a prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques avec une anse de platine ou pipette Pasteur et les transférer dans un tube contenant 9 ml d'une solution de l'eau physiologique stérile à 0.9% de sel

(NaCl) afin d'avoir une densité cellulaire initiale voisine à celle de 0,5 Mc Farland (10^6 UFC/ml). Cette comparaison est mesurée à l'aide d'un densitomètre.

En ce qui concerne les champignons, dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Sabouraud solide, on a déposé un disque de 6 mm de chaque souche fongique au centre de chaque boîte, et on les a incubé jusqu'à ce que la croissance mycélienne atteigne les bords des boîtes de Pétri et ensuite la sporulation. A partir de ces boîtes, la mise en suspension des champignons a été réalisée dans de l'eau physiologique stérile à 0.9% afin d'obtenir une suspension de spores égale à 10^6 spores/ml mesurée avec la cellule de Malassez. Pour la levure et à partir d'une boîte de Pétri qui contient une culture jeune (48h), une suspension de levure a été préparée et la densité optique a été lue à 625nm en ajustant la valeur entre 0.08 et 0.1. On admet que cette densité mesurée à 625 nm est équivalente à 10^6 spores/ml (Braga *et al.*, 2006).

L'inoculum bactérien ou fongique est ajusté soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

- L'ensemencement et dépôt des disques

Dans les 15 minutes qui suivent l'ajustement de la densité de la suspension bactérienne ou fongique (l'inoculum), on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé toute la surface de la gélose (Mueller Hinton Agar pour les bactéries ou Sabouraud pour les champignons) à trois répétitions en tournant la boîte à chaque fois avec 60° , et enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose. Le but de chaque application est d'avoir une distribution uniforme de l'inoculum.

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de six millimètres de diamètre de papier 3MM stériles (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage) sont déposés sur la gélose précédemment inoculée avec le microorganisme choisi, puis les imbibés par les différentes dilutions des HE (1/2, 1/5 et 1/10; v/v). Chaque disque contient 10 μl d'une seule dilution d'une huile essentielle, d'autres disques imprégnés chacun de 10 μl de DMSO sont utilisés comme témoins négatifs. La gentamicine (GM=10mg) est utilisée comme témoins positifs pour les souches bactériennes, alors que la Nystatine et Dividend ont été utilisés pour les souches fongiques. Le test est effectué en triple et les antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les aromatoigrammes.

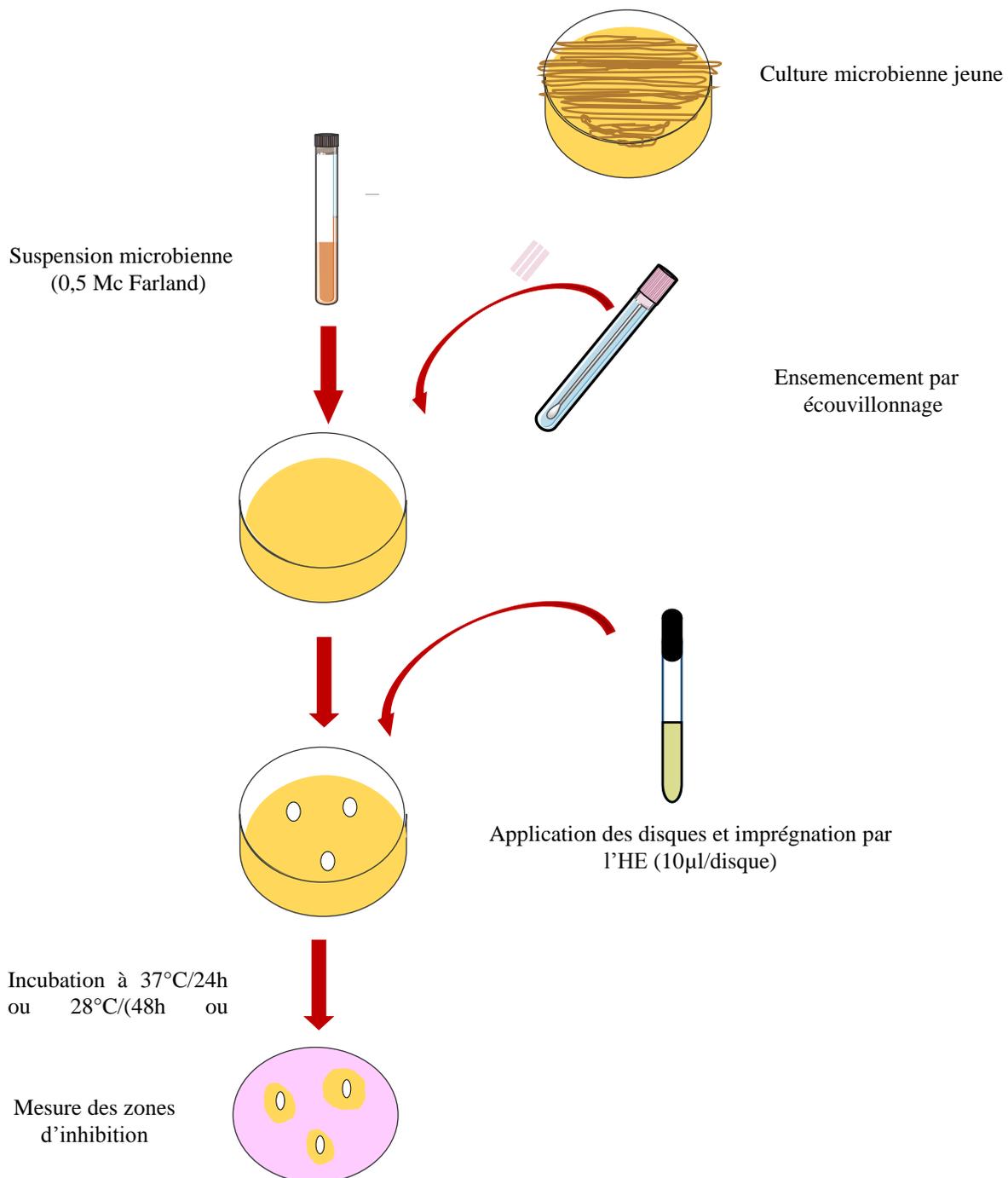


Figure 22: Technique de diffusion sur gélose par disques.

- Incubation et expression des résultats

Les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures pour les bactéries, à 30°C pendant 48 heures pour la levure et de trois à sept jours pour les moisissures.

Après ce délai, l'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour de chaque disque.

Pour savoir si l'effet des huiles est bactéricide ou bactériostatique (pour les bactéries), fongicide ou fongistatique (pour les champignons), un prélèvement à partir de la zone d'inhibition est transféré dans un tube contenant un milieu de culture liquide selon le microorganisme. Le milieu est incubé dans une étuve à une température convenable (37°C et 30°C) puis l'examiné à l'œil nu. Un milieu trouble indique un effet bactériostatique ou fongistatique, alors qu'un milieu clair indique un effet bactéricide ou fongicide de l'HE testée.

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre de disque, 6mm).

b. La méthode des puits

Le principe et l'objectif de cette méthode sont les mêmes que ceux de la méthode citée ci-dessus, la méthode de diffusion sur gélose, le mode opératoire est le même que celui de la précédente mais on substitue les disques par des puits. La méthode utilisée dans ce test est celle de Berghe et Vlietinck (1991) avec quelques modifications.

D'abord, des boîtes de Pétri coulées avec la gélose Lauria Burtani (Annexe 05) ont été ensemencées par inondation en utilisant un volume de 1000µl de la suspension microbienne (10^6 ufc/ml) (l'excès est éliminé à l'aide d'une micropipette). Puis, des puits de 6mm de diamètre et 4mm de profondeur ont été réalisés dans la gélose en utilisant la pipette Pasteur stérile (le côté supérieur). Ensuite, un volume de 60µl de l'HE (100mg/ml) diluée dans le DMSO est déposé dans un puits (une HE pour chaque puits). Des puits contiennent le DMSO et la gentamycine ont été utilisés comme control négatif et positif, respectivement.

Enfin, les boîtes de Pétri sont incubées dans une étuve dont la température et la durée d'incubation varient selon le microorganisme mais avant ça, elles doivent être gardée à une température de 4°C pendant 3 heures afin que le volume soit diffuser dans la gélose.

L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre d'inhibition en millimètre. Le test a été effectué deux fois et les valeurs sont les moyennes de trois répétitions.

IV.2.3.1.2. Technique par contact indirect: micro-atmosphère

Contrairement à la première méthode où on teste par contact direct l'effet de l'HE dans sa globalité, celle-ci sert à étudier l'effet de la phase volatile de l'HE sur les microorganismes sans contact direct entre les deux. Le protocole est techniquement proche de celui de l'aromatogramme.

La méthode consiste à déposer un disque de papier filtre stérile de 9cm de diamètre au fond du couvercle d'une boîte de Pétri, sans que le papier touche la géloseensemencée par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne d'une densité de 0.5 Mc Farland. Ensuite, l'huile est déposée à la surface du papier (une boîte pour chaque huile testée et pour un seul volume), les volumes utilisés sont: 0 (témoin négatif), 10, 20, 40, et 80µl. Enfin, les boîtes sont immédiatement fermées et placées renversées dans une étuve pour l'incubation.

La lecture du test porte donc sur l'absence ou la présence de la croissance de l'inoculum qui se traduit par un halo translucide. Pour savoir si l'huile essentielle possède un effet bactéricide ou bactériostatique, on utilise la même méthode que celle de la technique de contact directe.

IV.2.3.2. Détermination de l'activité antioxydante *in vitro*

IV.2.3.2.1. Test du DPPH

C'est une méthode colorimétrique basée sur la capacité des substances dites antioxydantes à donner un électron au radical synthétique DPPH* (2,2 diphenyl 1 picrylhydrazyl). Cette réduction se traduit par un changement de la couleur violette de la solution éthanolique de DPPH vers une coloration jaunâtre (Fig. 23) (Molyneux, 2004).

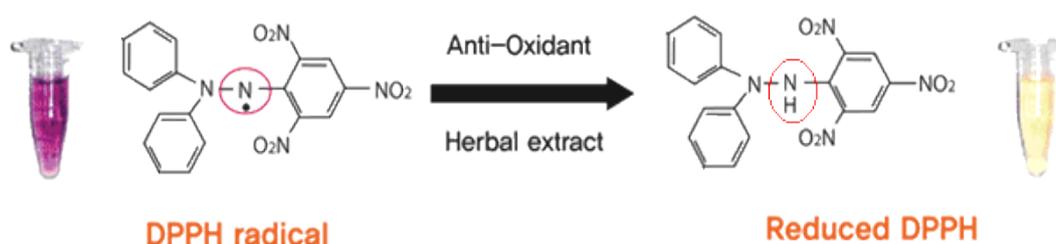


Figure 23: La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH•.

L'évaluation de l'effet scavenger des huiles essentielles envers le radical libre DPPH*(1,1-Di PhenylPicrylHydrazyl) est réalisée selon la méthode décrite par Que *et al.*(2006). Pratiquement, 600 μ l de chacune des solutions méthanolique des HE testées à différentes concentrations sont mélangées avec 600 μ l d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température de laboratoire, l'absorbance est lue à 517nm. Aussi, l'inhibition du radicale libre DPPH par le BHA a été également analysée avec la même concentration pour la comparaison. Enfin, on détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour le BHA et pour les HE. Tous les essais ont été effectués en triple (Fig. 24).

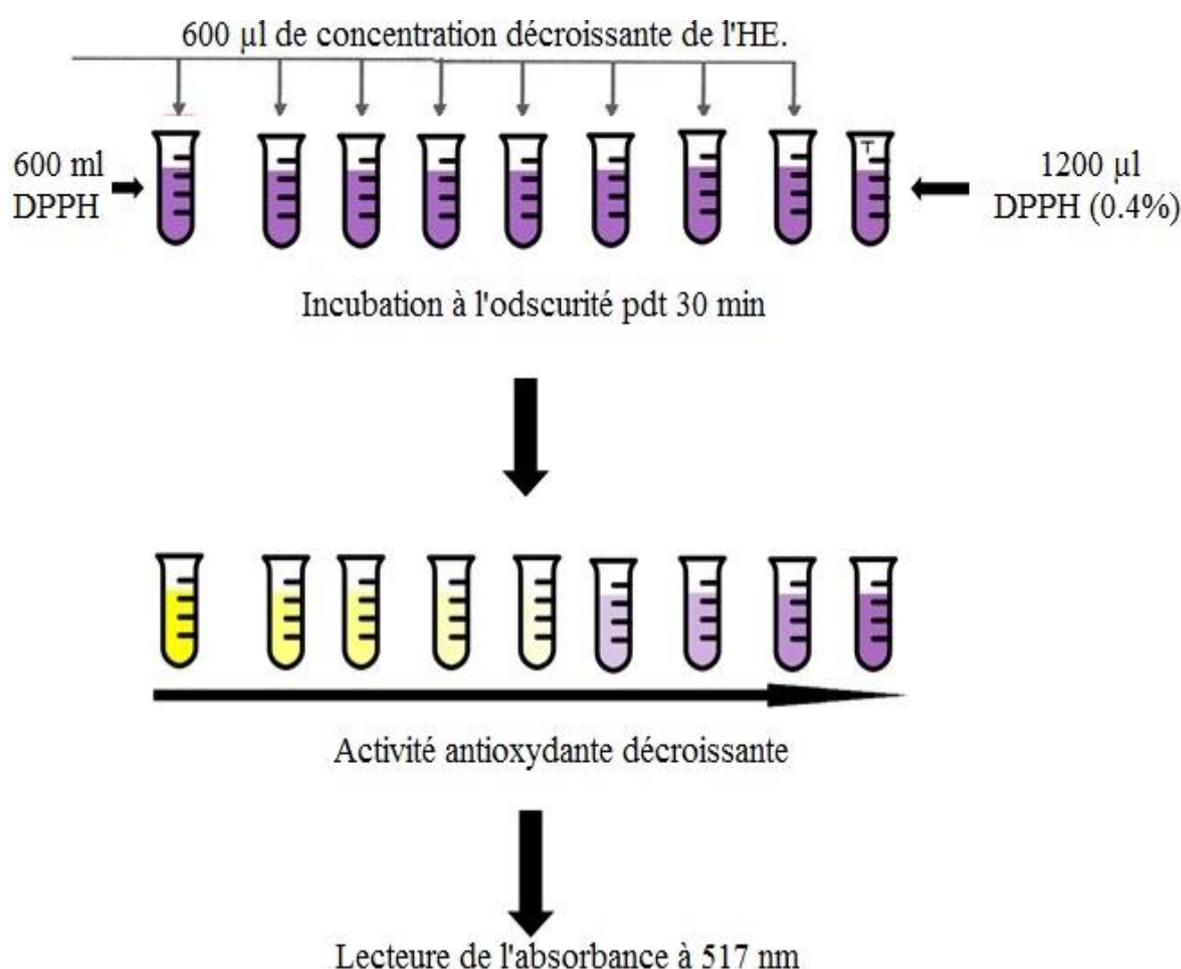


Figure 24: Test de l'activité antiradicalaire, DPPH

Les concentrations en huile essentielle et en BHA, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC_{50} . Ce paramètre est défini

comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50%.

IV.2.3.2.2. Test du FRAP

Le dosage du pouvoir antioxydant en utilisant le test de FRAP (*Ferric Reducing Ability of Plasma*) a été effectué selon la méthode de Benzie et Strain (1996). Ces auteurs ont utilisé cette méthode pour mesurer le pouvoir réducteur dans le plasma, plus tard, l'essai a été adapté et utilisé pour le dosage des antioxydants botaniques. En effet, c'est une technique qui permet de mesurer la réduction des ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). En présence d'un pH bas, température 30°C et un antioxydant comme donneur d'électrons (HE), le complexe ions ferriques-triarydyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) est réduit en ions ferreux-triarydyltriazine (Fe^{2+} -TPTZ) qui développe une couleur bleu intense avec un maximum d'absorption à 593nm (Fig. 25).

Le réactif FRAP a été préparé en mélangeant 10 volumes de 300mM de tampon acétate (pH 3,6), 1 volume de 10mM TPTZ dans 40mM HCl et 1 volume de 20mM FeCl_3 . Ensuite, 200 μl de l'HE diluée (1mg/ml) ont été mis en réaction à 30°C avec 2ml de la solution fraîche de FRAP. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel (complexe de triarydyltriazine ferreux) se fait après 30 min à 593nm contre un blanc semblablement préparé dans les mêmes conditions sans échantillon. La solution de trolox est utilisée comme contrôle positif. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des HE testées (Narasimhan *et al.*, 2013).

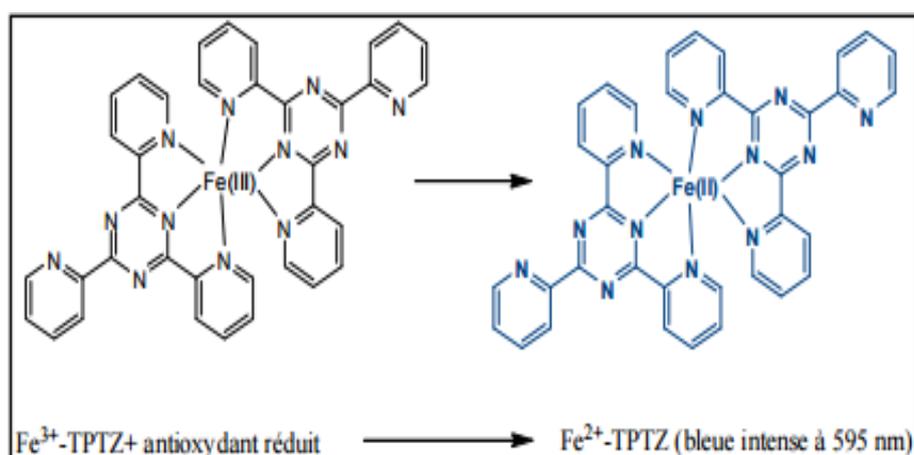


Figure 25: Réaction FRAP entre Fe^{3+} -TPTZ et l'antioxydant (Boutakiout, 2015).

Ce test est rapide et donne des résultats reproductibles pour des solutions biologiques ou pour des solutions pures d'antioxydants. Cependant, il ne peut pas détecter les composés qui agissent par transfert de protons H^+ , le mécanisme des réactions FRAP se base totalement sur un transfert électronique plutôt qu'un mélange de transfert d'électrons et de protons. En combinaison avec d'autres méthodes, il peut être très utile pour distinguer les mécanismes dominants avec différents antioxydants (Prior *et al.*, 2005).

IV.2.3.2.3. Test du blanchiment du β -carotène

La β -carotène est un antioxydant lipophile qui protège les acides gras de l'oxydation, l'ajout d'un deuxième antioxydant va permettre sa préservation (Portes, 2008). Plus l'efficacité d'un antioxydant est grande, plus la décoloration de la couleur du β -carotène sera lente et vice versa (Moon et Shibamoto, 2009).

Dans ce test, la capacité antioxydante des HE est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydatif de la β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par Aslan *et al.* (2006). L'émulsion de β -carotène/acide linoléique est préparée par solubilisation de 0.5mg de β -carotène dans 1ml du chloroforme, 25 μ l de l'acide linoléique et 200mg de Tween 40 sont additionnés, le chloroforme est complètement évaporé au Rotavapeur. Ensuite, 100ml d'eau distillée saturée en oxygène est ajouté, l'émulsion résultante est agitée vigoureusement. 350 μ l de solution d'extraits ou d'antioxydants de référence (BHT) solubilisés dans du méthanol (2mg/ml) sont additionnés à 2.5ml de l'émulsion précédente. La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant (contrôle négatif dans lequel l'échantillon est remplacé par 350 μ l de méthanol) est suivie à 490nm à des intervalles de temps réguliers (1, 2, 3, 4, 6, 24 et 48 heures). Le pourcentage de l'activité antioxydante relative des extraits (AA%) est calculé selon l'équation suivante:

$$AA\% = (Abs_E / Abs_C) * 100$$

Où:

Abs_c : absorbance de control (BHT).

Abs_{HE}: absorbance en présence d'extraits.

IV.2.3.2.4. Test du TAC

La capacité antioxydante totale (TAC) des HE a été évaluée selon la méthode de phosphomolybdène décrite par Prieto *et al.* (1999). Cette technique est basée sur la réduction de

molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence de l'HE pour former un complexe vert de phosphate/ Mo (V) à pH acide.

Un volume de 0.3ml de chaque HE est mélangé avec 3ml de solution du réactif (0.6M acide sulfurique, 28mM phosphate de sodium et 4mM molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695nm contre le blanc qui contient 3ml de la solution du réactif et 0.3ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). Les expériences sont répétées en trois fois.

IV.2.3.2.5. Test du CUPRAC

CUPRAC est une méthode antioxydante simple et polyvalente utile pour une grande variété de polyphénols, y compris les acides phénoliques, les acides hydroxy-cinnamiques, les flavonoïdes, les caroténoïdes, les anthocyanes, les thiols, les antioxydants synthétiques et les vitamines C et E. Cette méthode est nommée par Apak *et al.* en 2004 comme " *CUPric ion Reducing Antioxidant Capacity*", abréviation CUPRAC. En outre, elle ressemble à celle de FRAP dont le cuivre (Cu) est utilisé au lieu de fer (Fe) qui donne en présence du néocuproïne le complexe Cu(II)-Nc (Fig. 26). Elle permet de mesurer la réduction des ions cuivriques Cu(II) en ions cuivreux Cu(I) en présence des extraits à tester (HE). Le réactif de cette méthode est beaucoup plus stable que d'autres radicaux, tels que le DPPH et ABTS. La présence des composés réducteurs dans les HE provoque la réduction de Cu(II) dans le complexe Cu(II)-Nc afin de donner la forme réduite Cu(I)-Nc.

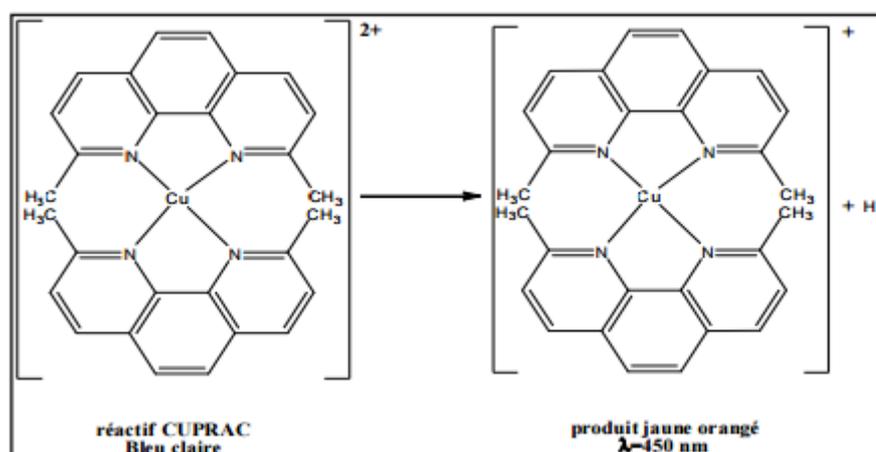


Figure 26: La réaction de test CUPRAC (Ozyurek *et al.*, 2011).

Dans un tube à essai contient 1ml de chaque solution de chlorure de cuivre (10mM), néocuproïne (7.5mM) et tampon d'acétate d'ammonium (1M, pH 7,0) est ajouté à 0.5ml d'échantillon (HE) à différentes concentrations, le volume final est ajusté jusqu'à 4,1ml en ajoutant de l'eau déminéralisée. BHA et BHT sont utilisés comme standard. A un pH = 7, l'absorbance du composé Cu(I) formé en présence d'un antioxydant (HE) est mesurée contre le blanc après 30 min d'incubation à 450nm. La couleur jaune-orange est due au composé Cu(I)-Nc formé. Les essais sont répétés trois fois.

IV.2.4. Analyse statistique

L'étude statistique a été réalisée par le logiciel statistique Graph Pad Prism. Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne \pm SD. La différence entre le contrôle et les différents tests est déterminée par le test de Student et le test d'ANOVA uni varié suivi du test de Newman-Keuls pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de $p \leq 0.05$ sont considérées significatives. Toutes les expériences ont été réalisées en triple.

CHAPITRE V
Résultats et Discussion

V. RESULTATS ET DISCUSSION

V.1. RENDEMENT EN HUILES ESSENTIELLES

Les HE de la partie aérienne des deux plantes étudiées sont liquides, possèdent des caractéristiques hydrophobes et solubles dans le DMSO, l'éthanol et le méthanol. La couleur de l'HE d'*E. asclepium* est jaune foncée, alors que celle de *M. gummifera* est transparente, les deux ont une odeur caractéristique.

L'extraction a été faite plusieurs fois par hydrodistillation en utilisant des conditions opératoires identiques. Dans tous les essais réalisés, il est apparu que la vitesse d'extraction était élevée au bous de la 1^{ère} heure et se diminuait par la suite. De même, on a remarqué que l'HE de *M. gummifera* fait un recyclage dans l'appareil Clevenger et se met de nouveau dans le ballon, ceci nous a obligé de faire un piégeage de l'HE en ajoutant des gouttes d'éther dans la partie verticale de Clevenger avant de commencer l'extraction.

Les rendements sont calculés par rapport au poids sec de la masse végétale des deux espèces utilisées dans l'hydrodistillation selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{poids de l'HE} / \text{poids de la masse végétale}) \times 100$$

L'huile essentielle obtenue a été entreposée à 4-6°C dans un flacon hermétiquement fermé jusqu'à son utilisation. L'extraction de la partie aérienne d'*E. asclepium* a donné un rendement de 1.20%, alors que le rendement en HE de *M. gummifera* était plus élevé que celui d'*E. asclepium* avec une valeur de 1.76%. Ces résultats sont complètement différents à ceux obtenus par d'autres auteurs qui travaillaient sur les HE des différentes espèces du genre *Elaeoselinum* (Tab. 03).

Selon le tableau 03, le rendement de la partie aérienne d'*E. asclepium* obtenu lors de cette étude est relativement supérieur à ceux obtenus de la partie aérienne d'*E. asclepium* (Evergetis *et al.*, 2009), *E. asclepium* subsp. *meoides* (Bader *et al.*, 2010) et *E. thapsioides* (Djarri, 2011) qui ont été de l'ordre de 0.02%, 0.95% et 0.5%, respectivement, par contre il est inférieur à celui obtenu par Palá-Paúl *et al.* (2001) dans leur étude sur *E. gummiferum* (2.66%). La faible valeur du rendement d'extraction des parties aériennes peut être attribuée à la pauvreté des feuilles et des tiges en huiles essentielles (Ortega et Carretero, 1985; Ortega *et al.*, 1985). On note que de meilleurs rendements (3.8-5,00 %) sont obtenus avec les fleurs

et les fruits des autres espèces du même genre (Ortega et Carretero, 1985; Ortega *et al.*, 1985/1986; Carretero *et al.*, 1988; Bader *et al.*, 2010).

Tableau 03: Rendement en huiles essentielles de diverses espèces des genres *Elaeoselinum* et *Margotia*

Espèce	Origine (pays)	Organe utilisé	Rendement (%)	Référence
<i>E. asclepium</i>	Skikda (Algérie)	Partie aérienne	1.20	Présent travail
<i>E. asclepium</i>	Peloponnèse (Grèce)	Partie aérienne	0.02	Evergetis <i>et al.</i> (2009)
<i>E. asclepium</i> (L.) Bertol. subsp. <i>asclepium</i>	Alicante (Espagne)	Fruit	4.66	Ortega <i>et al.</i> (1986)
<i>E. asclepium</i> subsp. <i>mellifolium</i>	Malaga (Espagne)	Fruit	4.25	Carretero <i>et al.</i> (1988)
<i>E. asclepium</i> subsp. <i>meoides</i>	Sicily (Italie)	Fruits mûrs	3.8	Bader <i>et al.</i> (2010)
		Racines	2.2	
		Partie aérienne	0.95	
<i>E. thapsioides</i>	Sétif (Algérie)	Partie aérienne	0.50	Djarri (2011)
<i>E. gummeferum</i> (<i>M. gummifera</i>)	Toledo (Espagne)	Partie aérienne	2.66	Palá-Paúl <i>et al.</i> (2001)
<i>E. foetidum</i>	Péninsule Ibérique	Fruits	5.00	Ortega et Carretero (1985)
		Feuilles	0.58	
		Tiges	0.53	
<i>E. tenuifolium</i>	Péninsule Ibérique	Fruit	4.93	Ortega <i>et al.</i> (1985)
		Fleurs	4.63	
		Feuilles	0.66	
<i>M. gummifera</i>	Béjaia (Algérie)	Partie aérienne	1.76	Présent travail

Valente *et al.* (2013) ont rapporté que l'hydrodistillation des ombelles mûres avec des graines matures de *M. gummifera* récoltées dans 3 régions en Portugal (Cabo Sardão, Cabo de São Vicente et Sagres) avaient un rendement en HE qui varie de 1.3% à 1.8%. Il est très proche du notre (1.76%).

Par rapport aux autres espèces étudiées de la même famille par différents auteurs et dans différents laboratoires, le rendement d'*E. asclepium* est très proche de celui obtenu par Flamini *et al.* (2007) et Mohammed Aslam Albulushi *et al.* (2014) qui est de l'ordre de 1.21% et 1.2096% pour les fruits de *D. gingidium* L. ssp. *gingidium* et *Pimpinella anisum* L.

respectivement, mais inférieur de celui obtenu par Demirci *et al.* (2007) et Khalfallah *et al.* (2011) lors de leurs études sur les fruits de *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy (Osmaniye, Turquie) et la partie aérienne d'*Ammi visnaga* L. (Constantine, Algérie) dont les valeurs étaient 1.5% et 1.3%, respectivement. Toutefois, Il est supérieur au rendement obtenu par: la partie aérienne de *D. reboudii* Coss. et de *Kundmannia sicula* (L.) DC. 0.4% (v/v) (Djarri *et al.*, 2006/2008), *Daucus crinitus* Desf. 0.3% (v/v) (Lanfranchi *et al.*, 2010), la partie aérienne d'*Eryngium tricuspdatum* L. 0.91% (w/w) (Merghach *et al.*, 2014), la partie aérienne de *D. aureus* récolté de 3 stations en Algérie (Sétif, Constantine et Oum Elbouaghi) 0.15%, 0.16% et 0.13%, respectivement (Zaibet *et al.*, 2015) et la partie aérienne de *D. gracilis* 0.56% (v/v) (El Kolli *et al.*, 2016).

Le rendement de la partie aérienne de *M. gummifera* est inférieur à celui obtenu par les ombelles mûres de *Distichoselinum tenuifolium* (= *Elaeoselinum tenuifolium*) qui varie entre 2.0% et 2.6% (Tavares *et al.*, 2010). Il est aussi inférieur à celui obtenu des fruits de *Trachyspermum copticum* (Iran) 2.5% (v/w) (Nickavar *et al.*, 2014) et les graines et les feuilles de l'espèce *D. carota* L. ssp. *carota*. (L.) Thell. 3% et 2.1%, respectivement (Ksouri *et al.*, 2015.). Cependant, il est supérieur au rendement obtenu par d'autres espèces de la famille des Apiaceae comme: les ombelles fleuries de *Distichoselinum tenuifolium* collecté du Portugal 1% (Tavares *et al.*, 2010), les ombelles et les tiges/feuilles de *D. carota* ssp. *carota* (Tlemcen, Algérie) 1.11% et 0.52%, respectivement (Meliani *et al.*, 2012) et la partie aérienne de *Ferulago macedonica* Micevski & E. Mayer ainsi que l'inflorescence (Macédoine) 0.6% et 0.02%, respectivement (Mileski *et al.*, 2015),

D'après les études rapportées par la littérature, le rendement des HE varie en fonction de plusieurs facteurs. En effet, Flamini *et al.* (2013) ont montré que le rendement d'extraction des HE de *D. sahariensis* obtenues par hydrodistillation pendant deux heures d'extraction dans un appareil Clevenger varie en fonction du stade de la croissance (la partie aérienne en 3 stades) comme suit: 0.27% pour le début de la floraison, 0.63% pour une plante en plein floraison et 0.68% pour la période de la fructification. Cependant, Staniszewska *et al.* (2005) dans leur étude sur *D. carota* L. ssp. *carota* ont indiqué que l'organe choisi pour l'extraction influe le rendement. Ces auteurs ont trouvé que la quantité en HE la plus élevée a été obtenue par les ombelles mûres 1.06% (v/w), suivie par celle des ombelles fleuries 0.65% (v/w) alors que le reste de la partie aérienne a donné 0.09% (v/w).

La teneur en HE dépend aussi de la technique d'extraction, le cycle végétatif (la période de la cueillette de la plante) et l'origine de la plante (Fellah *et al.*, 2006). L'auteur et

ses collaborateurs ont étudié le rendement en HE de *Salvia officinalis* L. récolté de deux régions différentes au Maroc et ont obtenu deux rendements différents, 2.55% (v/v) (Djebel Ouest) et 1.80% (w/w) (la Marsa). De même, Chalchat *et al.* (1998) ont signalé, auparavant, l'effet de l'origine de la plante sur la teneur en HE dans une étude effectuée sur la même plante (*Salvia officinalis* L.) récoltée de plusieurs endroits et les résultats étaient: la France (2,05%), la Roumanie (2,30%), la Hongrie (2,50%) et le Portugal (2,90%).

D'après Grosso *et al.* (2009), le stockage fait partie des facteurs qui influent négativement le taux de rendement en HE. Ainsi les fruits stockés et frais de *Tornabenea tenuissima* ont donné un rendement de 0.05% (v/w) et 1.3% (v/w), respectivement. Ces résultats ont confirmé les travaux de Figueiredo *et al.* (2008). Le climat, la composition du sol, le séchage de la plante, l'ensoleillement et le temps d'extraction ont également un effet sur le rendement de l'HE (Masotti *et al.*, 2003; Zheljzkov *et al.*, 2013).

Cependant, Glisic *et al.* (2007b) ont montré l'effet de la technique d'extraction sur la quantité obtenue en HE. L'extraction des fruits de *D. carota* L. *cultivar* par la méthode de carbone supercritique a donné une teneur de 1.17% alors que celle obtenue par hydrodistillation est de 0.69%.

Thiem *et al.* (2011) ont indiqué que la variation en rendement dans les différentes parties de la plante *Eryngium planum* L. est expliquée par le processus de la distribution des HE dans la plante à partir des racines jusqu'aux ombelles pendant la saison végétative (les racines, les feuilles de la tige et l'inflorescence ont donné des rendements de l'ordre de 0.05%, 0.10% et 0.23%, respectivement) (Palá-Paúl *et al.*, 2005). De même, dans le cas de *D. carota* ssp. *carota* collecté de Vienne, le rendement en HE varie de 0.8 à 1.6 % (v/w) pour les fruits, 0.3% (v/w) pour les feuilles et 0.2% pour les racines (Chizzola, 2010). Cette variation peut résulter selon cet auteur du programme d'échantillonnage où les plantes ont été recueillies au cours de la maturation des fruits qui est un processus plus durable (ombelles avec des fruits complètement développés). A la fin de la fructification de la plante sénescence les feuilles et les racines deviennent sèches et leur teneur en huile diminue.

Plusieurs études ont trouvé que le rendement atteint sa valeur maximale dans les fleurs et les fruits (la maturation) et cette quantité peut être attribuée selon Rahman *et al.* (1999) au grand nombre de glandes sécrétrices dans le calice.

V. 2. ETUDES PHYTOCHIMIQUE DES HE

L'analyse de l'huile essentielle d'*E. asclepium* a été réalisée dans le laboratoire de Chimie (Université d'Agriculture d'Athènes, Grèce), alors que celle de l'HE de *M. gummifera* a été faite dans le laboratoire de Chimie Bio-Organique et Biopharmaceutique à l'université de Pisa, Italie.

V. 2.1. Etude de l'HE d'*Elaeoselinum asclepium*

La composition de l'huile est consignée dans le tableau 04. Les composés sont classés par ordre de leur indice de rétention. L'analyse par la chromatographie couplée à la spectrophotométrie de masse (GC-MS) de l'huile essentielle d'*Elaeoselinum asclepium* nous a permis d'isoler et d'identifier 40 composés (Tab. 04) qui représentent 99.7% de la composition totale de l'huile essentielle.

D'après les résultats cités dans le tableau 04, il semble que l'huile essentielle est dominée par les monoterpènes qui représentent plus de 87.8% sur le totale de l'HE. Les principaux composés monoterpéniques sont l' α -pinène (43.9%), le sabinene (27.9%) et le β -pinène (16.0%) mais ça n'empêche pas de trouver d'autres constituants avec des concentrations moins importantes: limonène + phellandrene (2.0%), α -thujene (0.9%) et 3-carene (0.7%). Il est à signaler également la présence des composés sesquiterpéniques (α -selinene et (E)- β -caryophyllene) et les composés aromatiques (*p*-cymen-7-ol et *p*-cymen-8-ol) avec une faible concentration.

Les trois constituants majoritaires cités précédemment représentent à eux seuls 87.8% de l'huile, l' α -pinene (43.9%) étant le produit majoritaire. Ce dernier avec le sabinene ont été trouvés dans toutes les HE des espèces du genre *Elaeoselinum* étudiées auparavant, cependant le β -pinene (16.0%) est absent dans la HE d'*E. fontanesii* (Akssira *et al.*, 2004) (Tab. 05).

L' α -pinène (43.9%) est le composé majoritaire des sous-espèces *E. asclepium* ssp. *asclepium* (67,0%) (Ortega *et al.*, 1986) d'Espagne, *E. asclepium* ssp. *millefolium* (81,4%) (Carretero *et al.*, 1988) et *E. asclepium* subsp. *meoides* (92.2%-60.8%) de l'Italie (Bader *et al.*, 2010), ainsi que les espèces *E. foetidum* (77,3%) originaire de la Péninsule Ibérique (Ortega et Carretero, 1985), *E. gummiferum* (37,4%) d'Espagne (Palá-Paúl *et al.*, 2001) et *E. fontanesii* (α + β -pinène, 60%) récoltée en Maroc (Akssira *et al.*, 2004). Cependant, il est

peu présent dans l'espèce *E. asclepium* (27.4%) de la Grèce (Evergetis *et al.*, 2009) et presque absent dans l'huile essentielle de l'espèce *E. tenuifolium* (0,6%) (Ortega *et al.*, 1985) (Tab. 05).

Tableau 04: Composition chimique de l'huile essentielle d'*Elaeoselinum asclepium*

N	Composants	Tr ^{min}	RI ^{Exp}	RI ^{Lit}	%
1	Hydrocrbon C ₈ H ₁₆	3.668	710	-	0.5
2	Dimethyl hexane C ₈ H ₁₈	3.797	760	-	0.3
3	<i>Cis</i> -1,4-Dimethylcyclohexane	3.864	780	782	0.1
4	<i>Trans</i> -1,3-dimethylcyclohexane	3.976	790	790	0.1
5	<i>Cis</i> -1,2-dimethylcyclohexane	4.520	842	828	Trac*
6	α -Thujene	6.918	923	928	0.9
7	α -pinene	7.260	933	936	43.9
8	Camphene	7.702	948	953	0.3
9	β -pinene	8.565	971	978	16.0
10	Sabinene	8.785	976	976	27.9
11	Myrcene	9.105	986	991	0.7
12	α -Phyllandrene	9.731	1003	1005	0.1
13	3-Carene	9.839	1006	1010	0.7
14	α -Terpinene	10.146	1013	1018	0.2
15	<i>p</i> -Cymene	10.451	1020	1020	0.6
16	Limonene	10.718	1028	1031	2.0
17	(<i>Z</i>)-ocimene	11.310	1040	1040	Trac
18	(<i>E</i>)-ocimene	11.830	1053	1050	0.3
19	<i>Cis</i> -sabinene hydrate	12.291	1065	1068	Trac
20	Isoterpinolene	12.970	1081	1086	Trac
21	<i>Trans</i> -sabinenehydrate	13.601	1097	1096	Trac
22	<i>Cis</i> -pinenehydrate	14.64	1120	1122	Trac
23	α -Camphelenal	14.740	1122	1125	0.1
24	Hydrocarbon C ₁₀ H ₁₄	15.356	1136	-	0.6
25	<i>Cis</i> -sabinol	15.601	1141	1140	0.5
26	<i>Trans</i> -pinenehydrate	15.780	1145	1142	Trac
27	Pinocarvone	16.299	1158	1162	0.4
28	4-terpineol	17.165	1177	1177	1.4
29	<i>p</i> -cymen-8-ol	17.397	1182	1182	0.2
30	Myrtenal	17.783	1191	1193	0.8
31	Verbenone	18.281	1202	1204	Trac
32	Pulegol	18.842	1214	1213	Trac
33	<i>p</i> -cymen-7-ol	22.044	1287	1287	0.3
34	Longicyclene or α -ylangene	25.64	1371	1372	Trac
35	Daucene	26.170	1383	1380	Trac
36	(<i>E</i>)- β -caryophyllene	27.441	1413	1418	Trac
37	(<i>Z</i>)- β -farnesene	28.900	1449	1443	Trac
38	γ -himachalene	29.976	1475	1476	0.3
39	α -selinene	30.049	1488	1494	0.4
40	Sesquiterpenoid C ₁₅ H ₂₆ O	37.911	1682	-	0.2
	Totale				99.7

*: moins de 0.1% de la composition totale identifiée.

Le sabinène (27.9%) est le composé majoritaire de l'huile essentielle d'*E. asclepium* en provenance de la Grèce (35,5%) (Evergetis *et al.*, 2009). On le trouve en quantité importante (24, 17,2 et 12.8%) dans les espèces *E. fontanesii* (Akssira *et al.*, 2004) et *E. tenuifolium* (Ortega *et al.*, 1985) ainsi que dans la sous-espèce *E. asclepium* subsp. *meoides* (Bader *et al.*, 2010), respectivement et ne se révèle qu'en faible quantité dans les autres (Tab. 05).

Le β -pinène (16.0%) présente un pourcentage un peu plus élevé dans l'huile d'*E. asclepium* ssp. *asclepium* (21,4 %) (Ortega *et al.*, 1986) et faible dans celle d'*E. thapsioides* (0.4%) (Djarri, 2011) et *E. tenuifolium* (0,5 %) (Ortega *et al.*, 1985). En revanche, il est en quantité appréciable dans les autres (de 4% à 17%) dont sa valeur dans l'HE d'*E. asclepium* ssp. *millefolium* (8.9%) (Carretero *et al.*, 1988) est très proche de celle d'*E. asclepium* subsp. *meoides* (8.2%) (Bader *et al.*, 2010) (Tab. 05).

Le myrcène (0.7%) est le constituant majoritaire de l'HE d'*E. tenuifolium* du Péninsule Ibérique (Ortega *et al.*, 1985) (66,2%) et *Distichoselinum tenuifolium* (= *Elaeoselinum tenuifolium*) du Portugal (84-47.7%) (Tavares *et al.*, 2010), il a également un taux important dans les huiles des espèces *E. fontanesii* (48%) (Akssira *et al.*, 2004) et *E. gummiferum* (22,8%) (Palá-Paúl *et al.*, 2001) mais plus faible dans l'HE d'*E. thapsioides* (6.0%) (Djarri, 2011). Selon Tavares *et al.* (2010), le taux élevé de myrcène dans l'HE de *Distichoselinum tenuifolium* confirme sa séparation du genre *Elaeoselinum* (Tab. 05).

Limonene (2.0%) sont présents dans la majorité des HE du genre *Elaeoselinum* étudiées avec quelques exceptions. En effet, le taux de limonène est élevé dans l'espèce *E. fontanesii* (33%) du Maroc (Akssira *et al.*, 2004) et *E. thapsioides* (19.4%) de Sétif (Algérie) (Djarri, 2011), peu présent dans l'HE d'*E. tenuifolium* (8,7%) d'Espagne (Ortega *et al.*, 1985) et faible dans celle d'*E. foetidum* (1,1%) de la Péninsule Ibérique (Ortega et Carretero, 1985), par contre il est absent dans les HE d'*E. asclepium* récoltée de la Grèce (Evergetis *et al.*, 2009) et l'*E. gummiferum* de l'Espagne (Palá-Paúl *et al.*, 2001) (Tab. 05).

Selon la littérature, la caractérisation de l'huile essentielle de la partie aérienne d'*E. asclepium* a fait l'objet d'un seul travail effectué par Evergetis *et al.* (2009). L'étude menée par ces auteurs sur l'huile essentielle de cette plante récoltée de la Grèce, a prouvé l'existence de plusieurs composés qui sont absents dans notre *E. asclepium* (Tab. 05).

Tableau 05: Les principaux composants des huiles essentielles de différentes espèces d'*Elaeoselinum*.

N	Produits	%									
		<i>E. asclepium</i>	<i>E. asclepium</i>	<i>E. asclepium</i> subsp. <i>Meoides</i>	<i>E. asclepium</i> ssp. <i>millefolium</i>	<i>E. asclepium</i> ssp. <i>asclepium</i>	<i>E. thapsioides</i>	<i>E. foetidum</i>	<i>E. tenuifolium</i>	<i>E. fontanesii</i>	<i>E. gummiferum</i>
		Références									
		le présent travail	Evergetis <i>et al.</i> (2009)	Bader <i>et al.</i> (2010)	Carretero <i>et al.</i> (1988)	Ortega <i>et al.</i> (1986)	Djarri (2011)	Ortega et Carretero (1985)	Ortega <i>et al.</i> (1985)	Akssira <i>et al.</i> (2004)	Palá-Paül <i>et al.</i> (2001)
1	α -Thujene	0.9	0.5	0.2/tr/0.6	-	-	0.1	-	-	-	0.5
2	α -pinene	43.9	27.4	77.1/92.2/60.8	81.4	67.02	13.6	77.3	0.6	28.8/60*	37.4
3	α -Fenchène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10.4
4	Camphene	0.3	0.2	0.3/0.3/0.4	0.2	0.4	0.3	0.3	-	-	0.3
5	β -pinene	16.0	5.2	4.3/4.0/8.2	8.9	21.4	0.4	17.3	0.5	-	14.0
6	Sabinene	27.9	35.3	11.9/0.3/12.8	0.6	5.4	0.3	1.0	17.2	10.8/20	0.4
7	Myrcene	0.7	6.0	1.4/1.4/0.9	0.5	1.4	3.1	1.2	66.2	25/2.5	22.8
8	Mesitylène	-	-	-	-	-	0.8	-	-	-	-
9	α -Phyllandrène	0.1	0.1	Tr/-/tr	-	Tr	0.1	-	-	-	0.2
10	3-Carene	0.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	α -Terpinene	0.2	0.5	Tr/-/0.3	0.1	0.2	-	-	0.3	tr/0.5	0.4
12	<i>p</i> -Cymene	0.6	0.1	0.2/tr/0.2	0.2	0.1	1.2	-	0.1	-	-
13	Limonène	2.0	-	0.6/0.6/0.8	0.5	0.5	19.4	1.1	8.7	32.9/9	-
14	β -Phellandrène	-	1.6	1.2/tr/0.3	0.1	0.5	-	0.4	1.6	-	7.1
15	δ -3-Carène	-	-	0.3/tr/0.3	0.8	-	5.0	-	-	-	-
16	(<i>Z</i>)- β -Ocimène	-	0.2	-	-	-	3.3	-	-	-	-
17	(<i>E</i>)- β -Ocimène	-	-	-	-	-	2.0	-	-	-	-
18	γ -Terpinène	-	1.1	0.2/tr/0.5	-	0.4	0.2	-	0.7	tr/1	0.6
19	α -Terpinolène	-	0.7	-	-	0.1	0.4	-	0.1	-	0.7
20	Isomenthone	-	-	-	0.5	-	-	-	-	-	-
21	Linalool L	-	0.1	-	-	-	0.1	-	-	-	0.2
22	<i>trans</i> -Sabinène hydrate	-	0.5	Tr/-/0.5	-	-	-	-	-	-	-
23	Terpinen-4-ol	1.4	4.3	Tr/-/0.9	-	0.9	-	-	1.3	0.37/2.3	0.7
24	<i>allo</i> -Ocimène	-	-	-	-	Tr	0.1	-	-	-	-
25	<i>para</i> -Cymen-8-ol	0.2	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-
26	<i>p</i> -Ethylbenzaldéhyde	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-
27	α -Terpinéol	-	-	-	-	0.2	0.1	-	-	-	2.5
28	Thymyl méthyl éther	-	-	Tr/-/-	-	-	0.1	-	-	-	-
29	α -Fenchyl acétate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1
30	Acétate de chrysanthenyle IC	-	-	-	-	-	1.1	-	-	-	-
31	Acétate de bornyle	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	0.1
32	2,3,6-Triméthylbenzaldéhyde	-	-	-	-	-	1.1	-	-	-	-
33	2,3,4-Triméthylbenzaldéhyde	-	-	-	-	-	36.0	-	-	-	-
34	α -Copaène	-	0.1	Tr/0.2/tr	-	-	0.4	-	-	-	-
35	β -Caryophyllène	-	0.6	Tr/tr/-	-	-	0.8	0.1	-	-	-

36	α -Humulène	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-
37	β -Sélinène	-	-	-	-	-	1.6	-	-	-	-
38	α -Sélinène	0.4	-	-	-	-	1.8	-	-	-	-
39	<i>trans</i> - β -Farnésène	-	4.8	-	-	-	-	-	-	-	-
40	Germacrène-D	-	5.1	Tr/-/-	-	-	-	-	-	-	-
41	Bicyclogermacrène	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-
42	δ -Cadinène	-	0.1	Tr/tr/-	-	-	0.3	-	-	-	-
43	α -Cadinène	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1
44	Germacrène-B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1
45	Oxyde de caryophyllèn	-	-	-	-	-	0.4	-	-	-	0.2
46	T-Muurolol	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-
47	C ₁₅ H ₂₄ O	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-
48	Palmitate d'éthyle	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-
49	Linoléate de méthyle	-	-	-	-	-	0.2	-	-	-	-
50	Phytol..	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-
51	Linoléate d'éthyle	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-
52	Linoléate d'éthyle	-	-	-	-	-	0.3	-	-	-	-
Totale		99.7	95.1	98.8/99.1/92.2	93.8	98.5	96.1	98.7	97.3	-	98.8

* β + α -pinène; Tr: Trace

La comparaison de nos résultats avec ceux obtenus par Evergetis *et al.* (2009) nous amènent à constater que la composition chimique de notre huile essentielle diffère à celle de la Grèce qualitativement et quantitativement. Ces auteurs ont révélé la présence de certains composés qui ne sont pas identifiés dans notre échantillon, à savoir: germacrène-D et *trans*- β -farnésène avec une quantité importante de 5.1% et 4.8%, respectivement ainsi que d'autres produits qui sont minoritaires (bicyclogermacrène 0.3%, α -humulène 0.1% et (*Z*)- β -ocimène 0.2).

Plus que tous les composés cités au-dessus, d'autres sont signalés pour la première fois dans le genre *Elaeoselinum* et existent uniquement dans l'HE d'*E. asclepium* récolté de la région de Skikda (Algérie), par exemple: myrtenal (0.8%), hydrocarbon C₁₀H₁₄ (0.6%), *Cis*-sabinol (0.5%), pinocarvone (0.4%), γ -himachalene (0.3%), *p*-cymen-7-ol (0.3), sesquiterpenoid C₁₅H₂₆O (0.2%) et α -caphelénal (0.1%) ainsi que d'autres produits minoritaires (Tab. 05).

La comparaison des différents résultats de l'analyse chimique des dix espèces étudiées jusqu'à présent a révélé que le 3-carene (0.7%) ne se trouve que dans l'HE de notre plante, l' α -sélinène et le *para*-Cymen-8-ol caractérisent les HE d'*E. thapsioides* (1.8% et 0.2%) (Djarri, 2011) et *E. asclepium* qui provient de Skikda (0.4% et 0.2%), respectivement. L'isomenthone (0.5%) n'est présent que dans l'espèce *E. asclepium* ssp. *millefolium* poussant en Espagne (0,5%) (Carretero *et al.*, 1988), de même pour les composés: l' α -fenchène (10.4%), l' α -fenchyl acétate (0.1%), l' α -cadinène (0.1%) et le germacrène-B

(0.1%) qui ne sont identifiés que par l'analyse chimique de l'espèce *E. gummiferum* (Palá-Paúl *et al.*, 2001). Le 2,3,4-triméthylbenzaldéhyde (36 %) est identifié comme le constituant majoritaire de l'HE d'*E. thapsioides* (Djarri, 2011), il est absent dans toutes les espèces étudiées du genre *Elaeoselinum* sans oublier les autres constituants minoritaires qui en existent (Tab. 05).

V.2.2. Etude de l'HE de *Margotia gummifera*

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *M. gummifera* par chromatographie en phase gazeuse a permis d'identifier 30 composés cités dans le tableau 06 par ordre d'élution. 96.8% des constituants représentant la somme des pourcentages des composants obtenus ont été identifiés, dont 88.9% sont des monoterpènes hydrocarbonés et 7.6% sont des monoterpènes oxygénés. Par contre, les sesquiterpènes (sesquiterpènes hydrocarbonés) sont présents en faibles teneurs, représenté par γ -muurolen (0.3%). Il semble que cette huile est très riche en monoterpènes (96.5%) avec prédominance de l' α -pinène (34.0%) et le β -pinène (41.6%). Plus que l' α + β -pinène, d'autres monoterpènes, en quantités appréciables, sont également identifiés lors de l'analyse chimique: γ -terpinene (3.6%), myrcene (3.5%), *p*-cymene (2.8%), myrtenol (2.3%), limonene (1.6%) et *trans*-verbenol (1.3%). Les autres monoterpènes identifiés sont présents en teneurs plus faibles, soit: pinocarvone (0.6%), *p*-mentha-1,5-dien-8-ol (0.6%), sabinène (0.5%), α -terpineol (0.4%), camphène (0,3%), δ -3-carene (0.3%), 4-terpineol (0.3%), thuja-2,4(10)-diene (0,2%), terpinolène (0,2%), α -phellandrene (0.1%)...etc.

Selon la littérature, l'huile essentielle de *M. gummifera* a fait l'objet de deux études, la première a été effectuée par Palá-Paúl *et al.* (2001) et la deuxième par Valente *et al.* (2013) (Tab. 06). La comparaison de nos résultats avec ceux obtenus par ces auteurs, nous amènent à constater qu'elle existe une grande ressemblance qualitative entre les HE de différents endroits où les monoterpènes représentent 96.5% dans l'HE de *M. gummifera* provient de Skikda, de 95.8 à 89.2% pour celle provient de Portugal (Valente *et al.*, 2013) et plus que 93% pour l'HE d'Espagne (Palá-Paúl *et al.*, 2001). Les sesquiterpènes sont faibles dans les trois HE alors que les phenylpropanoïdes et les dérivés non-terpéniques sont complètement absents.

Tableau 06: Composition chimique en pourcentage des huiles essentielles de *Margotia gummifera*

N	Produits	%				
		<i>M. gummifera</i> (Le présent travail)	<i>M. gummifera</i> (= <i>E. gummiferum</i>) (Palá-Paúl <i>et al.</i> , 2001)	<i>M. gummifera</i> (Valente <i>et al.</i> , 2013)		
		Algérie	Espagne	Cabo Sardão	Cabo de S. Vicente	Sagres
Portugal						
1	α -thujene	0.2	0.5	0.5	0.4	3
2	α -pinene	34.0	37.4	12.0	12.5	11.0
3	α -Fenchène	-	10.4	-	-	-
4	Camphene	0.3	0.3	0.3	0.3	0.1
5	Thuja-2,4(10)-diene	0.2	-	-	-	-
6	Sabinene	0.5	0.4	22.5	21.0	23.5
7	β -pinene	41.6	14.0	8.1	7.5	6.2
8	Myrcene	3.5	22.8^b	20.4	21.0	23.0
9	α -phellandrene	0.1	0.2	0.5	0.3	0.5
10	δ -3-carene	0.3	-	-	-	-
11	Δ -3-Carene	-	-	2.1	0.6	0.6
12	α -Terpinene	-	0.4	1.4	1.8	1.0
13	<i>p</i> -cymene	2.8	-	1.3	1.3	1.0
14	Limonene	1.6	-	8.8	8.0	7.5
15	β -Phellandrene	-	7.1	2.6	2.8	2.9
16	<i>trans</i> - β -Ocimene	-	-	0.3	0.2	0.1
17	γ -terpinene	3.6	0.6	5.6	5.5	5.0
18	<i>trans</i> -Sabinene hydrate	-	-	0.4	0.4	0.1
19	Cymenene	-	-	0.1	0.2	0.1
20	Terpinolene	0.2	0.7 ^c	0.6	1.8	2.2
21	6-camphenone	0.1	-	-	-	-
22	6,7-epoxymyrcene	0.1	-	-	-	-
23	Perillene	0.1	-	-	-	-
24	α -campholenal	0.6	-	-	-	-
25	<i>cis</i> -verbenol	0.2	-	-	-	-
26	<i>Trans</i> -verbenol	1.3	-	-	-	-
27	<i>Trans</i> -pinocamphone	0.1	-	-	-	-
28	Pinocarvone	0.6	-	-	-	-
29	<i>p</i> -mentha-1,5-dien-8-ol	0.6	-	-	-	-
30	4-terpineol	0.3	0.7	3.4	3.6	3.0
31	<i>cis</i> -pinocarveol	0.2	-	-	-	-
32	α -terpineol	0.4	2.5	0.3	0.3	0.1
33	Myrtenol	2.3	-	-	-	-
34	Verbenone	0.3	-	-	-	-
35	<i>Trans</i> -carveol	0.3	-	-	-	-
36	Perilla alcohol	0.1	-	-	-	-
37	γ -muurolene	0.3	-	-	-	-
38	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	-	-	0.6	0.5	0.3
39	Linalool	-	0.2 ^a	0.6	0.5	0.1
40	<i>E-p</i> -2-Menthen-1-ol	-	-	0.1	0.1	0.2
41	Borneol	-	-	Trac	Trac	0.1
42	Thymyl methyl oxide	-	-	0.1	0.1	0.1
43	α -fenchyl acétate	-	0.1	-	-	-
44	Geraniol	-	-	Trac	0.1	Trac
45	Linalyl acetate	-	-	Trac	0.1	Trac

46	Bornyl acetate	-	0.1	0.1	0.2	0.1
47	α -Copaene	-	-	0.3	0.4	0.1
48	E- β -Caryophyllene	-	-	0.2	0.1	0.1
49	α -Humulene	-	-	Trac	0.1	0.1
50	Germacrene D	-	-	1.0	0.9	1.1
51	γ -Cadinene	-	-	0.1	0.2	0.1
52	δ -Cadinene	-	0.1	Trac	Trac	0.1
53	Germacrene B	-	0.1	0.4	0.5	0.1
54	Caryophyllene oxide	-	0.2	Trac	Trac	0.2
55	Viridiflorol	-	-	Trac	Trac	0.1
56	α -Cadinol	-	-	0.3	0.6	0.8
	Monoterpènes hydrocarbonés	88.9	+93	88.1	85.2	85.0
	Monoterpènes oxygénés	7.6	-	5.7/95.8	5.9/91.1	4.2/89.2
	Sesquiterpènes hydrocarbonés	0.3	-	2.1	2.3	1.7
	Oxygenated sesquiterpenes	0.0	-	0.4	0.8	1.1
	Phenylpropanoids	0.0	-	-	-	-
	Non-terpene derivatives	0.0	-	-	-	-
	Total	96.8	98.8	96.3	94.2	92.0

a : Linalol L., b : β -Myrcene, c : α -Terpinolene.

Valente *et al.* (2013) et Palá-Paúl *et al.* (2001) ont arrivé à identifier des composés entièrement absents dans notre HE, à savoir: caryophyllene oxide, germacrene B, δ -cadinene, bornyl acetate, β -phellandrene, α -terpinene ... etc (Tab. 06). Aussi, notre analyse a révélé la présence des composés qui n'ont pas été mentionnés précédemment: δ -3-carene (0.3%), thuja-2,4(10)-diene (0.2%), 6,7-epoxymyrcene (0.1%), 6-camphenone (0.1%), perillene (0.1%), α -campholenal (0.6%), *cis*-verbenol (0.2%), *trans*-verbenol (1.3%), *trans*-pinocamphone (0.1%), pinocarvone (0.6%), *p*-mentha-1,5-dien-8-ol (0.6%), myrtenol (0.3%), perilla alcohol (0.1%), verbenone (0.3%) et *trans*-carveol (0.3%).

Le β -pinène (41.6 %) fait partie des composés majoritaires de l'HE de la plante récoltée en Espagne (Palá-Paúl *et al.*, 2001) mais avec une concentration presque trois fois moins que celle de notre plante (14.6%). En revanche, il est plus faible dans les HE des plantes récoltées du Portugal (de 8.1 à 6.2%) (Valente *et al.*, 2013) (Tab. 06).

L' α -pinène (34.0%) est le constituant majoritaire de l'huile essentielle de l'espèce *M. gummifera* (*E. gummiferum*) (Palá-Paúl *et al.*, 2001), il a une concentration très proche de l'HE de notre plante, 37.4%. On le trouve en quantité assez importante dans les huiles de Portugal (de 11.0 à 12.5%) (Valente *et al.*, 2013) (Tab. 06).

Le myrcène (3.5%) est le composé majoritaire de l'espèce collectée en Portugal avec une concentration de 20.4% pour l'HE de Cabo Sardão, 221.0% et 23.0% pour celle de Cabo de S. Vicente et Sagres, respectivement (Valente *et al.*, 2013). Aussi, il est très important dans l'HE d'*E. gummiferum*, 23.0% (Palá-Paúl *et al.*, 2001) (Tab. 06).

Le limonène (1.6%), fait partie des composés majoritaires de l'HE de *M. gummifera* récolté de 3 régions en Portugal avec des pourcentages très proches: 8.8% (Cabo Sardão), 8.0% (Cabo de S. Vicente) et 7.5% (Sagres) (Valent *et al.*, 2013), alors qu'il est absent dans celle de *M. gummifera* qui provient de l'Espagne (Tab. 06).

Le sabinene (0.5%) est le composé majoritaire de l'huile essentielle de *M. gummifera* en provenance de Cabo Sardão, Cabo de S. Vicente et Sagres avec les taux de 22.5%, 21.0% et 23.5%, respectivement (Valent *et al.*, 2013). Cependant, l'analyse d'*E. gummiferum* a donné une faible quantité, 0.4% (Palá-Paúl *et al.*, 2001) (Tab. 06).

Outre le genre *Margotia*, l' α -pinène et β -pinène sont signalés comme étant les composés majoritaires dans d'autres genres de la famille des Apiaceae. Ainsi l' α -pinène est le composé majoritaire dans l'HE extraite de la partie aérienne et les fleurs de l'espèce *Ferulago macedonica* Micevski & E. Mayer provient de Macedonia (République de Macédoine) avec un pourcentage de 22.78% et 43.10%, respectivement (Mileski *et al.*, 2015). Il a, aussi, un taux élevé dans l'HE de la partie aérienne de *Daucus reboudii* Coss récoltée d'El Kala (Etaréf, Algérie), 39.7% (Djarri *et al.*, 2006). De même, Kula *et al.* (2006) ont indiqué la présence d'un taux qui varie entre 40 et 46% dans l'huile obtenue des ombelles en pleines floraisons de *Daucus carota* ssp. *sativus* récoltée de la Pologne. En ce qui concerne le β -pinène, l'analyse chimique de l'huile des fruits mûrs d'*Astrodaucus persicus* originaire d'Iran effectuée par Goodarzi *et al.* (2016) a donné une teneur plus élevée que celui de notre HE, 56.9%, alors que les HE des feuilles de *Foeniculum vulgare* Mill. provient de Maroc (El Ouariachi *et al.*, 2014) et *Rhanterium adpressum* Coss. & Durieu provient de l'Algérie (Hamia *et al.*, 2013) ont donné une quantité faible de β -pinène de l'ordre de 17.8% et 4.5%, respectivement.

D'après cette étude, il semble qu'il existe une différence entre les huiles essentielles des deux espèces étudiées, *E. asclepium* et *M. gummifera*. La différence principale se voit dans le pourcentage de sabinene et de β -pinène où le taux de sabinene est de l'ordre de 0.5% dans l'HE de *M. gummifera* et 27.9% dans celle d'*E. asclepium*, quant au β -pinène il représente un pourcentage de 41.6% et 16.0% dans l'HE de *M. gummifera* et *E. asclepium*, respectivement. De même, il y a une différence dans la qualité des produits minoritaires qui composent chaque huile où on trouve presque 17 composés dans l'HE de *M. gummifera* ne se trouvent pas dans l'HE d'*E. asclepium* et 27 constituants de l'HE d'*E. asclepium* s'absentent dans l'analyse de l'HE de *M. gummifera*.

La composition chimique des huiles essentielles est influencée par plusieurs facteurs de variabilité, facteurs externes et internes à la plante. Elle peut être variée suivant l'origine géographique, les conditions de croissance (climatique), l'organe utilisé, le stade de croissance, la saison et le temps de la récolte, l'état de la plante (sèche ou fraîche), les particularités génétiques, ... etc (Masotti *et al.*, 2003; Hashemabadi *et al.*, 2010; Ben Marzoug *et al.*, 2011; Mileski *et al.* 2014). La nature du sol et les rayons solaires exercent une influence directe sur l'activation ou l'inactivation de certains groupes enzymatiques, conduisant à la prédominance d'une voie particulière de la biosynthèse (Belaiche, 1979). Aussi, la qualité de l'HE varie selon le régime des vents, notamment chez les espèces qui possèdent des structures histologique de stockage superficielle (ex.: poils sécréteurs des Lamiaceae), la localisation (plus profonde) plus que la qualité qui est beaucoup plus constante (Bruneton, 1999; Gyorgyi *et al.*, 2006). Selon l'étude de Nissinen *et al.* (2005), la composition d'huiles essentielles dans les plantes peut être influencée par une attaque nuisible. Dans le cas du psylle de carotte (*Trioza apicalis*) qui se nourrit sur les feuilles de la carotte cultivée, une augmentation de sabinene, β -pinène et de limonène dans l'huile peut être observée.

Dans l'étude courante, les HE des deux espèces ont été traitées dans les mêmes conditions et ont donné des résultats différents que ceux obtenus par les travaux précédents, telles variations qualitatives et quantitatives peuvent être attribuées aux facteurs climatiques, géographiques et même génétiques. Donc ces résultats confirment la séparation de *M. gummifera* (*E. gummiferum*) du genre *Elaeoselinum* qui est basée sur des caractères taxonomiques.

V.3. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE

V.3.1. L'activité antibactérienne

V.3.1.1. La méthode de contact direct: aromatoqrmmme

L'effet antibactérien a été évalué en appliquant deux types d'antibiogramme de diffusion: l'un par la méthode des disques et l'autre par la méthode des puits. La sensibilité des souches testées est estimée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition des HE étudiées. Ces dériniers sont nettement inférieurs à ceux obtenus par l'antibiotique standard

(la gentamicine) et ils varient selon l'HE, la concentration de l'HE et la souche bactérienne utilisée (Tab. 08). D'après la classification de Moreira *et al.* (2005), la souche bactérienne est considérée comme non sensible (-) pour le diamètre d'inhibition inférieur ou égale à 8mm, sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm, très sensible (++) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm (Tab. 07).

En suivant cette classification, on peut dire que toutes les souches bactériennes testées par la méthode des disques sont sensibles à l'huile d'*E. asclepium*, quant à celle de *M. gummifera*, elle a donné une activité modérée contre les souches bactériennes *E. coli*, *S. aureus* résistant à la pénicilline et *S. typhimurium* et inactive contre les autres souches (Tab. 07). En ce qui concerne la méthode des puits, l'huile d'*E. asclepium* et *M. gummifera* sont modérément actives contre 36.36% et 18.18% des bactéries testées, respectivement (Tab. 08).

Tableau 07: La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les HE d'*E. asclepium* et de *M. gummifera* à la concentration 50% (méthode des disques)

Souches bactériennes	Sensibilité des HE	
	<i>E. asclepium</i>	<i>M. gummifera</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	+	-
<i>S. aureus</i> résistant à la pénicilline ATCC 43300	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	+	-
<i>Listeria innocua</i> CIP 74915	+	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	+	-
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 19430	+	+

V.3.1.1.1. Méthode des disques

A la lumière des résultats obtenus (Tab. 08), l'huile essentielle d'*E. asclepium* a présenté une bonne activité sur l'ensemble des souches testées (7/12 à la dilution 1/2). Quant à l'huile essentielle de *M. gummifera*, son activité reste faible (3/12 à la dilution 1/2). On note également que les HE ont présenté une activité antibactérienne hautement significative ($p < 0,001$) vis-à-vis les bactéries testées en engendrant des diamètres d'inhibition plus faible que ceux obtenus par le standard.

Tableau 08: Diamètre d'inhibition des HE d'*E. asclepium* et de *M. gummifera* en mm.

Souches bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition * (mm)					
	Méthode des disques				Méthode des puits	
	1/10	1/5	1/2	T ⁺	1/10	T ⁺
<i>E. asclepium</i>						
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	8	9	11	25	12.0	29
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	NT	NT	NT	NT	-	30
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8	10	13	27	8.0	25
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	NT	NT	NT	NT	10.0	24
S.A.R.M. ATCC 43300	7	8±0.5	10.5±0.5	32	8.0	27
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	9	10	12	25	8.0	35
<i>Listeria inocula</i> CIP 74915	8.5±0.5	9	9	23	-	26
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	-	9	11	33	NT	NT
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	NT	NT	NT	NT	10.0	30
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 43972	NT	NT	NT	NT	8.0	13
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 19430	7	8.5	10	34	-	35
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC E47	NT	NT	NT	NT	9.0	16
<i>M. gummifera</i>						
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7±1	8	9	25	-	29
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Nt	Nt	Nt	Nt	-	30
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	27	9	25
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 4698	Nt	Nt	Nt	Nt	-	24
S.A.R.M. ATCC 43300	-	9.5±0.5	12±0.5	32	-	27
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	25	9	35
<i>Listeria inocula</i> CIP 74915	-	-	8	23	-	26
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	-	-	-	33	NT	NT
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	Nt	Nt	Nt	Nt	-	30
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 43972	Nt	Nt	Nt	Nt	8	13
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 19430	8.5±0.5	9.5±0.5	10.5±0.5	34	-	35
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC E47	Nt	Nt	Nt	Nt	-	16

- : Pas de zone d'inhibition. T⁺: Gentamycine.

(*) Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'ajout de 10 µL de l'HE (ou des puits par l'ajout de 60µl).

Diamètre du disque ou puits est inclus (6mm), les valeurs représentent la moyenne de 3 mesures ± SD.

NT : non testé

Le genre *Staphylococcus* a été représenté dans cette étude par deux espèces *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ATCC 43300 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. En effet, *S. aureus* était sensible à l'HE d'*E. asclepium* et a donné le même diamètre que celui obtenu par El Kooli *et al.* (2016) vis-à-vis l'HE de *C. montanum* (13mm)

et proche de celui réalisé par l'HE des fruits de *Foeniculum vulgare* var. *azoricum* (14mm) (Shahat *et al.*, 2011), ces résultats sont loin d'être comparés avec ceux obtenus par l'HE de la partie aérienne d'*Anthemis pedunculata* (45mm), *Anthemis punctata* (30 mm) (Laouer *et al.*, 2013) et *D. aureus* récolté de sétif (26mm) à la même dilution (1/2) (Zaibat *et al.*, 2015). Aussi, les racines de *Daucus muricatus* L. et les feuilles de *Chaerophyllum villosum* ont été extrêmement actives (22mm et 21mm à la concentration de 20µl/disque et 10µl/disque, respectivement) (Bendiabdellah *et al.*, 2012; Joshi, 2013). Cependant, un effet faible a été observé avec l'HE de la partie aérienne de *Ferulago angulata* et *D. aureus* collectée de Constantine (7 et 8mm, respectivement) (Shahbazi *et al.*, 2015; Zaidat *et al.*, 2015). En ce qui concerne l'HE de *M. gummifera*, *S. aureus* a été complètement résistante.

La sensibilité de l'espèce *S. aureus* résistant à la pénicilline a été signalée auparavant par Tefiani *et al.* (2015) dans leur étude à l'huile d'*Ammoides pusilla* (11.67±1.53, 3µl/disque) et a été confirmée par notre étude vis-à-vis les deux HE étudiées (10.5 à 12mm, 1/2).

Ainsi, l'huile essentielle d'*E. asclepium* et *M. gummifera* agissent de façon active sur les souches, Gram (-), *E. coli* (11 et 9mm, respectivement) et *S. typhimurium* (10 mm). Des résultats similaires ont été obtenus par l'HE des graines de *Foeniculum vulgare* (Stefanini *et al.*, 2003), l'HE des fruits de *Foeniculum vulgare* var. *dulce* (Shahat *et al.*, 2011) et l'HE de la partie aérienne d'*A. pedunculata* et *A. punctata* (Laouer *et al.*, 2014) à des concentrations différentes vis-à-vis *E. coli* (9mm, 9mm et 11mm, respectivement). La sensibilité d'*E. coli* aux HE des graines de *Cuminum cyminum* (18mm) et des feuilles de *Diplotaenia damavandica* (17mm) a été dévoilée par Stefanini *et al.* (2003) et Fereshteh *et al.* (2005). Aussi, sa résistance a été mise en évidence par plusieurs études (Fereshteh *et al.*, 2005; Askari *et al.*, 2009; Bendiabdellah *et al.*, 2012;). Quant à *S. typhimurium*, Shahbazi *et al.* (2015) ont révélé la très faible sensibilité de cette souche à l'égard de l'HE de *Ferulago angulata* (7mm).

Concernant le *P. aeruginosa*, bien que cette bactérie soit connue par sa résistance à n'importe quel genre d'agents antimicrobiens, l'HE d'*E. asclepium* a exercé un effet antibactérien de 12mm contrairement à l'HE de *M. gummifera* qui était inactive. En effet, Fereshteh *et al.* (2005) dans leur étude sur l'HE des graines, les feuilles et les racines de *Diplotaenia damavandica* ont montré l'insensibilité de *P. aeruginosa* (20µl/disque). De même, Laouer et ces collaborateurs ont prouvé l'inactivité de l'HE de la partie aérienne de plusieurs espèces végétales et à la même dilution (1/2) vis-à-vis cette espèce: l'HE *Carum*

montanum (Coss. et Dur.) Benth. et Hook (Laouer *et al.*, 2009), l'HE de *Daucus setifolius* collectée de Bejaia (Laouer *et al.*, 2013) et l'HE d'*A. pedunculata* et *A. punctata* (Laouer *et al.*, 2014).

Toutefois, *P. aeruginosa* semble être extrêmement sensible à l'activité de l'huile de *Filipendula hexapetala* (33mm) (Radulović *et al.*, 2007) et très sensible à l'huile de *Prunus africanus* où elle a donné un diamètre d'inhibition de l'ordre de 19 mm (Gangoué-Piéboji *et al.*, 2009). Ainsi, d'autres auteurs ont signalé sa faible sensibilité qui varie de 9 à 12mm à l'encontre de l'HE de: *Cuminum cyminum* (Stefanini *et al.*, 2003), *Foeniculum vulgare* (Shahat *et al.*, 2011), *Daucus muricatus* L. (Bendiabdellah *et al.*, 2012) et *Daucus gracilis* (El Kolli, 2016).

Egalement, on a étudié le pouvoir antibactérien des HE contre *B. subtilis* et on a constaté qu'elle est sensible à l'huile d'*E. asclepium* selon la classification de Moreira *et al.* (2005) avec un diamètre de 11mm, par contre elle est complètement résistante à l'huile de *M. gummifera*. De même, l'huile de *Diplotaenia damavandica* (graines, feuilles et racines) a été active contre *B. subtilis* et a donné des diamètres d'inhibitions de 18 à 20mm (20µl/disque) (Fereshteh *et al.*, 2005). Le pouvoir antibactérien exercé par l'huile de *Chaerophyllum villosum* était plus petit (14mm) mais à la concentration de 10µl/disque (Joshi, 2013). Des résultats similaires ont été observés à la même concentration par l'huile des fruits de Fenouil (13 à 15mm, diamètre de disque = 6.3mm) (Shahat *et al.*, 2011). Par contre cette souche, Gram (+), a montré une résistance à l'huile de la partie aérienne de *Pimpinella puberula* (DC.) Boiss. (20µl/disque) (Askari *et al.*, 2009), de *Daucus setifolius* (1/2) (Laouer *et al.*, 2013) et de *D. gracilis* (1/2) (El Kolli, 2016).

V.3.1.1.2. Méthode des puits

Selon la littérature il y a peu de chercheurs qui ont utilisé la méthode des puits pour tester le pouvoir antibactérien des HE ou des extraits des plantes médicinales et spécialement les plantes de la famille des Apiaceae. En effet, l'huile d'*E. asclepium* et de *M. gummifera* ont été testées contre des bactéries à Gram (+) et autres à Gram (-), les résultats mentionnés ci-dessus (Tab. 08) montrent que l'HE d'*E. asclepium* avait une activité antibactérienne plus élevée que celle de l'huile de *M. gummifera* sur la majorité des bactéries testées.

La zone d'inhibition la plus élevée a été obtenue par l'huile d'*E. asclepium* sur *Escherichia coli* ATCC 25922 (12mm), *Micrococcus luteus* ATCC 4698 (10mm), *Bacillus*

cereus ATCC 11778 (10mm) et *Klebsiella pneumonia* ATCC E47 (9mm) à la dilution 1/10, cependant l'huile de *M. gummifera* s'est avérée inactive. D'ailleurs, certains auteurs ont signalé la sensibilité d'*E. coli* et *K. pneumonia* aux HE telles que: l'huile des racines de *Ferula gummosa* L. (16.5 ± 0.8 et 12.5 ± 0.2 mm, respectivement) (Mazandarani *et al.*, 2015) et à l'huile de la partie aérienne de *Heracleum lanatum*, 10.33 ± 0.01 et 12.33 ± 0.15 mm, respectivement (30µL/puits, le diamètre de puits=3 mm) (Kharkwal *et al.*, 2014), par contre elles sont résistantes à l'huile des fruits de *Pimpinella anisum* L. (Mohammed Aslam Albulushi *et al.*, 2014). Dr. Singh et ses coauteurs (2012) ont montré, aussi, la sensibilité d'*E. coli* en utilisant l'huile de *Seseli indicum* (17mm, 100µl/ml). Le *B. cereus* semble être très sensible à l'huile des racines de *Ferula gummosa* L. (19.5 ± 0.1 mm) (Mazandarani *et al.*, 2015).

Les diamètres d'inhibition enregistrés par nos HE vis-à-vis *S. aureus*, *S. enterica* et *P. aeruginosa* ont été limités (de 8 à 9mm), par contre il est de l'ordre de 6mm (le diamètre de puit) pour les souches bactériennes *E. faecalis* ATCC 29212, *L. inocula* CIP 74915 et *S. typhimurium* ATCC 19430. Mazandarani *et al.* (2015) ont montré l'efficacité de l'huile de *Ferula gummosa* L. contre les souches bactériennes *S. aureus* (21.3 ± 0.2 mm), *E. faecalis* (17.2 ± 0.8 mm), *P. aeruginosa* (17.8 ± 0.2 mm) et *S. typhimurium* (12.3 ± 0.2). L'essence d'*Heracleum lanatum* a donné une faible zone d'inhibition sur *S. aureus* (11.67 ± 0.25), *S. enterica* (9.33 ± 0.02) et *P. aeruginosa* (9.33 ± 0.04) (3mm, volume dilué de 30µL/puit) (Kharkwal *et al.*, 2014).

Les résultats suscités montrent que l'activité antibactérienne est en fonction des huiles essentielles testées ainsi que les bactéries ciblées. La sensibilité de certaines bactéries (*E. coli*, *L. inocula*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *S. typhimurium*) varie d'une méthode à une autre, ce qui confirme que la méthode utilisée pour étudier l'effet antibactérien d'une huile peut être considéré comme un facteur influant les résultats (Fazeli *et al.*, 2007). De même, on peut dire que la matière organique du milieu de culture (la composition du milieu de culture) (Annexe 05) peut modifier l'efficacité d'un agent antibactérien en se combinant avec lui pour former des composés inactifs, en l'adsorbant et en diminuant sa concentration, ou en le précipitant et en l'éliminant purement.

V.3.1.1.3. Synthèse et discussion générale de l'activité antibactérienne par contact direct

A la lumière des résultats suscités auparavant et les effets inhibiteurs remarquables des huiles essentielles sur les bactéries, on note que généralement l'huile d'*E. asclepium* est plus active que celle de *M. gummifera*. En effet, une grande variété des composés biologiquement actifs a une activité directe vis-à-vis de nombreuses souches bactériennes, telles que les terpènes et une variété d'hydrocarbures aliphatiques (alcools, aldéhydes et les cétones). L'action antibactérienne de ces composés est due principalement au caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et le caractère hydrophile de leurs groupes fonctionnels (Ayachi-Bendiabdellah, 2014). Selon la classification de Franchomme, les aromates de nature phénoliques sont les plus actifs, l'ordre d'efficacité ainsi établi est le suivant: Phénol/ Alcool/ Cétone/Ether/Hydrocarbure (Franchomme *et al.*, 1990).

L'analyse chimique d'une HE donne une liste de molécules complexes et fragiles, ce qui rend le mode d'action d'une huile vraisemblablement assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire (Selles, 2012). En effet, la GC/MS des HE étudiées a révélé la présence des monoterpènes en grande quantité et spécialement les monoterpènes hydrocarbonés qui se caractérisent par l' α -pinène (43.9%), le sabinene (27.9%) et le β -pinène (16.0%) pour l'huile d'*E. asclepium* et seulement l' α -pinène (34.0%) et le β -pinène (41.6%) pour l'huile de *M. gummifera*. Cependant la présence des monoterpènes oxygénés et les composés sesquiterpeniques sont en faibles concentrations.

Selon la littérature, plusieurs travaux ont été effectués sur les HE extraites des plantes médicinales où les chercheurs ont essayé d'expliquer leur potentiel antibactérien. De ce fait, Ben Marzoug *et al.* (2011) ont attribué le pouvoir antibactérien de l'huile de différentes parties d'*Eucalyptus oleosa* à la présence des terpènes oxygénés et spécialement les monoterpènes oxygénés (21.2-52.9%) qui sont très faibles dans les HE étudiées, le coefficient de corrélation (R^2) de *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *B. subtilis* est égale à 0.91, 0.63 et 0.87, respectivement. De même, Bencheqroun *et al.* (2012) dans leur étude sur l'huile essentielle d'*Artemisia mesatlantica* (*Asteraceae*) ont indiqué que la présence d'une teneur importante de monoterpènes oxygénés (thujones, camphène, camphre et 1,8-cinéole) dans l'huile peut être responsable de son activité prononcée. En revanche, l'huile d'*Artemisia campestris* qui est composée essentiellement de monoterpènes hydrocarbonés (analogue à nos HE), a révélé une activité antibactérienne faible contre les germes pathogènes comme *E. coli* et *S. aureus* (Akrou, 2010), ce qui confirme la faible activité antibactérienne de

l'huile d'*E. asclepium* et *M. gummifera* (6-13mm) et que la présence d'une fonction oxygène dans la structure des terpénoïdes augmente le potentiel antibactérien.

L'effet des huiles essentielles est souvent lié à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Evalués séparément sous forme de composés synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'huile essentielle de composition semblable (Pibiri, 2006). Aussi, il est probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique, additive et antagonistique (Bakkali *et al.*, 2008), et donc la valeur d'une huile essentielle tient à l'intégralité de ses composants (majoritaires et minoritaires) et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004). De ce fait, on peut dire que l'activité antibactérienne modérée des HE étudiées peut être attribuée principalement à l' α -pinène à côté de sabinene dans l'huile d'*E. asclepium* (27.9%) qui sont les composés majoritaires, ainsi que leurs composés minoritaires: α -terpineol, limonène, *p*-cymène, myrcène, phellandrene, δ -3-carene (Duke, 2016), 4-terpineol, γ -terpinène, α -thujène, 3-carene, myrtenol, camphène,...

Au fait, plusieurs travaux ont signalé l'effet antibactérien des deux monoterpènes hydrocarbonés, l' α -pinène et β -pinène (Dorman et Deans, 2000). Sokovic *et al.* (2010) ont testé l'activité de ces deux molécules et ont trouvé des zones d'inhibition de 8 à 16mm, ils sont inactives contre *P. aeruginosa*. De même, Taran *et al.* (2010) ont montré que l'huile de la partie aérienne de *Ferulago angulata* subsp. *carduchorum* riche en α -pinène et β -pinène exerce une activité antibactérienne élevée vis-à-vis les souches testées par rapport à celle des graines.

L'huile essentielle d'*E. asclepium* a révélé une activité plus au moins élevée par rapport à celle de *M. gummifera*, cette différence peut être liée au sabinene qui représente 27.9% de l'huile d'*E. asclepium* et 0.5% de celle de *M. gummifera* (Duke, 2016). L'effet antibactérien de sabinene a été décelé auparavant (Togashi *et al.*, 2008; Krist *et al.*, 2015). De leur côté, Oussou *et al.* (2004) ont attribué l'action inhibitrice de l'huile essentielle d'*Ocimum* au *p*-cymène et au sabinène. De même, l'activité antibactérienne peut être influencée par l'emplacement de la fonction alcool dans la molécule, Koroch *et al.* (2007) ont montré que terpinen-4-ol est plus active contre *P. aeruginosa* alors que l' α -terpineol est inactive, ce résultat peut justifier la sensibilité de cette souche à l'huile d'*E. asclepium* (12mm). En 1995, Carson et Riley ont signalé le potentiel antibactérien de Terpinen-4-ol à faible concentration. D'ailleurs, plusieurs auteurs ont signalé l'effet synergique, additif ou antagoniste de chacun des constituants présents en faible teneur: γ -terpinène, limonène, camphène, δ -3-carene,

myrcene, α -phellandrene (Burt, 2004; Ogbulie *et al.*, 2007; Mazandarani *et al.*, 2014; Duke, 2016).

En raison de grand nombre de constituants, les huiles essentielles n'ont aucune cible cellulaire spécifique (Carson *et al.*, 2002). Les terpènes possèdent un large spectre d'activité biologique, ils semblent être un moyen de défense des plantes (Matejić *et al.*, 2014), parce qu'ils ont une activité antibactérienne de forte à modérée contre les bactéries à Gram (+) et faible contre les bactéries à Gram (-) (Tepe *et al.*, 2004). Aussi, les monoterpènes qui sont connus par leur célébrité d'activité antimicrobienne, ils possèdent des effets délétères sur les membranes mitochondriales et provoquent une inhibition du métabolisme énergétique mitochondrial, ce qui entraîne des perturbations dans un large éventail des processus physiologiques et biochimiques dans la cellule (Shama *et al.*, 2011).

L'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement de la composition chimique de l'huile essentielle mais également de la souche bactérienne ciblée, Gram (+) ou Gram (-). Au fait, plusieurs travaux ont décelé la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (Pintore *et al.*, 2002; Burt, 2004; Falleh *et al.*, 2008), cependant il existe d'autres chercheurs qui ont signalé l'indépendance de l'activité antibactérienne au Gram (Ouattara *et al.*, 1997; Dorman et Deans, 2000). La présente recherche a montré que *S. aureus* est la bactérie la plus sensible de toutes les souches testées ce qui confirme les résultats de Falleh *et al.* (2008), ceci peut s'attribuer à des différences dans les constitutions morphologiques entre ces micro-organismes. Les bactéries à Gram (-) possèdent, plus de la paroi, une couche externe qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des substances chimiques antimicrobiennes par contre, les bactéries à Gram (+) sont plus sensibles, car elles ont une seule couche externe de peptidoglycane, la paroi, qui est perméable. La paroi des bactéries à Gram (-) agit comme une barrière diffusionnelle et sa complexité rend la cellule bactérienne plus résistante aux agents antimicrobiens (Hailu *et al.*, 2005; Boussoualim, 2014). Donc, les substances qui ont des propriétés antibactériennes sont celles qui ont une tendance à traverser la couche phospholipidique, substances liposolubles, endommager la paroi et augmenter sa fluidité, ce qui conduit à une fuite d'ions et de contenu cytoplasmique (Russo *et al.*, 2015).

Pour conclure, les résultats de l'activité antibactérienne d'une huile essentielle peuvent être influencés par trois facteurs principaux: la composition et la solubilité de l'huile, les microorganismes ciblés, la méthode utilisée et l'énumération des bactéries survivantes (Friedman *et al.*, 2002; Özkalp et Özcan, 2009). De même, il est important, de préciser qu'un

résultat observé lors de l'évaluation d'une huile est la composante de deux paramètres: l'activité intrinsèque des produits actifs et leur quantité relative dans l'huile. Par exemple, une activité avérée d'une huile peut aussi bien être le reflet d'une faible quantité de constituants très actifs que d'une grande quantité de constituants peu actifs (Ferrari, 2002). On doit ajouter que le composé actif qui se présente dans la plante peut être: soit actif sans être métabolisé et donc il aura un effet *in vitro* et *in vivo*; soit actif après métabolisation et donc il sera actif *in vivo* et inactif *in vitro*.

V.3.1.2. La méthode de contact indirect: micro-atmosphère

Le pouvoir antibactérien des HE étudiées a été effectué aussi par la méthode de micro-atmosphère (contacte indirecte) vis-à-vis des bactéries à Gram (+) (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ATCC 43300) et *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et autres à Gram (-) (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Listeria inocula* CIP 74915) testées précédemment. Les résultats relatifs à la croissance bactérienne soumise à l'action de la fraction volatile de différentes doses des HE étudiées sont représentés dans le tableau 09.

Tableau 09: La sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis l'HE d'*Elaeoselinum asclepium* et de *Margotia gummifera*.

Microorganismes	Les plantes Etudiées	Diamètres des zones d'inhibition (mm)				
		Les doses en µl				
		10	20	40	80	T ⁻
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>E. asclepium</i>	0	0	0	0	-
	<i>M. gummifera</i>	0	0	0	0	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>E. asclepium</i>	0	22*	44**	52	-
	<i>M. gummifera</i>	0	0	0	0	-
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline ATCC 43300	<i>E. asclepium</i>	20*	23**	28***	17	-
	<i>M. gummifera</i>	0	0	20*	25*	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. asclepium</i>	0	0	0	0	-
	<i>M. gummifera</i>	0	0	0	0	-
<i>Listeria inocula</i> CIP 74915	<i>E. asclepium</i>	0	0	0	0	-
	<i>M. gummifera</i>	0	0	0	0	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. asclepium</i>	10*	28*	15	32	-
	<i>M. gummifera</i>	20*	25*	30*	40*	-

*: une diminution de la densité des colonies, plus que le nombre des étoiles est élevé plus que la densité des colonies est diminuée.

D'après les résultats, les composés volatils de l'essence d'*E. asclepium* ont présenté un effet inhibiteur non négligeable et il est plus élevé que celui de la phase volatile de l'huile de *M. gummifera*.

La vapeur de l'HE d'*E. asclepium* a enregistré un effet bactériostatique vis-à-vis toutes les bactéries à Gram (+) testées (*S. aureus*, *S. aureus* résistant à la méticilline et *B. subtilis*) avec un taux d'inhibition de l'ordre de 57.77%, 18.88% et 35.55%, respectivement. Quant à la vapeur de l'essence de *M. gummifera*, l'inhibition n'était pas complète et on a observé juste une diminution de la densité des colonies. A noter que cette action antibactérienne est d'une part dose-dépendante et d'autre part varie selon la souche ciblée (Tab. 09).

On remarque également que les bactéries à Gram (-) (*L. inocula*, *E. coli* et *P. aeruginosa*) restent toujours les souches résistantes car les HE étudiées étaient inactifs pour toutes les doses utilisées.

Selon la littérature, il existe de nombreux travaux sur l'activité antibactérienne des HE par la méthode de contact direct mais ceux de la phase volatile sont peu nombreux (De Billerbeck, 2000; Pibiri *et al.*, 2001). En effet, El-Kolli dans sa Thèse de Doctorat (2016) a testé l'effet de la phase vapeur de l'HE de *C. montanum* et celle de *D. gracilis* et a montré que l'huile de *C. montanum* était active contre *B. cereus* à une faible dose (CMI=20µl) alors que l'huile de *D. gracilis* était aussi active vis-à-vis *B. cereus* et *Proteus mirabilis* mais à une dose plus élevée (CMI=80 et 70µl, respectivement). Dorman et Deans (2000) ont également montré des effets antibactériens de la phase vapeur de l'huile d'origan (*Origanum vulgare*) et de thym (*Thymus vulgaris*) contre les souches *Bacillus subtilis* NCIB 3610, *E. coli* NCIB 8879, *Salmonella pullorum* NCTC 10704 et *S. aureus* NCIB 6571. De même, Nedorostova *et al.* (2009) ont étudié l'effet de 27 huiles essentielles en phase vapeur vis-à-vis des bactéries d'origine alimentaire (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. enteritidis*, *S. aureus* et *P. aeruginosa*) en utilisant la méthode de micro-atmosphère. La fraction volatile de *Mentha piperita* était efficace contre une gamme de bactéries comprenant des isolats d'*E. coli*, *Pseudomonas sp.* *B. subtilis* et *S. aureus* (Tyagi et Malik, 2011a). Nos résultats sur les bactéries *S. aureus*, apparemment, ne corroborent pas avec ceux obtenus par Kloucek *et al.* (2012) qui ont enregistré une résistance absolue de cette souche à l'encontre de l'HE de *D. carota*. La vapeur de cette huile est inactive sur *P. aeruginosa* et *S. enteritidis*.

D'après cette étude, généralement, les bactéries à Gram (+) sont plus sensibles à l'HE que les bactéries à Gram (-). Cette constatation est en accord avec celle faite par plusieurs

auteurs (Smith-Palmer *et al.*, 1998; Inouye *et al.*, 2001a). La résistance des bactéries à Gram (-) est due principalement à la présence d'une membrane externe (Tassou et Nychas, 1995; Mann *et al.*, 2000) qui joue le rôle d'une barrière contre les agents antibactériens. Cette membrane possède des chaînes polysaccharidiques hydrophiles qui empêche la fixation ou l'entrée des huiles essentielles hydrophobes.

L'action antibactérienne des HE est attribuée à leur composition chimique et principalement aux composés majoritaires. De ce fait, Inouye *et al.* (2001a) ont signalé que les HE riche en composés aldéhydiques (cinnamaldéhyde suivie par le citral, le perillaldéhyde, l'octanal et le nonanal dans l'HE d'écorce de cannelle) ou composés phénoliques (thym) ont montré une forte activité antibactérienne, suivies de celles contenant des composés alcooliques (le menthol, le terpinen-4-ol et le linalool avec une activité modérée). D'autre part, les huiles essentielles contenant des cétones ou éthers, et en particulier des hydrocarbures terpéniques (les composés majoritaires dans l'HE d'*E. asclepium* et *M. gummifera*) tels que le D-limonène et l' α -pinène, en tant que constituant majoritaires étaient les moins actives.

Toutefois, Boughendjioua (2015) a noté qu'aucune corrélation significative n'a été observée entre la teneur des composants chimiques et l'activité antibactérienne de l'HE du *Citrus* testées sur 13 souches. Le limonène qui est le composant majoritaire de cette huile (61.647%) a révélé une faible efficacité antimicrobienne. D'après ces observations, il est évident que le limonène n'a exercé aucune influence sur le potentiel antibactérien de H.E testée. De même, Inouye *et al.* (2001a) ont montré que le composant majoritaires de l'huile d'Eucalyptus est 1,8-cinéol, mais le facteur majeur de la bioactivité a été supposé être l' α -terpinéol, qui a montré une activité huit fois plus élevée que le 1,8-cinéol contre *S. aureus*.

V.3.1.3. Etude comparative: aromatoigramme vs micro-atmosphère

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE d'*E. asclepium* et celle de *M. gummifera* par la méthode de contact direct (aromatoigramme) et la méthode de contact indirect (micro-atmosphère) a montré que l'huile d'*E. asclepium* était plus active que l'huile de *M. gummifera* et principalement à la phase volatile qui a donné des zones d'inhibition considérables par rapport à celles de l'aromatoigramme. Ces résultats sont corroborés avec ceux obtenus par l'huile essentielle de *Mentha piperita* (Tyagi et Malik, 2011a) et *Eucalyptus globulus* (Inouye *et al.*, 2003; Tyagi et Malik, 2011b), *Melaleuca alternifolia*

(Mondello *et al.*, 2009), Thym, fenouil et lavande (Soylu *et al.*, 2006; Tullio *et al.*, 2007), *Pelargonium graveolens* (Boukhatem *et al.*, 2013) qui ont mis en évidence la supériorité de l'action inhibitrice de la phase vapeur par rapport à la phase liquide. Ceci a été confirmé notamment sur les Gram (+) et les souches fongiques. La différence entre les deux méthodes peut s'expliquer par le fait qu'en contact direct, les HE diffusent mal en milieu gélosé à cause de leur non miscibilité (leur caractère hydrophobe) (Nedorostova *et al.*, 2009) ainsi que l'évaporation des composés actifs et, par conséquent, un contact réduit entre le germe et l'HE. Cependant, il existe des cas où la phase liquide présente une certaine efficacité par rapport à la vapeur, c'est l'exemple de l'huile de *Thymus vulgaris* L. sur *Salmonella thyphimurium* (St2) où les diamètres d'inhibition ont été de l'ordre de 69 mm en aromagramme et de 50mm en micro-atmosphère (Boukhatem *et al.* 2014).

En micro-atmosphère, le pouvoir antibactérien des HE est attribué principalement au taux d'évaporation (Inouye *et al.*, 2001a) où plus l'HE est volatile, plus il y aura une bonne diffusion sur une gélose ensemencée préalablement (Pibiri *et al.*, 2006; Laird et Phillips, 2012). Plus précisément, le potentiel antibactérien de la vapeur est le résultat de l'effet combiné de son absorption directe par les micro-organismes testés et de l'effet indirect par le milieu qui absorbe la vapeur (Trivedi et Hotchandani, 2004). D'ailleurs, une contribution significative des composés volatils par absorption d'agar a été rapportée par Gocho (1991) à l'encontre d'*E. coli*.

La vapeur des HE peut être utilisée en plusieurs domaines. En alimentation, par exemple, la conservation des produits alimentaires en utilisant la phase liquide de l'HE est limitée, car il nécessite l'introduction des concentrations élevées qui peuvent changer sa propriété organoleptique (Gündüz *et al.*, 2010), et c'est la raison pour laquelle plusieurs auteurs ont la substitué par la phase vapeur qui pourrait être efficace contre les agents antimicrobiens à des concentrations plus faible que l'aromagramme (Goni *et al.*, 2009; Hyun *et al.*, 2015). Aussi, elle pourrait être utilisée comme désinfectant atmosphérique en milieu hospitalier afin de lutter contre les infections nosocomiales et les contaminations aéroportées, ainsi que pour le contrôle de l'hygiène de l'air des systèmes de climatisation, entraînant un effet bénéfique au niveau de la qualité de l'air (la fraction terpénique du Thym) (Boukhatem *et al.*, 2014). De même, Ziedan et Farrag (2008) ont conclu que la phase vapeur des huiles essentielles semble être un protocole de contrôle prometteur qui pourrait être appliqué en fumigation pour le contrôle de certaines maladies de post-récolte dans le domaine agroalimentaire.

V.3.2. L'activité antifongique

Le pouvoir antifongique de l'HE d'*E. asclepium* et celle de *M. gummifera* testé par la méthode des disques (contact direct), a été hautement significatif ($p < 0.001$) contre toutes les souches fongiques utilisées: *C. albicans* ATCC 1024, *A. flavus* NRRL 391 et *A. niger* 2CA 936. L'efficacité de l'HE se traduit par la formation d'un halo translucide autour du disque. Les résultats récapitulés dans le tableau 10 représentent le diamètre des zones d'inhibitions résultantes des HE étudiées après 48 heures vis-à-vis les différentes souches.

Comme le montre le tableau 10, l'effet anticandidose de l'HE de *M. gummifera* est plus important par rapport à celui d'*E. asclepium*. En effet, les diamètres des zones d'inhibition varient de 8 à 15mm pour la levure *C. albicans* qui était la plus sensible aux HE. La lecture des résultats après 48 heures d'incubation à 30°C a enregistré un diamètre de 15mm pour l'huile de *M. gummifera* à la dilution la plus élevée (1/2) et 13mm pour l'huile d'*E. asclepium* dans les mêmes conditions. Ces diamètres restent quand même inférieurs à celui obtenu par l'antifongique standard (Nystatine) qui est de l'ordre de 25mm. Une activité croissante, proportionnelle à la dose a été notée avec les deux huiles essentielles.

Tableau 10: Diamètres (mm) des zones d'inhibition des souches fongiques de l'huile essentielle d'*E. asclepium* et de *M. gummifera*.

Souches fongiques	Pourcentage de l'HE dans le DMSO			T+	
	10%	20%	50%	Nystatine	Dividend
<i>E. asclepium</i>					
<i>C. albicans</i> ATCC 1024	8.5±0.5	10±00	13±00***	25±0.5	NT
<i>A. flavus</i> NRRL 391	-	-	8±00***	NT	44
<i>A. niger</i> 2CA936	-	-	8±01***	NT	48
<i>M. gummifera</i>					
<i>C. albicans</i> ATCC 1024	10±00	12±01	15±01***	25±0.5	NT
<i>A. flavus</i> NRRL 391	-	12±01	16±01***	NT	44
<i>A. niger</i> 2CA936	-	8.5±0.5	15±01***	NT	48

- : Pas d'inhibition.

*** : Hautement significative à $p < 0.001$, $n=3$.

NT : non testé

Quant aux souches fongiques, *A. flavus* et *A. niger*, on constate aussi que le pouvoir antifongique de l'huile de *M. gummifera* est plus important que celui d'*E. asclepium*. L'effet inhibiteur de l'HE de *M. gummifera* a été révélé à la dilution 1/5 dont le diamètre était de 12mm pour *A. flavus* et 8mm pour *A. niger*, ces diamètres sont élevés jusqu'à 16 et 15mm à la dilution 1/2. Toutefois, l'huile d'*E. asclepium* avait un faible effet à la dilution la plus élevée (1/2) avec un diamètre de 8mm. A la deuxième lecture, c'est-à-dire après 72 heures d'incubation dans les mêmes conditions, un tapis blanc représente la croissance mycélienne recouvre toute la surface de la gélose Sabouraud que ce soit pour l'huile de *M. gummifera* ou l'huile d'*E. asclepium* ainsi que le début de la sporulation. Ces huiles ont présenté une faible activité sur *A. flavus* et *A. niger* avec des diamètres d'inhibition inférieurs à ceux obtenus par l'antifongique standard dividend et qui sont 44 et 48mm, respectivement.

A la lumière de notre recherche bibliographique, il n'existe pas des travaux sur l'activité antifongique des deux espèces étudiées, *E. asclepium* et *M. gummifera*, ainsi que les genres *Elaeoselinum* et *Margotia*. Pour cette raison, les résultats obtenus lors de cette étude ont été interprétés par comparaison avec ceux obtenus par d'autres genres et espèces de la famille des Apiaceae.

L'effet de l'huile d'*E. asclepium* à la dilution 1/2 est égale à celui obtenu par *Daucus setifolius* récolté de Skikda (13mm) à la même dilution (Laouer *et al.*, 2013). De même, l'huile de la partie aérienne de *D. muricatus* (Ayachi-Bendiabdellah, 2014) et l'huile d'*A. sicula* (Lamamra, 2010) ont donné des zones d'inhibitions très proches à celle de *M. gummifera*, 17 et 16mm, respectivement. Les mêmes auteurs ont révélé la forte activité antifongique de l'huile de la partie aeriennne de *Filipendula hexapetala* et les racines de *D. carota* ssp. *hispanicus* sur *C. albicans*, 30mm (Lamamra, 2010; Ayachi-Bendiabdellah, 2014). La sensibilité de *C. albicans* aux différentes HE de la famille des Apiaceae a été enregistrée, les feuilles de *Diplotaenia damavandica* (21mm) (Fereshteh *et al.*, 2005), les feuilles de *Chaerophyllum villosum* (25mm) (Joshi, 2013), les racines et la partie aérienne de *Daucus aureus* (Meliani *et al.*, 2013) ont donné des zones d'inhibition de l'ordre de 22 et 24mm, respectivement. Cependant, l'huile des graines d'*Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. était inefficace et a donné une zone de 7mm (Louail *et al.*, 2016).

Ainsi, l'activité antifongique contre les moisissures, *A. niger* et *A. flavus*, a été établie par plusieurs auteurs (Vokk *et al.*, 2011; Makhloufi, 2013; Louail *et al.*, 2016). Selon Tirillini *et al.* (2009), l'HE de *Laserpitium garganicum* était active sur *A. niger* avec un pourcentage d'inhibition de $28 \pm 4\%$ à la concentration de 1µl/ml, l'inhibition a été commencée à partir

de la concentration 0.125µl/ml (21±7%). La même espèce a révélé une sensibilité élevée vis-à-vis l'huile de *F. hexapetala* à la concentration de 1.7µg/disque (39mm) (Radulović *et al.*, 2007). De leur côté, Mohammadpour *et al.* (2012) ont étudié le pouvoir antifongique de l'huile de *Cuminum cyminum* L. sur les espèces *A. flavus* PICC-AF39, *A. flavus* PICC-AF24 et *A. niger* et ils ont montré une activité élevée avec des zones d'inhibition de l'ordre de 35, 55 et 38mm, respectivement à la concentration de 20µl/disque (48 heures). L'huile d'*Ammoides verticillata* a donné une CMI égale à 1µg/ml contre *A. flavus* (Mohammedi *et al.*, 2010).

Plusieurs auteurs ont étudié le potentiel antifongique des HE de différentes plantes et malheureusement ils n'ont pas arrivé à comprendre et déterminer leur mécanisme d'action d'une façon précise, mais ils ont donné plusieurs suppositions selon leurs observations. En effet, l'activité antifongique des HE est attribué principalement à leur composition chimique (Tirillini *et al.*, 2009; Mohammedi *et al.*, 2010), la nature et la proportion des différents constituants (majoritaires et minoritaires), les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et les possibles effets synergiques entre les composants (Dorman et Deans, 2000; Lahlou, 2004; Tavares *et al.*, 2010; Koffi *et al.*, 2013). De même, la concentration de l'huile essentielle et la durée d'exposition (Feng et Zheng, 2007; Abou El-Soud *et al.*, 2012), le type de microorganisme mis en jeu (Mohammedi *et al.*, 2010; Koffi *et al.*, 2013), la concentration de l'inoculum concernant les spores (Ouraini *et al.*, 2005) ainsi que la charge du disque (Rasooli *et al.*, 2008) ont été signalés comme des facteurs qui influent l'activité antifongique.

D'après Tirillini *et al.* (2009), le grand effet antifongique de *Laserpitium garganicum* est dû aux composés oxygénés qui sont relativement absents dans les HE étudiées dans ce travail. Au fait, l'analyse chimique de l'HE d'*E. asclepium* et *M. gummifera* a révélé la richesse de ces deux HE en monoterpène hydrocarbonés (α -pinene, β -pinene, sabinene, myrcene et limonene) qui sont peut être responsable du pouvoir antifongique. Selon Amarti *et al.* (2010), la faible activité de l'huile de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. peut être attribuée à la présence de l' α -pinène (20,5 %), du β -pinène (8,02 %) et du limonène (4,85%) reconnus pour leur faible activité antibactérienne (Chalchat *et al.*, 2000). Cependant, l' α -pinene, β -pinène et sabinene ont été signalés par plusieurs auteurs comme des molécules antifongiques (Salvador *et al.*, 1985; Glisic *et al.*, 2007a; Taran *et al.*, 2010; Mileski *et al.*, 2015).

Nos résultats nous permettent de conclure que l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*E. asclepium* et *M. gummifera* n'est pas attribuée seulement aux composés majoritaires mais aussi aux composés minoritaires qui peuvent être impliqués (Bajpai et Kang, 2010) et agissent en synergie soit entre eux, soit avec les composés majoritaires (*E. asclepium* = myrcene (0.7%), α -terpinene (0.2%), *p*-cymene (0.6%), 4-terpineol (1.4), *M. gummifera* = myrcene (3.5%), *p*-cymene (2.8%), limonene (1.6%), γ -terpinene (3.6%), terpinolene (0.2%)). D'ailleurs, Fereshteh *et al.* (2005) dans leur étude sur l'HE de *Diplotaenia damavandica* ont testé l'effet antifongique de ses composés majoritaires (terpinolene, γ -terpinene et *p*-cymene) et ont observé la présence des zones d'inhibitions de l'ordre de 32, 15 et 12mm, respectivement pour *C. albicans*, 25 et 12mm pour *A. niger*, respectivement, alors que le *p*-cymene s'est avéré inactif contre cette souche. L'huile de *M. gummifera* a donné une activité relativement élevée par rapport à celle de l'huile d'*E. asclepium*, ceci peut être expliqué par la présence de γ -terpinene (3.6%), *p*-cymene (2.8%) et terpinolène (0.2%) (Fereshteh *et al.*, 2005) plus que les monoterpènes oxygénés qui représentent 7.6% de l'huile (Knobloch *et al.*, 1986).

L'activité inhibitrice peut être due aux différents modes d'action de tous les composants de l'huile essentielle sur les moisissures. En effet, la toxicité des composés phénoliques envers les champignons est fondée principalement sur l'inactivation des enzymes fongiques contenant le groupement SH dans leur site actif (Celimene *et al.*, 1999; Ultee *et al.*, 2002). Les phénols terpéniques des HE provoquent des perturbations morphologiques des hyphes mycéliens, la rupture de la membrane plasmique et l'altération de la structure des mitochondries (Arras *et al.*, 2001; De Billerbeck *et al.*, 2001). Aussi, l' α -pinène et le β -pinène agissent sur les levures en inhibant les processus de transport d'ions, le processus de la respiration et en augmentant la perméabilité membranaire (Salvador *et al.*, 1985).

D'après la plupart des études, la membrane cellulaire est la cible des agents antifongiques. Les molécules hydrophobes actives attaquent la paroi et la membrane cellulaire, affectant la perméabilité et donc la libération des constituants intracellulaires, en interférant également avec la fonction de la membrane, c'est-à-dire la perte de l'intégrité de la membrane fongique (Cox *et al.*, 2000; Bajpai et Kang, 2010; Gao *et al.*, 2011). Les huiles essentielles peuvent causer également des changements morphologiques comprenant l'insuffisance de la sporulation, la perte de pigmentation, le développement anormal des conidiophores et la déformation des hyphes (De Billerbeck *et al.*, 2001; Rasooli et Abyaneh,

2004; Sharma et Tripath, 2008). De leur côté, Soyly *et al.* (2005) dans leur étude sur l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* Mill. ont montré que cette huile entraîne des dégradations morphologiques des thalles, ils ont signalé aussi la présence de grandes vésicules à l'intérieur de la paroi cellulaire.

En ce qui concerne l'*Aspergillus flavus*, les huiles essentielles de *Thymus fontanesii* n'ont pas seulement une action sur la croissance mycélienne mais elles exercent aussi un effet direct sur les voies de production des aflatoxines B1, cette forte activité antifongique et antiaflatoxinigène observée est attribuée à tous les constituants de l'huile mais particulièrement au thymol (Mohammedi *et al.*, 2010). Egalement, l'application de l'huile de *Coriandrum sativum* L. et de *Carum carvi* L. sur cette souche fongique diminue la production de l'aflatoxines B1 ainsi que la croissance mycélienne (Abou El-Soud *et al.*, 2012). La concentration qui inhibe la production de l'aflatoxines est inférieure à celle qui provoque l'effet fongistatique ou l'arrêt total de la croissance du champignon (Paranagama *et al.*, 2003; Koffi *et al.*, 2013).

Abou El-Soud *et al.* (2012) dans leur étude sur l'activité antifongique des HE de la famille des Apiaceae a rendu l'effet antimicrobien des HE ou de leurs constituants à différentes manières: (1) endommagement du système cellulaire enzymatique, y compris ceux associés à la production d'énergie et à la synthèse des composés structuraux (Conner et Beuchat, 1984a/b), (2) dénaturation des enzymes responsables de la germination des spores ou de l'interférence avec l'acide aminé impliqué dans la germination (Nychas, 1995) et (3) des lésions irréversibles dans la paroi cellulaire, la membrane cellulaire et les organites cellulaires lorsque *A. parasiticus* et *A. flavus* ont été exposés à différentes huiles essentielles (Helal *et al.*, 2007).

V.4. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTI-OXYDANTE

V.4.1. TEST DU DPPH

Les profils d'activité antiradicalaire obtenus (Fig. 27) révèlent que les HE d'*E. asclepium* et *M. gummxifera* possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante. L'augmentation de la concentration a fait augmenter le pourcentage d'inhibition. Les IC₅₀ de chacun des différents extraits ont été déterminées (Tab. 11).

Tableau 11: Activité antiradicalaire des HE d'*E. asclepium* et de *M. gummifera*

Echantillons	IC ₅₀ (mg/ml)
<i>E. asclepium</i>	25.57 ± 0.53*
<i>M. gummifera</i>	26.78 ± 0.86*
BHA	2.97*10 ⁻³ ± 0.04*10 ⁻³

* Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais ± SD

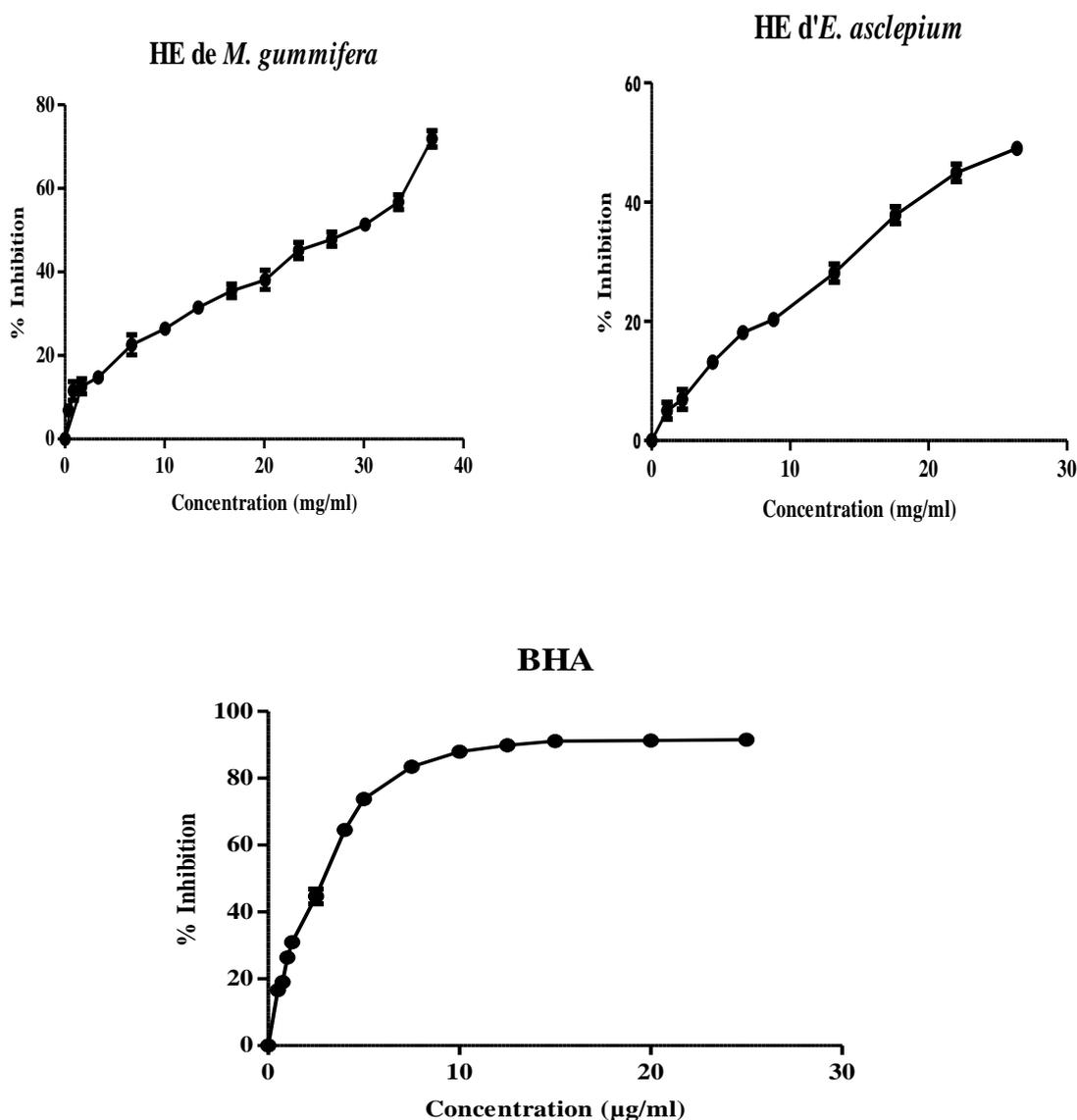


Figure 27: Activité antiradicalaire des HE et celle de la référence (chaque valeur représente la moyenne de trois essais ± SD, n=3)

La capacité antioxydante des huiles essentielles des plantes étudiées a été déterminée puis comparée à l'activité des composés antiradicalaires de référence, en l'occurrence le BHA. Les résultats obtenus, exprimés en terme de concentration inhibitrice de 50% des

radicaux (IC₅₀), ont montré que l'huile d'*E. asclepium* est dotée d'un pouvoir antioxydant plus faible que celui de BHA dont l'IC₅₀ est en moyenne de 25.57 ± 0.53 mg/mL alors qu'avec le BHA, une activité de l'ordre de 2.97 ± 0.04 µg/mL a été enregistrée. L'activité antiradicalaire de l'HE de *M. gummifera* est plus proche à celle d'*E. asclepium* avec une IC₅₀ = 26.78 ± 0.86 mg/ml.

Ces résultats sont très loin d'être comparés avec ceux obtenus par l'HE d'*Echinophora sibthorpiana* avec une IC₅₀ = 0.02mg/ml (Mileski *et al.*, 2014), l'HE de *Foeniculum vulgare* avec une IC₅₀ = 0.9mg/ml (El Ouariachi *et al.*, 2014) et même les HE des fruits, des fleurs immatures et des feuilles adultes avec des IC₅₀ correspondent 0.4411 ± 0.0127 mg/ml (441.1 ± 12.7 mg/l), 1.2704 ± 0.0334 mg/ml (1270.4 ± 33.4 mg/l) et 1.5363 ± 0.0405 mg/ml (1536.3 ± 40.5 mg/l), respectivement (Ben Marzoug *et al.*, 2011). Selon Ksouri *et al.* (2015), l'activité antiradicalaire de l'HE de la graine de l'espèce *D. carota* ssp. *carota* est proche de celle de la partie aérienne de *M. gummifera* et *E. asclepium* avec une IC₅₀ de l'ordre de 38.67 ± 0.153 mg/ml, alors que la HE des feuilles de la même espèce (*D. carota* ssp. *carota*) est presque deux fois moins active que les graines avec une IC₅₀ de l'ordre de 76.33 ± 0.208 mg/ml.

D'après ces résultats, il semble que les HE étudiées ont une activité antioxydante mais elles sont moins efficaces que celle du BHA (Tab. 11). Entre autre, plusieurs travaux sur l'activité antiradicalaire des HE des plantes aromatiques et médicinales ont montré que ces propriétés ont une relation direct avec leur composition chimique (Bouzouita *et al.*, 2008) dont les composés phénoliques d'y trouvés jouent un rôle principal dans la réduction des radicaux libres (Villano *et al.*, 2007). Les HE d'*E. asclepium* et *M. gummifera* sont riche en monoterpènes hydrocarbonés (α -pinene 43.9%, β -pinene 16.% et sabinene 27.9% / α -pinene 34%, β -pinene 41.6% et myrcene 3.5%, *p*-cymene 2.8%) et au même temps pauvre en composés oxygénés (phénol, alcool, acide,...) et c'est la raison pour laquelle ces HE ont présenté une activité antiradicalaire plus au moins faible. Le *p*-cymene (Lee et Shibamoto, 2001) et l' α -pinene (Lado *et al.*, 2004) ont été rapportés et ils ont donné une faible activité antioxydante alors que γ -terpinene a présenté une bonne activité (Ruberto et Baratta, 2000).

En général, les huiles essentielles riches en composés oxygénés présentent une activité antiradicalaire plus marquée que celles à terpènes hydrocarbonés (Demirci *et al.*, 2007; Miladi *et al.*, 2013; Hammoudi *et al.*, 2015; Toure, 2015). Aussi, une concentration élevée des composés phénoliques effectue une forte activité antioxydante qui est attribuée à leurs groupements hydroxyles (Mohammed Aslam Albulushi *et al.*, 2014; Ksouri *et al.*, 2015). Le

carvacrol, le t-anethol et le 4-terpineol aussi bien que la thymoquinone, sont de puissants agents réducteurs du radical DPPH et piègeurs du radical hydroxyle (Burits et Bucar, 2000). L'étude de la relation structure/activité a montré aussi que l'action antioxydante augmente avec la présence des groupement 6-hydroxyl et cafféoyl (Es-Safi *et al.*, 2006).

Ce n'est pas uniquement les composés majoritaires des HE qui sont responsables de cette activité antiradicalaire, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (Lu et Yeap Foo, 2001; Sing *et al.*, 2006).

V.4.2. TEST DU BLANCHIMENT DU β -CAROTENE

Les résultats représentés dans les figures ci-dessous (Fig. 28 et 29) montrent que l'antioxydant standard et les huiles essentielles testées inhibent d'une manière extrêmement significative ($p < 0.05$) l'oxydation couplée à l'acide linoléique et le β -carotène par rapport aux contrôles négatifs. L'huile essentielle d'*E. asclepium* a manifesté la plus grande aptitude à inhiber la formation des radicaux libres par l'acide linoléique avec un pourcentage d'inhibition égal à 51.68%, suivie par l'HE de *M. gummifera* dont le taux d'inhibition est de 41.30% après 24h d'incubation. Ces deux huiles présentent une différence très significative dans leur activité ($**p < 0.05$), mais cette activité reste significativement inférieure à celle du BHT qui est de l'ordre de 100% ($***p < 0.05$). Cette évaluation représente un premier rapport sur l'activité antioxydante des HE étudiées.

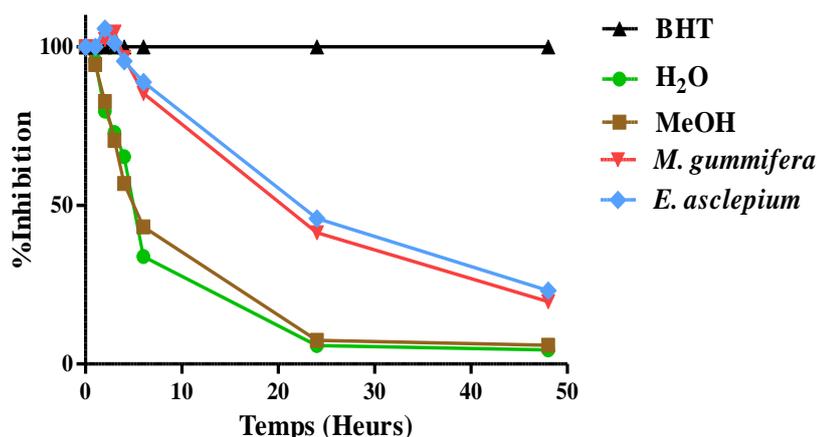


Figure 28: Cinétique de blanchiment du β -carotène à 490 nm en absence et en présence des HE d'*E. asclepium* et de *M. gummifera*, des témoins négatifs et du BHT (chaque valeur représente la moyenne \pm SD de trois essais).

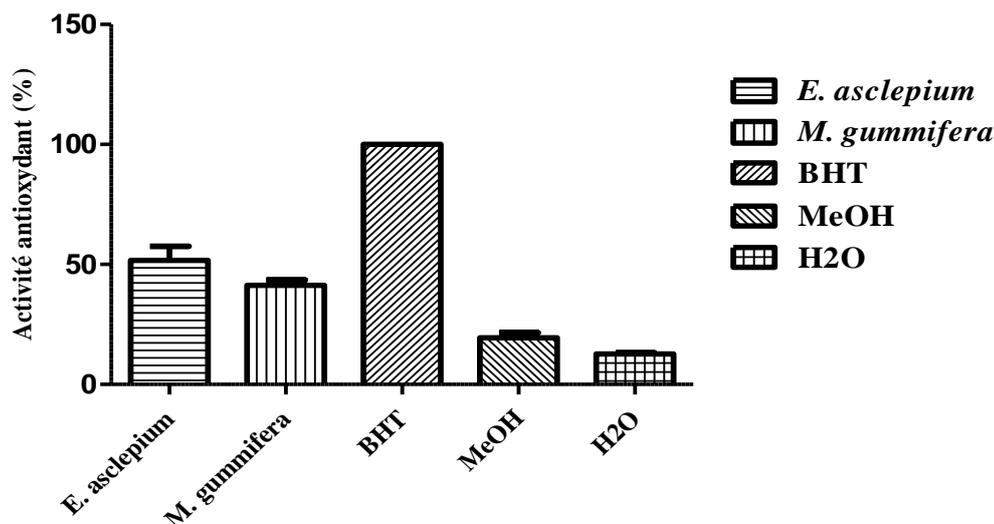


Figure 29: Activité antioxydante en présence et en absence des HE, des témoins négatifs et du BHT après 24 h d'incubation par le test de β -carotène / acide linoléique. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3). *** $p \leq 0.05$, comparant avec le contrôle positif BHT.

Bektas *et al.* (2011) ont étudié l'activité antioxydante des HE de *Peucedanum longifolium* (Waldst. & Kit.) et *Peucedanum palimbioides* (Boiss.) par plusieurs méthodes dont celle de la décoloration du β -carotène. Ils ont trouvé que l'activité antioxydante de l'HE de *P. longifolium* à une concentration de 2mg/ml est de 70.73% \pm 1.31, alors que l'HE de *P. palimbioides* inhibe d'une manière excellente le blanchiment du β -carotène avec un pourcentage de 90.58% \pm 1.56 à la même concentration, et il est proche de celui de BHT (95.86% \pm 0.23). En outre, une autre étude réalisée sur les HE des fruits de *Chaerophyllum libanoticum* (Turquie) par Demirci *et al.* (2007) et ont montré que cette HE a une faible tendance d'inhiber l'oxydation du β -carotène avec une activité égale à 16.73% \pm 0.12 et qui est presque trois fois plus faible que celle trouvée par nos HE.

L'activité antioxydante a une relation directe avec la composition chimique des huiles essentielles. De ce fait, Demirci *et al.* (2007) ont attribué ces résultats à la présence d'un grand pourcentage en monoterpènes hydrocarbonés tels que β -phellandrene, limonène, β -pinène, α -pinène et sabinene qui sont les mêmes composés majoritaires de nos HE et de l'HE de *P. palimbioides* (β -pinène, α -pinène et limonène) plus que l'acide (E)-9-Octadecenoïque (23.57%) alors que *P. longifolium* contient une grande quantité en sesquiterpenoids (Bektas *et al.*, 2011). Aussi, Lu et Yeap Foo (2001) et par la suite Wang *et al.* (2008) ont rapporté que les composés antioxydants fonctionnent synergiquement les uns

avec les autres pour produire une large gamme d'activités antioxydantes qui crée un système de défense efficace contre l'attaque du radical libre.

En plus de la contribution probable, mais la plus dominante des huiles essentielles à cette activité, un autre paramètre semble intervenir, la polarité de l'extrait. Gachkar *et al.* (2007) ont proposé que cette activité est due à la haute spécificité de l'essai de blanchiment du β -carotène pour les composés lipophiles. On peut donc expliquer l'activité des extraits apolaires par le paradoxe des phénomènes polaires (Frankel *et al.*, 1994). Etant donné que le test de blanchiment du β -carotène est similaire à un système d'émulsion de lipides dans l'eau, Frankel et Meyer (2000) ont proposé que les antioxydants apolaires (huile essentielle d'*E. asclepium* et de *M. gummifera* dans la présente étude) exposent des propriétés antioxydantes plus importantes car ils sont concentrés au sein de l'interface lipide-eau, permettant ainsi de prévenir la formation des radicaux lipidiques et par conséquent l'oxydation du β -carotène.

V.4.3. TEST DU FRAP (FERRIC REDUCING ANTIOXYDANT POWER)

Dans ce présent travail, nous avons testé le pouvoir réducteur des ions Fe III/TPTZ en Fe II/TPTZ par les HE de la partie aérienne des deux plantes étudiées (*E. asclepium* et *M. gummifera*) (Tab. 12). La droite d'étalonnage du Trolox effectuée pour cette méthode est représentée dans la Figure 30. Cette dernière exprime le pourcentage d'inhibition du Trolox en fonction des différentes concentrations. Le coefficient de détermination (R^2) est ainsi calculé et il est très proche de 1.

Les valeurs enregistrées par les HE ont été comparées avec l'équation linéaire du standard Trolox (25-200 μ g/ml) et interprétées en terme Trolox équivalent (mg/g HE). Les résultats représentés dans le tableau 08 montrent que les deux huiles essentielles ont tendance à réduire le fer³⁺ avec une différence non significative ($p < 0.05$). L'huile essentielle de *M. gummifera* est plus active que celle d'*E. asclepium* avec un pouvoir réducteur de l'ordre de 18.484 ± 1.57 et 13.04 ± 3.77 mg TE /g HE, respectivement à la concentration 1mg/ml.

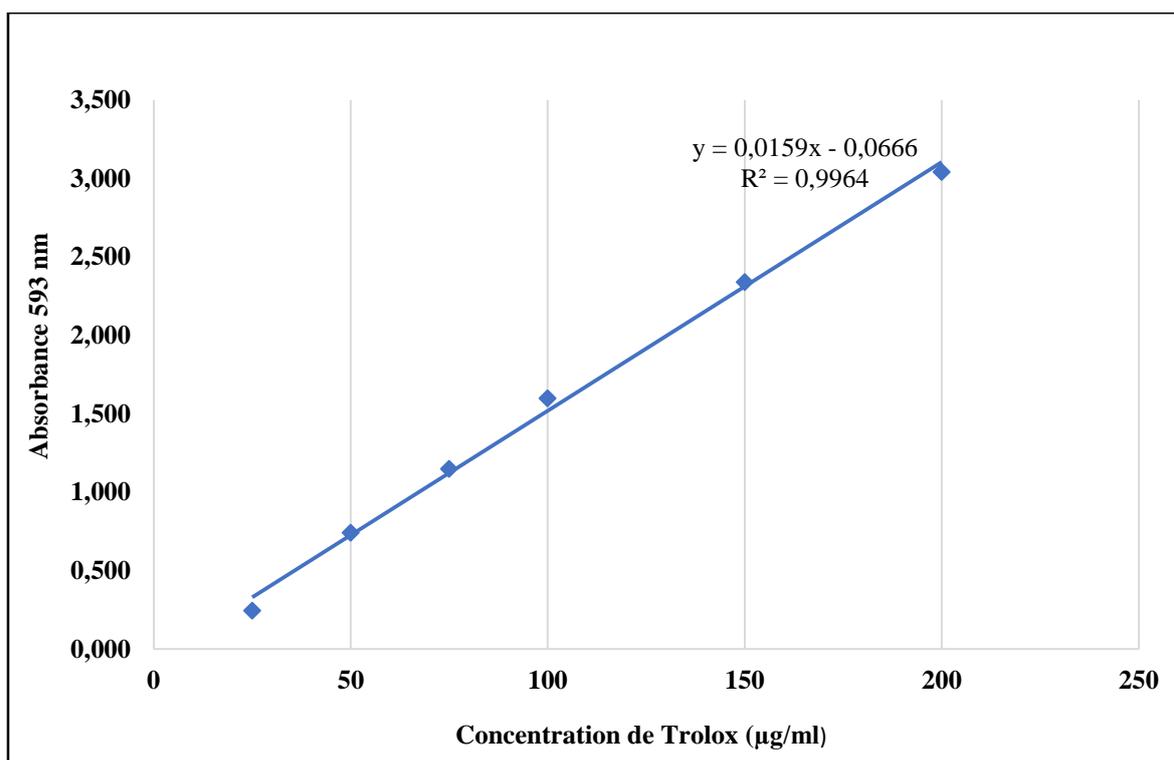


Figure 30: Droites de régression du Trolox

Tableau 12: Le pouvoir réducteur des HE étudiées exprimé en Trolox équivalent (mg/g HE)

Echantillons	mg TE /g HE
<i>E. asclepium</i>	13.04 ± 3.77*
<i>M. gummifera</i>	18.484 ± 1.57*

*Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais ± SD, $p < 0,05$.
La concentration des échantillons = 1mg/ml.

Plusieurs travaux ont été réalisés sur les extraits des plantes mais peu sur les huiles essentielles et notamment les huiles essentielles des Apiaceae. Hamia *et al.* (2013) ont étudié le pouvoir réducteur de l'huile essentielle des fleurs de *Rhanterium adpressum* (Asteraceae) récoltée de Zelfana (Ghardaïa, Algérie) et ont montré que la capacité antioxydante exprimée en Trolox équivalent (TEAC mg/ml) est de 0.5 ± 0.01 mg/mL qui est très faible en comparant avec le BHA (7.0 ± 0.2 mg/mL). En outre, les HE de la partie aérienne d'*Anethum graveolens* L. et *Trachyspermum roxburghianum* (DC.) Craib proviennent de la Thaïlande ont été étudiées par Peerakam *et al.* (2014). L'HE de *T. roxburghinum* a donné un pouvoir réducteur élevé par rapport à celui d'*A. graveolens*, l'activité antioxydante exprimée en termes Trolox équivalent (TEAC mg/ml) est égale à 27.4173 ± 0.0099 et 0.8327 ± 0.0643 mg/mL, respectivement.

Le pouvoir réducteur est un indicateur très significatif de l'activité antioxydante. Plus que le pouvoir réducteur est élevé plus qu'il existe une bonne activité antioxydante. Les HE d'*E. asclepium* et *M. gummifera* ont présenté un faible pouvoir réducteur par rapport aux HE: *T. roxburghinum*, d'*A. graveolens* et *Rhanterium adpressum*, par contre ils ont donné un pouvoir plus au moins similaire à celui de l'extrait éthanolique de *Cuminum cyminum* L. et cette variation en activité antioxydante est due principalement à la variabilité phytochimique des espèces végétales (Oyedeji *et al.*, 2011). Toutes les HE sont riches en monoterpenes hydrocarbonés mais elles ont présenté une activité antioxydante différente, ceci peut être expliqué par le pourcentage élevé des monoterpènes oxygénés dans les HE de *T. roxburghinum* et d'*A. graveolens* plus que les composés phénoliques (*T. roxburghinum*) (Peerakam *et al.*, 2014). D'après Cao et ces collaborateurs (2009), les monoterpènes hydrocarbonés (composés majoritaires de nos HE) et les monoterpènes oxygénés sont les principales substances antioxydantes dans les HE des plantes.

Selon Juki *et al.* (2006), Dorman a étudié l'activité antioxydante de 33 constituants extraites de: muscade, poivre noir, clou de girofle, géranium et mélisse et il a montré que l'activité antioxydante de l'eugénol, le carvacrol et le thymol est beaucoup plus élevé que les autres composés tels que l' α -pinène, le *p*-cymène, limonène, terpinène-4-ol et le terpinolène.

Etant donné que nos HE sont riches en α -pinène et β -pinène plus que le sabinene pour l'*E. asclepium*, l'activité antioxydante présentée peut être attribuée à l'effet synergique des composés minoritaires (des traces) ou autre composés capables de réduire le Fer.

V.4.4. TEST DU CUPRAC

Cette méthode peut être utilisée pour la détermination de la capacité antioxydante des huiles essentielles par le complexe Cu^{2+} -Neocuproine (Cu^{2+} -Nc) en tant que réactif oxydant chromogène. La densité de la couleur produite a une relation directe avec la concentration de l'antioxydant. Ce procédé est capable de mesurer à la fois des antioxydants hydrophiles et hydrophobes. Les résultats obtenus dans le tableau 13 sont dose-dépendantes et selon l'analyse statistique, il n'y a pas une différence significative entre les HE étudiées.

Tableau 13: Pourcentage d'inhibition des HE d'*E. asclepium* et de *M. gummifera* en utilisant le test du CUPRAC

Echantillons	Absorbance CUPRAC à 450nm			
	125µg/ml	250µg/ml	500µg/ml	1000µg/ml
<i>E. asclepium</i>	0.213 ±0.00*	0.222 ±0.01*	0.242 ±0.02*	0.403 ±0.04*
<i>M. gummifera</i>	0.253 ±0.01*	0.276 ±0.02*	0.300 ±0.03*	0.373 ±0.01*

* Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais ± SD

Le Tableau 13 résume les résultats de réduction cuprique (CUPRAC) par les huiles essentielles d'*E. asclepium* et *M. gummifera*, les valeurs d'absorbance de 125 à 1000µg/mL étaient proches avec un bon pouvoir réducteur pour *M. gummifera*, cependant à la concentration de 1000µg/mL, on constate que l'huile d'*E. asclepium* présente une absorbance plus élevée ($A= 0.403 \pm 0.04$) que celle de *M. gummifera* ($A= 0.373 \pm 0.01$). Les résultats restent loin d'être comparés aux standards BHT ($A= 2,484 \pm 0,27$) et BHA ($A=2.453 \pm 0,12$) à 100µg/ml. L'ensemble des valeurs d'absorbance obtenues est rapporté dans la figure 31.

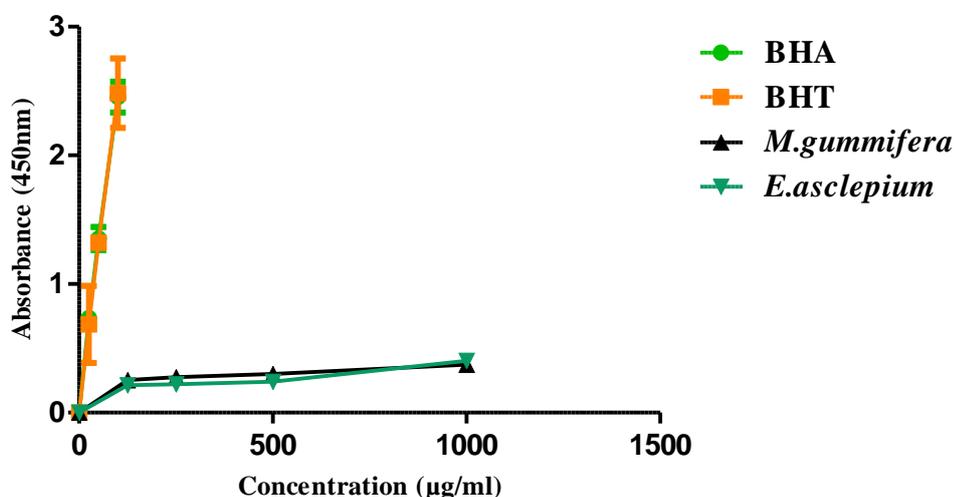


Figure 31: Courbes représentant l'activité antioxydante des HE d'*E. asclepium* et de *M. gummifera*, BHA et BHT en utilisant le test du CUPRAC, $p<0.05$, $n=3$.

Selon la bibliographie, cette méthode est légèrement utilisée par les chercheurs pour tester le pouvoir réducteur des huiles essentielles (Labed. 2015) et en particulier les HE des Apiaceae. Cependant, l'essai est appliqué pour tester l'activité antioxydante des extraits de plusieurs espèces végétales telles que les espèces de *Phyllanthus* (Kumaran et Karunakaran,

2007) et *Isatis floribunda* (Karakoca *et al.*, 2013). Aucune étude n'a été menée sur les espèces *E. asclepium* et *M. gummifera* que ce soit sur les extraits hydro-alcooliques ou sur les huiles essentielles.

Zengin *et al.* (2012) ont étudié l'extrait méthanolique de *Centaurea drabifolia* subsp. *detonsa* à différentes concentrations (0.025, 0.05, 0.1, 0.2 et 0.4mg/ml), les valeurs d'absorbance étaient 0.187, 0.197, 0.299, 0.432 et 0.522, respectivement qui sont faible par rapport à l'acide ascorbique (2.156 à 0.4mg/ml). Aussi, le pouvoir réducteur des ions Cu^{2+} des extraits de *Glycyrrhiza echinata* a été étudié (Çakmak *et al.*, 2012), l'absorbance de l'extrait méthanolique des racines et la partie aérienne de cette espèce était de l'ordre de 0.78 et 0.69, respectivement à la concentration 400 $\mu\text{g/ml}$. Ces résultats sont très bons par rapport à ceux obtenus par nos HE.

En générale et à la limite de nos informations, il n'y a pas des études qui expliquent le pouvoir réducteur CUPRAC des HE des plantes aromatiques et médicinales. De ce fait, on peut dire que l'activité antioxydante CUPRAC révélée par ces HE pourrait être le résultat des effets soit des composés majoritaires, soit des effets synergiques de deux ou de plusieurs composés chimiques pour produire un grand potentiel antioxydant.

CUPRAC peut être étendu de façon plus efficace et utilisé pour tester la capacité antioxydante *in vivo* car la réaction se produit à un $\text{pH}=7$ qui est proche du pH physiologique.

V.4.5. TEST DU TAC (TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY)

Le test de la Capacité Antioxydante Totale mesure le pouvoir antioxydant des échantillons biologiques sous des conditions définies (prescrites par la méthode). Cette méthode est simple, peu couteuse et applicable pour les substances lipophiles ainsi que les substances hydrophiles tels que les extraits des plantes (Prieto *et al.*, 1999).

La capacité antioxydante totale des huiles essentielles d'*E. asclepium* et *M. gummifera* a été étudiée et les résultats sont exprimés en terme d'acide Ascorbique équivalent (mg/g HE) (Tab. 14). La droite d'étalonnage obtenue pour cette méthode à différentes concentrations (100, 200, 300, 400 et 500 $\mu\text{g/ml}$) est représentée dans la figure 32.

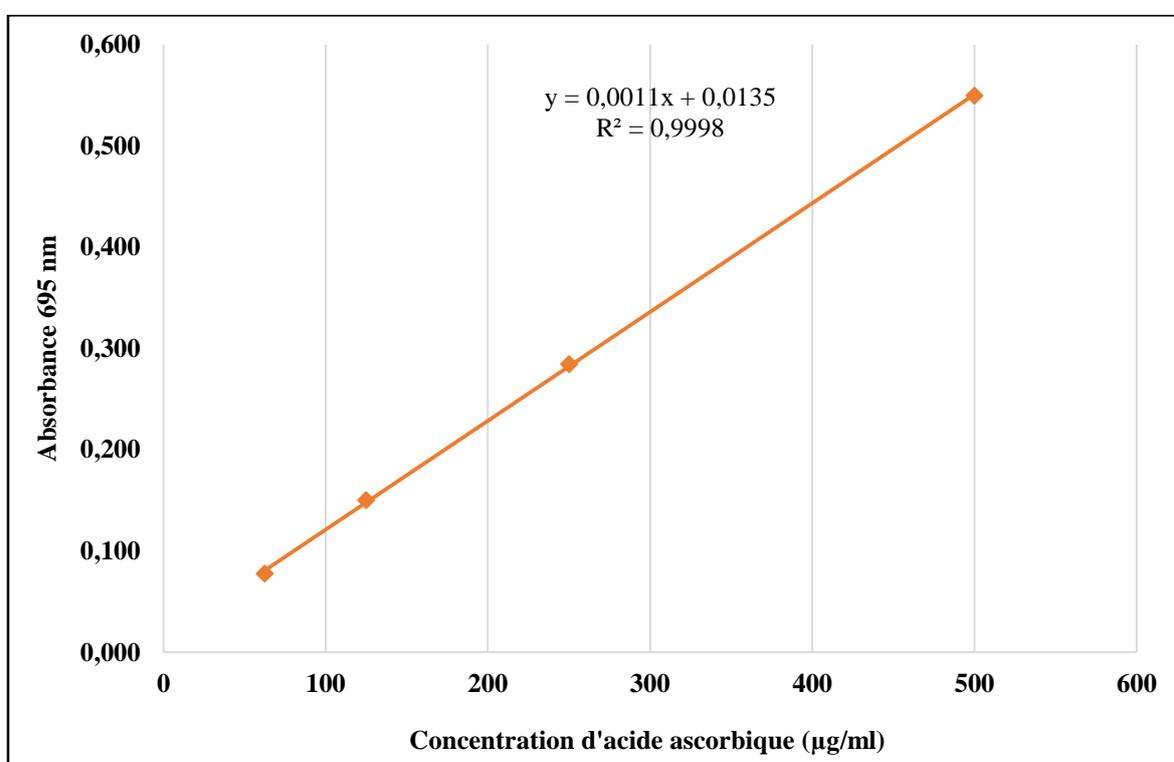
Tableau 14: La capacité antioxydante totale des HE

Echantillons	mg AAE /g HE
<i>E. asclepium</i>	333.18± 57.27*
<i>M. gummifera</i>	279.85 ± 13.98*

*Les valeurs représentent la moyenne de 3 essais ± SD, $p < 0.05$.

La concentration des échantillons = 1mg/ml

La droite de régression linéaire exprime le pourcentage d'inhibition d'acide ascorbique en fonction des différentes concentrations (Fig. 32). Le coefficient de détermination (R^2) est ainsi calculé et il est très proche de 1 ($R^2 = 0.9998$). L'analyse statistique des HE étudiées a montré qu'il n'y a pas une différence significative avec le test de Student, $p < 0.05$.

**Figure 32:** Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

Le dosage est basé sur la réduction de Mo (VI) en Mo (V) par l'analyse de l'échantillon et la formation subséquente d'un complexe vert de phosphate/Mo (V) à pH acide avec une absorption maximale à 695 nm (Prieto *et al.*, 1999).

Le tableau 14 montre que les HE étudiées peuvent réduire le Mo (VI) en Mo (V) dont les valeurs varient entre 333.18 ± 57.27 mg AAE/g HE pour l'HE d'*E. asclepium* et 279.85 ± 13.98 mg AAE/ g HE pour l'HE de *M. gummifera* à la concentration 1mg/ml. Cependant

l'huile essentielle de *Rhanterium adpressum* (fleurs) testée par Hamia *et al.* (2013) a donné une activité antioxydante égale à 0.2 ± 0.01 EE mg/mL PS à la même concentration (1mg/ml) et qui est faible par rapport au standard acide ascorbique (4.9 ± 0.03 mg EE/ml).

D'après la bibliographie, il y a peu d'étude sur l'activité antioxydante totale des HE en utilisant le réactif de molybdène (Mo VI) et surtout des Apiaceae alors que les extraits hydro alcooliques ont été étudiés par plusieurs chercheurs (Zengin *et al.*, 2011; Karakoca *et al.*, 2013; Karakoca *et al.*, 2015). Aktumsek *et al.* (2013) ont étudié l'activité TAC de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de trois espèces de *Centaurea* (Turquie) dont *C. pyrrhoblephara* et *C. antalyens* ont fait partie. L'activité TAC de ces deux espèces était 226.15 ± 18.86 mg AAE/ g Extrait et 248.74 ± 11.00 mg AAE/ g Extrait, respectivement. Aussi, les mêmes auteurs ont utilisé le même test sur l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *Centaurea babylonica* récoltée de la Turquie et ont obtenu un résultat de 125.33 ± 3.76 mg AAE/ g Extrait. Les résultats de toutes les espèces de *Centaurea* sont faibles par rapport à ceux des HE étudiées. Par ailleurs, Meot-Duros *et al.* (2008) ont étudié l'extrait méthanolique d'*Eryngium maritimum* et *Crithmum maritimum* (Apiaceae) et ont montré qu'ils ont aussi une capacité réductrice de Mo(VI).

L'activité antioxydante des HE/extraits des plantes aromatiques est en relation directe avec leur composition chimique. Pour cette raison, la présence d'une haute teneur en composés phénoliques dans les extraits donne une forte capacité antioxydante (Sagdic *et al.*, 2011; Yavaşer *et al.* 2015). Selon notre littérature, il n'y a pas des études qui expliquent la capacité antioxydante totale des HE en utilisant cette méthode, et en même temps il est difficile d'attribuer l'activité à un seul composé puisque un effet de synergie entre les différents composés que ce soit minoritaires ou majoritaires peut avoir lieu.

CONCLUSION
et
PERSPECTIVES

1- Conclusion

Aujourd'hui, il existe un grand souci sur le danger présenté par les produits chimiques utilisés contre les affections médicales en raison de leur action indésirables qui provoquent l'apparition de plusieurs maladies. C'est pour cela que le consommateur commence à prendre conscience de l'importance du retour au naturel.

Au fait, le travail que nous avons entrepris a pour but de valoriser les ressources végétales, ainsi que de trouver de nouveaux produits naturels qui peuvent substituer les produits chimiques utilisés dans le traitement de diverses maladies. Les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales, sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe, ce qui leur donne des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes très intéressantes à mettre en profit pour préserver les produits alimentaires.

Les espèces végétales étudiées dans cette Thèse sont d'origines algériennes, appartenant à la famille des Apiaceae: *Elaeoselinum asclepium* et *Margotia gummifera*. Le choix de ces plantes a été basé sur l'absence ou la rareté des études sur leurs HE et notamment les activités biologiques.

L'extraction des HE de la partie aérienne d'*E. asclepium* et de *M. gummifera* par hydrodistillation a fourni des rendements de 1.20% et 1.76%, respectivement.

Les analyses chromatographiques des HE de ces plantes par CPG/FID et le couplage CPG/SM ont montré que la composition chimique de l'HE d'*E. asclepium* ressemble qualitativement (monoterpènes hydrocarbonés) à celle de *M. gummifera*. L'analyse de l'HE d'*E. asclepium* a permis d'isoler et d'identifier 40 constituants représentant 99.7% de l'huile essentielle dont les constituants majoritaires sont l' α -pinene (43.9%), le sabinene (27.9%) et le β -pinene (16.0%). De même, 30 composés ont été identifiés dans l'HE de *M. gummifera* et qui représentent 96.8% de sa totalité. Cette huile est caractérisée par la dominance des monoterpènes hydrocarbonés (88.9%) dont l' β -pinene (41.6%) et α -pinene (34.0%) sont les composés majoritaires plus que le myrcene (3.5%).

Les tests de l'activité antimicrobienne réalisés *in vitro* ont permis d'évaluer l'activité des substances volatiles de la partie aérienne des espèces végétales sur des bactéries à Gram (+) et à Gram (-) par trois méthodes, et sur trois champignons par la méthode des disques. Dans l'ensemble, l'huile d'*E. asclepium* est plus efficace que celle de *M. gummifera*.

Les résultats, obtenus par la méthode de diffusion des disques, ont montré que la souche bactérienne *S. aureus* a été la plus sensible vis-à-vis l'HE d'*E. asclepium* avec un diamètre d'inhibition de 13mm quant à l'huile de *M. gummifera*, elle a été efficace contre la souche *S. aureus* résistant à la méthicilline avec un diamètre de 12mm à la même concentration (1/2). L'effet antifongique exercé par les deux HE a permis de révéler une activité moyenne sur *C. albicans* avec un diamètre qui varie entre 13mm pour l'huile d'*E. asclepium* et 15mm pour celle de *M. gummifera* (concentration 1/2). Cependant, les résultats obtenus par la méthode des puits, ont été généralement faibles allant de la résistance jusqu'à 10mm de diamètre excepté la souche *E. coli* qui a donné un diamètre de 12mm à l'HE d'*E. asclepium*.

L'application de la technique de microatmosphère pour tester l'effet antibactérien de la phase vapeur a montré que les deux HE sont actives sur les bactéries à Gram (+) et inactives sur celles à Gram (-). L'huile d'*E. asclepium* a présenté une forte activité sur *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633 et *S. aureus* résistant à la méthicilline ATCC 43300, cependant l'huile de *M. gummifera* n'a été active que sur les souches *B. subtilis* ATCC 6633 et *S. aureus* résistant à la méthicilline ATCC 43300 avec des zones d'inhibitions inférieures.

Plus que l'effet antimicrobien, nous avons estimé le pouvoir antioxydant des HE en utilisant la méthode de détermination de l'oxydation du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, le pouvoir réducteur du Fer, la méthode du β -carotène, le pouvoir réducteur des ions de cuivres ainsi que le test de la capacité antioxydante totale par réduction de Mo(VI). Le test de piégeage de radicale libre DPPH a montré que l'effet antioxydant de l'huile d'*E. asclepium* est proche de celui de l'huile de *M. gummifera* par contre ils sont loin d'être comparés avec celui du BHA. Les résultats du pouvoir réducteur des HE ont montré qu'elles sont capables de réduire les ions de fer, de cuivre et de Mo (VI) avec des valeurs proches mais faibles par rapport au standard. Aussi, l'activité antioxydante des essences a été étudiée par la méthode de β -carotène et a montré que l'HE d'*E. asclepium* et l'huile de *M. gummifera* sont capables de neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir le blanchiment du β -carotène d'une manière significative.

Enfin, l'ensemble des résultats obtenus *in vitro* indiquent que les HE étudiées peuvent être considérées comme agents conservateurs en empêchant la prolifération de certaines bactéries et en inhibant l'oxydation des produits alimentaires.

2- Perspectives

Le présent travail nous a permis de contribuer à la valorisation de deux espèces appartenant à la famille des Apiaceae, *Elaeoselinum asclepium* et *Margotia gummifera* par le biais de l'étude phytochimique, l'activité antimicrobienne ainsi que l'activité antioxydante. Cette étude nécessite d'être complétée par un certain nombre de travaux dont on propose de:

- Tester d'autres méthodes d'extraction pour dévoiler leur influence sur le rendement et la composition chimique et donc les capacités biologiques.

- Continuer l'étude phytochimique des deux espèces étudiées afin d'isoler et de purifier les constituants chimiques responsables de leurs activités biologiques.

- Etudier l'activité antimicrobienne et antioxydante des composés majoritaires et les comparer avec celles des HE.

- Continuer l'étude de l'activité antifongique des HE en testant l'effet de leur phase volatile en vue de les utiliser comme des infectants de l'air contaminée des hôpitaux.

- Etudier d'autres activités biologiques des huiles essentielles pour une meilleure connaissance de leurs propriétés et donc un bon usage.

- Essayer d'établir un partenariat entre notre laboratoire de recherche et les établissements industriels qui s'intéressent à la phytochimie.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- About El-Soud N. H., Deabes M. M., About El-Kassem L. T. and Y. Khalil M. (2012). Antifungal Activity of Family Apiaceae Essential Oils. *J Appl Sci Res.* 8 (10): 4964-4973.
- Adams R. P. (1995). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectroscopy. 2nd edition Carol Stream: Allured Publishing Corporation, Etats-Unis, 469p.
- Adams R. P. (2001). Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy. 3rd edition Carol Stream: Allured Publishing Corporation, États-Unis, 456 p.
- Ahamet S. (2003). Etudes Phytochimiques et des Activités Biologiques de *Balanites aegyptica* (Balanitaceae). Thèse de Doctorat en Pharmacie, Bamako, 117 p.
- Aidi Wannes W., Mhamdi B., Sriti J., Ben Jmnia M., Ouchikh O., Hamdaoui G., Kchouk M.E. and Marzouk B. (2010). Antioxidant Activities of the Essential Oils and Methanol Extracts from Myrtle (*Myrtus communis* var. *italica*) Leaf, Stem and Flower. *Food Chem Toxicol.* 48 (5): 1362-1370.
- Akhlaghi H. (2008). The Essential Oils from Flowers, Stems and Leaves of *Ferulago angulate* from Iran. *Chem Nat Compd.* 44 (3): 396-397.
- Akrout A., El Jani H., Amouri S. and Neffati M. (2010). Screening of Antiradical and Antibacterial Activities of Essential Oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba alba* Asso and *Thymus capitatus* Hoff. et Link. Growing Wild in the Southern of Tunisia. *Rec Res Sci Tech.* 2 (1): 29-39.
- Akssira M., Anaya J., El Hanbali F., Grande M., Grande C., Martiáñez J., Mellouki F., Raposo C. and Torres P. (2004). Essential Oils from *Elaeoselinum fontanesii* Boiss (Umbelliferae). 35th International Symposium on Essential Oils (ISEO, 2004), Italy.
- Aktumsek A., Zengin G., Guler G. O., Cakmak Y. S. and Duran A. (2013). Antioxidant Potentials and Anticholinesterase Activities of Methanolic and Aqueous Extracts of Three Endemic *Centaurea* L. Species. *Food Chem Toxicol.* 55: 290-296.
- Amarti F., Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Aarab L., El Ajjouri M. et Chaouch A. (2010). Composition Chimique et Activité Antimicrobienne des Huiles Essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Biotechnol Agron Soc Environ.* 14 (1): 141-148.

- Amigues S. (2004). Le *Silphium* - État de la Question. *Journal des savants*. 2 (1): 191-226.
- Apak R., Güçlü K., Ozyürek M. and Karademir S. E. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *J Agric Food Chem*. 52 (26): 7970-7981.
- Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A. et Witier P. (1995). Manuel Pratique de Chromatographie en Phase Gazeuse. 4^{ème}ed. Masson, Paris, 700 p.
- Arras G. and Usai M. (2001). Fungitoxic Activity of 12 Essential Oils Against Four Post Harvest *Citrus* pathogens: Chemical Analysis of *Thymus capitatus* Oil and its Effect in Subatmospheric Pressure Conditions. *J Food Prot*. 64: 1025-1029.
- Askari F., Sefidkon F., Teimouri M. and Nanaei S. Y. (2009). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Pimpinella puberula* (DC.) Boiss. *J Agr Sci Tech*. 11(4): 431-438.
- Aslan A., Güllüce M., Sökmen M., Adigüzel A., Sahin F. and Özkan H. (2006). Antioxidant and antimicrobial properties of lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Everinia divaricata*, *Everinia prunastri* and *Neofuscella pulla*. *Pharm Biol*. 44(4): 247-252.
- Association Française de Normalisation. (2000). Huiles essentielles. Tome 2, Monographies Relatives aux Huiles Essentielles. 6^{ème} édition, Paris. 471p.
- Audigie C. L., Dupon G. et Zonggain F. (1995). Principes des Méthodes D'analyse Biochimique. Tome 1, 2^{ème} Ed. Doin, Paris, 220 p.
- Ayachi-Bendiabdellah. (2014). Etudes Chimique et Biologique des Extraits de Trois *Daucus* (*D. crinitus*, *D. muricatus* et *D. carota* ssp *hispanicus*) de la Région de Tlemcen. Thèse de Doctorat en Sciences. Option : Chimie Organique Appliquée, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen. 262p.
- Bach D., Mascré M. et Deysson G. (1979). Organisation et Classification des Plantes Vasculaires, Cours de Botanique Générale Quatrième Série. Tome 2, Ed. SEDES, Paris, 540 p.
- Bader A., Cioni P. L. and Flamini G. (2010). GC-MS Analysis of the Essential Oils of Ripe Fruits, Roots and Flowering Aerial Parts of *Elaeoselinum asclepium* subsp. *Meoides* Growing in Sicily. *Nat Prod Commun*. 5 (7): 1111-1114.

- Bajpai V. K. and Kang S. C. (2010). Antifungal Activity of Leaf Essential Oil and Extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *J Am Oil Chem Soc.* 87 (3): 327-336.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. (2008). Biological Effects of Essential Oils - A Review. *Food Chem Toxicol.* 46 (2): 446-475.
- Baser K. H. C. and Buchbauer G. (2010). Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC, USA, 994p.
- Bektas Tepe, H. Askin Akpulat and Munevver Sokmen. (2011). Evaluation of the Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oils of *Peucedanum longifolium* (Waldst. & Kit.) and *P. palimbioides* (Boiss.). *Rec. Nat. Prod.* 5 (2): 108-116.
- Belaiche P. (1979). Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome 1: l'Aromatogramme. Ed. Maloine S. A., Paris, 201p.
- Béliveau R. et Gingras D. (2005). Les Aliments Contre le Cancer. Ed. Trécarré, Outremont (Montréal, Canada), p. 264.
- Bellakhdar J. (1997). La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle. Médecine arabe Ancienne et Savoirs Populaires – Saint Etienne. Ed. Ibis Press, Paris, 764 p.
- Ben Marzoug H. N., Romdhane M., Lebrihi A., Mathieu F., Couderc F., Abderraba M., Khouja M. L. and Bouajila J. (2011). *Eucalyptus oleosa* Essential Oils: Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Oils from Different Plant Parts (Stems, Leaves, Flowers and Fruits). *Molecules.* 16 (2); 1695-1709.
- Bencheqroun H. K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A. et Chaouch A. (2012). Activité Antimicrobienne des Huiles Essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, Plante Endémique du Maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.* 81: 4-21.
- Bendiabdellah A., Dib M. El A., Djabou N., Allali H., Tabti B., Muselli A. I. and Costa J. (2012). Biological Activities and Volatile Constituents of *Daucus muricatus* L. from Algeria. *Chem Cent J.* 6 (1): 48.
- Benzie I. F. and Strain J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power: the FRAP Assay. *Anal Biochem.* 239 (1): 70-76.
- Berche P., Gaillard J-L. et Simonet M. (1988). Bactériologie: Bactéries des Infections Humaines. Ed. Médecine-Sciences Flammarion, Paris, 660 p.

- Berghe V. A. and Vlietinck A. J. (1991). Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agents from 568 Higher Plants. *Meth Plant Biochem.* 6:47-68.
- Bernadet M. (2000). Phyto-Aromathérapie Pratique, Plantes Médicinales et Huiles Essentielles, Dictionnaire Thérapeutique de 530 Affections Courantes. Ed. Dangles, France, 376 p.
- Botineau M. (2010). Botanique Systématique et Appliquée des Plantes à Fleurs, Ed. Tec & Doc, Paris, 1335 p.
- Bouderdara N. (2013). Séparation et Détermination de Structures des Métabolites Secondaires de *Cachrys libanotis* L. Thèse de Doctorat Sciences. Option: Phytochimie, Université Mentouri de Constantine, Algérie, 216 p.
- Boughendjioua H. (2015). Les Plantes Médicinales Utilisées pour les Soins de la Peau. Composition Chimique, Activité Antioxydante et Antimicrobienne des Huiles Essentielles de *Citrus limon*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Thymus numidicus*. Thèse de Doctorat Science, Spécialité : Biologie Végétale, Université Badji Mokhtar, Annaba, 188p.
- Boukhatem M. N., Kameli A-Elkrim. and Saidi F. (2013). Essential Oil of Algerian Rose-Scented Geranium (*Pelargonium graveolens*): Chemical Composition and Antimicrobial Activity Against Food Spoilage Pathogens. *Food Control.* 34 (1): 208-213.
- Boukhatem M. N., Ferhat M. A., Kameli A-Elkrim, Saidi F., Taibi H. and Teffahi D. (2014). Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse. *International Journal of Innovation and Applied Studies (IJIAS).* 8 (4): 1418-1431.
- Boullard B. (2001). Plantes Médicinales du Monde, Réalités et Croyances, Ed. *ESTEM*, Parie, 636p.
- Boussoulim N. (2014). Activités Biologiques de Plantes Médicinales: *Anchusa azurea* Mill. et *Globularia alypum* L. Thèse Doctorat Sciences, Option: Microbiologie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 136p.
- Boutakiout A. (2015). Etude Physico-Chimique, Biochimique et Stabilité d'un Nouveau Produit: Jus de Cladode du Figuier de Barbarie Marocain (*Opuntia ficus-indica* et

- Opuntia megacantha*). Thèse de Doctorat, Sciences Agronomiques, Université d'Angers, France, 212p.
- Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M. et Chaabouni M. M. (2008). Composition Chimique et Activités Antioxydante, Antimicrobienne et Insecticide de l'Huile Essentielle de *Juniperus phoenicea*. *J Soc Chim Tunis*. 10: 119-125.
- Braga P. C., Dal Sasso M., Culici M., GaSastri L., Marceca M. X. and Guffanti E. E. (2006). Antioxidant Potential of Thymol Determined by Chemiluminescence Inhibition in Human Neutrophils and Cell-Free Systems. *Pharmacology*. 76 (2): 61-68.
- Brullo S. Minissale P. and Terrasi M. C. (2003). *Elaeoselinum tunetanus* (Umbelliferae) a New Species from Tunisia. *Boccone*. 16 (2): 573-578.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, Plantes Médicinales. Tec et Doc, Lavoisier 3^{ème} édition, Paris, 1120p.
- Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Tec et Doc, Lavoisier, 4^{ème} édition, Paris. 1292 p.
- Burits M. and Bucar F. (2000). Antioxidant Activity of *Nigella sativa* Essential Oil. *Phytother Res*. 14 (5): 323-328.
- Burt S. (2004). Essential Oils: their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods: a Review. *Int J Food Microbiol*. 94: 223-253.
- Butterfield D. and Lauderback C. (2002). Lipidperoxidation and Protein oxidation in Alzheimer's Disease Brain: Potential Causes and Consequences Involving Amyloid Beta-Peptide Associated Free Radical Oxidative Stress. *Free Radic Biol Med*. 32 (11):1050-1060.
- Çakmak Y. S., Aktumsek A. and Duran A. (2012). Studies on Antioxidant Activity, Volatile Compound and Fatty Acid Composition of Different Parts of *Glycyrrhiza echinata* L. *EXCLI J*. 11:178-187.
- Cao L., Si J. Y., Liu Y., Sun H., Jin W., Liz Z., Zhaoh X. H. and Pan R. L. (2009). Essential Oil Composition, Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Masla chinensis* Maxim. *Food Chem*. 115 (3): 801-805.

- Carretero M. E., Ortega T. et Rouzet M. (1988). A Propos de la Composition Chimique de l'Huile Essentielle d'*Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol subsp. *Millefolium* (Boiss.) Garcia Martin et Silvestre. *J Med Plantes Phytother.* 22 (2): 88-91.
- Carson C. F. and Riley T. V. (1995). Antimicrobial Activity of the Major Components of the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia*. *J Appl Bacteriol.* 78 (3): 264-269.
- Carson C. F., Mee B. J. and Riley T. V. (2002). Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. *Antimicrob Agents Chemother.* 46 (6): 1914-1920.
- Celimene C. C., Micales J. A., Ferge L. and Young RA. (1999). Efficacy of Pinosylvins Against White Rot and Brown Rots Fungi. *Holzforschung.* 53 (5): 491-497.
- Chalchat J. C., Garry R. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. (1997). Correlation Between Chemical Composition and Antimicrobial Activity. VI. Activity of Some African Essential Oils. *J Essent Oil Res.* 9 (1): 67-75.
- Chalchat J. C., Michet A. and Pasquier B. (1998). Study of Clones of *Salvia officinalis* L. Yields and Chemical Composition of Essential Oil. *J Flavour Fragr.* 13 (1): 68-70.
- Chalchat J. C., Chiron F., Carry Rp., Lacoste J. and Sautou V. (2000). Photochemical Hydroperoxidation of Terpenes. Antimicrobial Activity of α -pinene, β -pinene and Limonene Hydroperoxides. *J Essent Oil Res. (JEOR).* 12 (1): 125-134.
- Chemat F. (2009). Essential Oils and Aromas: Green Extractions and Applications. Dehradun: Har Krishan Bhalla & Sons, India, 311p.
- Chizzola R. (2010). Composition of the Essential Oil from *Daucus carota* ssp. *Carota* Growing Wild in Vienna. *J Essent oil Bear Pl (JEORP).* 13 (1); 12-19.
- Clarke S. (2008). Chemistry of Essential Oil. 1st ed. Elsevier. British, 302p.
- Clevenger J. F. (1928). Apparatus for Volatile Oil Determination, Description of New Type. *Am Perfum Essent Oil Rev.* 467-503.
- Conner D. E. and Beuchat L. R. (1984a). Effects of Essential Oils from Plants on Growth of Food Spoilage Yeast. *J Food Sci.* 49 (2): 429-434.
- Conner D. E. and Beuchat L. R. (1984b). Sensitivity of Heat-Stressed Yeast to Essential Oils of Plant. *Appl Environ Microbiol.* 47 (2): 229-233.

- Constantin E., Traldi P., Favretto D. et Schnell A. (1996). Spectrométrie de Masse, 2^{ème} édition Tec & Doc Lavoisier, Paris, 280p.
- Cosentino S., Tuberoso C. I. G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E. and Palmas F. (1999). *In Vitro* Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Sardinian Thymus Essential Oils. *Lett Appl Microbiol.* 29 (2): 130-135.
- Cox S. D., Mann C. M., Markham J. L., Gustafson J. E., Warmington J. R. and Wyllie S. G. (2001). Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil. *Molecules.* 6: 87-91.
- Cristiani M., D'Arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M. G. and Micieli D. (2007). Interaction of Four Monoterpenes Contained in Essential Oils with Model Membranes: Implications for their Antibacterial Activity. *J Agric Food Chem.* 55 (15): 6300-6308.
- Cronquist A. (1981). An Integrated System of Classification of flowering plants, Columbia university press, New York.
- Cronquist A. (1988). The evolution and classification of flowering plants, the New York, Botanical Garden, New York.
- Davies N. W. (1990). Gas Chromatographic Retention Indexes of Monoterpenes and Sesquiterpenes on Methyl Silicone and Carbowax 20M Phases. *J Chromatogr.* 503 (1): 1-24. (margo : analyse)
- De Billerbeck G. (2000). Activité Fongique de l'Huile Essentielle de *Cymbopogon nardus* sur l'*Aspergillus niger*. Evaluation d'un Bioréacteur pour l'Etude de l'Effet Inhibiteur des Substances Volatiles en Phase Vapeur. Faculté des Sciences Pharmaceutiques, Institut National Polytechnique de Toulouse, 236p.
- De Billerbeck V. G., Roques C. G., Bessière J. M., Fonvieille J. L. and Dargent R. (2001). Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson Essential Oil on the Growth and Morphogenesis of *Aspergillus niger*. *Can J Microbiol.* 47 (1): 9-17.
- De Pascual Teresa J., Grande C., Moran J. R. and Grande M. (1984). A Revised Structure for Diterpenoid Magydardiendiol. *Chem Lett.* 13 (2): 247-250.
- Degryse A. C., Delpla I. et Voinier M. A. (2008). Risques et Bénéfices Possibles des Huiles Essentielles. Atelier Santé Environnement, Environnement des Ingénieurs du Génie Sanitaire (IGS), EHESP, France, 87p.

- Demirci B., Kosar M., Demirci F., Dinç M. and Baser K. H. C. (2007). Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. *Food Chem.* 105 (4): 1512-1517.
- Denecke J., Fiedler K., Hacker-Klom U., Mölenkamp G., Jürgens H. and Wolff J. E. (1997). Multiple Drug-Resistant C6 Glioma Cells Cross-Resistant to Irradiation. *Anticancer Res.* 17 (6D): 4531-4534.
- De Tournefort Pitton J. (1719). De Rei herbariae à Paris. Tome 1, p. 322. In: Amigues S. (2004). Le *Silphium* - État de la Question. *Journal des savants.* 2 (1): 191-226.
- Djarri L., Medjroubi K., Akkal S., Elomri A., Seguin E. and Vérité P. (2006). Composition of the Essential Oil of Aerial Parts of an Endemic Species of the Apiaceae of Algeria, *Daucus reboudii* Coss. *J Flavour Fragr.* 21 (4): 647-649.
- Djarri L., Medjroubi K., Akkal S., Elomri A. El-H., Seguin E., Groult M.-L. and Vérité P. (2008). Variability of Two Essential Oils of *Kundmannia sicula* (L.) DC., A Traditional Algerian Medicinal Plant. *Molecules.* 13 (4): 812-817.
- Djarri L. (2011). Contribution à l'Etude des Huiles Essentielles et des Métabolites Secondaires de Trois Plantes Algériennes de la Famille des Apiaceae; *Daucus reboudii* Coss. ex Batt. & Trab., *Kundmannia sicula* (L.) DC. et *Elaeoselinum thapsioides* Maire. Thèse de Doctorat Science, Chimie Organique, Université de Constantine, Algérie, 267p.
- Dorman H. J. D. and Deans S. G. (2000). Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *J Appl Microbiol.* 88 (2): 308-316.
- Dorman H. J. D., Figueiredo A. C., Barroso J. G. and Deans S. G. (2000). *In Vitro* Evaluation of Antioxidant Activity of Essential Oils and their Components. *Flavour Frag J.* 15: 12-16.
- Drude O. (1898). Umbelliferae, in ENGLER-PRANTL, *Natürliche Pflanzenfamilien*, III, 8.
- Dryden M.S., Dailly S. and Crouch M. (2004). A Randomized Controlled Trial of Tea Tree Topical Preparations Versus a Standard Topical Regimen for the Clearance of MRSA Colonization. *J Hosp Infect.* 56 (4): 283-286.
- Duke J. (2016). Phytochemical and Ethnobotanical Databases. Agricultural Research Service of Department of Agriculture, (disponible <https://phytochem.nal.usda.gov/>) consulté le 14/04/2016)

- Duval L. (2012). Les Huiles Essentielles à l'Officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Rouen, France, 155p.
- Edeas J. A. (2006). Les Antioxydants. PepsiCo France I Place de la Boule 92024 Nanterre cedex. In: Belkhiri F. et Baghiani A. (2017). Plantes Médicinales et Activités Antioxydantes et Antibactériennes. Etude de de *Tamus communis* et *Carthamus caeruleus*. Ed. Universitaires Européenne, 150p.
- Edris A. E. (2007). Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and their Individual Volatile Constituents. A Review, *Phytother Res.* 21 (4): 308-323.
- Ekoumou C. (2003). Etudes Phytochimiques et Pharmacologiques de 5 Recettes Traditionnelles Utilisées dans le Traitement des Infections Urinaires et de la Cystite. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Bamako, 158p.
- El Haib A. (2011). Valorisation de Terpènes Naturels Issus de Plantes Marocaines par Transformations Catalytiques. Thèse de Doctorat. Discipline ou Spécialité: Chimie Organique et Catalyse. Université de Toulouse III - Paul Sabatier, France, 195p.
- El Kolli M. (2016). Composition Chimique et Activité Biologiques des Huiles Essentielles de Quelques Apiacées: *Carum montanum* Benth. et Hook. Et *Daucus gracilis* Stem. Thèse de Doctorat Science. Spécialité Microbiologie, Université de Sétif, Algérie, 125p.
- El Kolli M., Laouer H., El Kolli H., Akkal S. and Sahli F. (2016). Chemical Analysis, Antimicrobial and Anti-Oxidative Properties of *Daucus gracilis* Essential Oil and its Mechanism of Action. *Asian Pac J Trop Biomed.* 6 (1): 8-15.
- El Ouariachi E., Lahhit N., Bouyanzer A., Hammouti B., Paolini J., Majidi L., Desjobert J-M. and Costa J. (2014). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils and Solvent Extracts of *Foeniculum vulgare* Mill. from Morocco. *J Chem Pharm Res.* 6 (4):743-748
- Emberger L. (1939). Aperçu Général sur la Végétation du Maroc. Vol. I, Hans Huber, Berne, Suisse, 118p.
- Es-Safi N., Kollmanna A., Khlific S. and Ducrot P. H. (2006). Antioxidative Effect of Compounds Isolated from *Globularia alypum* L. Structure–Activity Relationship. *J Nat Prod. LWT.* 40 (7): 1246-1252.

- Evergetis E., Michaelakis A., Kioulos E., Koliopoulos G. and Haroutounian S. A. (2009). Chemical Composition and Larvicidal Activity of Essential Oils from Six Apiaceae Family Taxa Against the West Nile Virus Vector *Culex pipiens*. *Parasitol Res.* 105 (1): 117-124.
- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C. (2008). Phenolic Composition of *Cynara cardunculus* L. Organs, and their Biological Activities. *C. R. Biologies.* 331 (5): 372-379.
- Favier A. (2003). Le Stress Oxydant: Interet Conceptuel et Expérimental dans la Compréhension des Mécanismes des Maladies et Potentiel Thérapeutique. Actualité Chimique. Mécanismes Biochimiques, Ed. Société Française de Chimie, Paris, pp. 108-115.
- Fazeli M. R., Amin G., Ahmadian-Attari M. M., Ashtiani H., Jamalifar H. and Samadi N. (2007). Antimicrobial Activities of Iranian Sumac and Avishane Shirazi (*Zataria multiflora*) Against Some Food-Borne Bacteria. *Food Control.* 18 (6): 646-649.
- Fellah S., Romdhane M. et Abderraba M. (2006). Extraction et Etude des Huiles Essentielles de la *Salvia officinalis* L. Cueillie dans Deux Régions Différentes de la Tunisie. *J Soc Alger Chim.* 16 (2): 193-202.
- Feng W. and Zheng X. (2007). Essential Oils to Control *Alternaria alternata* *In Vitro* and *In Vivo*. *Food control.* 18(9): 1126-1130.
- Fereshteh E., Yousefzadi M., Azizian D., Sonboli A. and Salehi P. (2005). Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of *Diplotaenia damavandica*. *Z. Naturforsch.* 60c: 821-825.
- Ferrari J. (2002). Contribution à la Connaissance du Métabolisme Secondaire des Thymelaeaceae et Investigation Phytochimique de l'une d'elles: *Gnidia involucrata* Steud. ex A. Rich. Thèse de Doctorat, Institut de Pharmacie et Phytochimie, Lausanne. 242p.
- Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. G. and Scheffer J. J. C. (2008). Factors Affecting Secondary Metabolites Production in Plants: Volatile Components and Essential Oils. *J Flavour Frag.* 23 (4): 213-226
- Flamini G., Cioni P. L., Maccioni S. and Baldini R. (2007). Composition of the Essential Oil of *Daucus gingidium* L. ssp. *gingidium*. *Food Chem.* 103 (4): 1237-1240

- Flamini G., Smaili T., Zellagui A., Gherraf N. and Cioni P. L. (2013). Effect of Growth Stage on Essential Oil Yield and Composition of *Daucus sahariensis*. *Chem Biodivers.* 10 (11): 2014-2020.
- Franchomme P., Jollois R., Penoel D. et Mars J. (1990). L'aromathérapie Exactement. Encyclopédie de l'Utilisation Thérapeutique des Huiles Essentielles. Fondements, Démonstrations, Illustrations et Applications d'une Science Médicale Naturelle. Ed. Roger Jollois, Limoges (France), 446p.
- Frankel E. N., Huang S.-W., Kanner J. and German J. B. (1994). Interfacial Phenomena in the Evaluation of Antioxidants: Bulk Oils vs. Emulsions. *J Agric Food Chem.* 42 (5):1054-1059.
- Frankel E. N. and Meyer A. S. (2000). The Problems of Using One-Dimensional Methods to Evaluate Multifunctional Food and Biological Antioxidants. *J Sci Food Agric.* 80 (13): 1925-1941.
- Friedman M., Henika P. R. and Mandrell R. E. (2002). Bactericidal Activities of Plant Essential Oils and Some of their Isolated Constituents Against *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*. *J Food Protect.* 65 (10): 1545-1560.
- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M. B., Taghizadeh M., Astaneh S. A. and Rasooli I. (2007). Chemical and Biological Characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils. *Food Chem.* 102 (3): 898-904.
- Gangoué-Piéboji J., Eze N., Djintchui A. N., Ngameni B., Tsabang N., Pegnyemb D. E., Biyiti L., Ngassam P., Koulla-Shiro S. and Galleni M. (2009). The *In-Vitro* Antimicrobial Activity of Some Traditionally Used Medicinal Plants Against Beta-Lactam-Resistant Bacteria. *J Infect Dev Ctries.* 3 (9): 671-680.
- Gao B., Chen Y., Zhang M., Xu Y. and Pan S. (2011). Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Pericarpium Citri Reticulatae* Essential Oil. *Molecules.* 16 (5): 4082-4096.
- Garcia Martin F. and Silvestre S. (1983). *Distichoselinum* Garcia Martin and Silvestre New Genus of Umbelliferae. *Lagasalia.* 12(1): 99-107.
- Garcia Martin F. and Silvestre S. (1984). Taxonomic Notes on the Flora of Western Andalusia n. 118. *Lagasalia.* 12 (2): 265-266.

- Garcia Martin F. and Silvestre S. (1985). Revision of the Genus *Elaeoselinum* Koch ex DC., *Margotia* Boiss. And *Distichoselinum* Garcia Martin & Silvestre (Umbelliferae). *Lagascalia*. 13 (2): 205-237.
- Valdes B., Talavera S. and Galiano F.E. (eds.). (1987). Vascular Flora of Western Andalucia. Tome 2, Ed. Ketres, Barcelona, p. 326
- Gardner P. (1997). Superoxide-Driven Aconitase FE-S Center Cycling. *Biosci Rep*. 17(1): 33-42.
- Garneau F. X. (2004). Le Matériel Végétal et les Huiles Essentielles. Huiles Essentielles: de la Plante à la Commercialisation - Manuel Pratique. LASEVE-UQAC, Chicoutimi, Québec, pp. 1-16.
- Gaudy C. et Buxeraud J. (2005). Antibiotiques: Pharmacologie et Thérapeutique. Ed. Elsevier Masson, 269p.
- Geiger J. L. (2005). The Essential Oil of Ginger, *Zingiber officinale*, and Anaesthesia. *Int J Aromather*. 15 (1): 7-14.
- Gersbach P. V. and Reddy N. (2002). Non-Invasive Localization of Thymol Accumulation in *Carum capticum* (Apiaceae) Fruits by Chemical Shift Selective Magnetic Resonance Imaging. *Ann Bot*. (90): 253-257.
- Ghestem A., Seguin E., Paris M. et Orecchioni A. M. (2001). Le Préparateur en Pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. Tec et Doc, Paris, 273p.
- Giordani R. et Kaloustian J. (2006). Action Anticandidosique des Huiles Essentielles: leur Utilisation Concomitante avec des Médicaments Antifongiques. *J Phytotherapie*. 4 (3): 121-124.
- Glisic S. B., Milojevic S. Z., Dimimitrijevic S. L., Orlovic A. M. and Skala D. (2007a). Antimicrobial Activity of the Essential Oil and Different Fractions of *Juniperus communis* L. and a Comparison with Some Commercial Antibiotics. *J Serb Chem Soc*. 72 (4): 311-320.
- Glisic S. B., Misic D. R., Stamenic M. D., Zizovic I. T., Asanin R. M. and Skala D. U. (2007b). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carrot Fruit Essential Oil: Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Food Chem*. 105 (1): 346-352.

- Gocho S. (1991). Antimicrobial Mechanism of Aroma Chemical Vapors. *J Antibact Antifung agents*. 19: 511-513.
- Gomes A., Fernandes E., Lima J. L. F. C., Mira L. and Corvo M. L. (2008). Molecular Mechanisms of Antiinflammatory Activity Mediated by Flavonoids. *Curr Med Chem*. 15 (16): 1586-1605.
- Goni P., Lopez P., Sanchez C., Gomez-Lus R., Becerril R. and Nerin C. (2009). Antimicrobial Activity in the Vapor Phase of a Combination of Cinnamon and Clove Essential Oils. *Food Chem*. 116: 982-989.
- Goodarzi S., Hadjiakhoondi A., Yassa N., Khanavi M. and Tofighi Z. (2016). Essential Oils Chemical Composition, Antioxidant Activities and Total Phenols of *Astrodaucus persicus*. *Iran J Basic Med Sci*. 19 (2):159-165.
- Grande M., Mancheño B. and Sanchez M. J. (1989). Elasclepiol and Elasclepic Acid, Beyerane Diterpenoids from *Elaeoselinum asclepium*. *Phytochem*. 28 (7): 1955-1958.
- Grande M., Mancheno B. and Sanchez M. J. (1991b). Elasclepiol and other Tetracyclic Diterpenoids from *Elaeoselinum asclepium*. *Phytochem*. 30 (6): 1977-1982.
- Grande M., Moran J. R., Macias M. J. and Mancheno B. (1993). Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Some Tetracyclic Diterpenoids Isolated from *Elaeoselinum* species. *Phytochem Anal*. 4 (1): 19-24.
- Grosso C., Teixeira G., Gomes I., Martins E. S., Barroso J. G., Pedro L. G. and Figueiredo A. C. (2009). Assessment of the Essential Oil Composition of *Tornabenea annua*, *Tornabenea insularis* and *Tornabenea tenuissima* Fruits from Cape Verde Islands. *Biochem Syst Ecol*. 37 (4): 474-478.
- Guignard J. L., Cosson L. et Henry M. (1985). Abrégé de Phytochimie. Vol 1, Ed. Masson, Paris, 224 p.
- Guignard J. L. (2000). Biochimie Végétale. 2^{ème} Ed. De l'abrégé Dunod, Paris, 274 p.
- Gündüz G. T., Gonül S. A. and Karapınar M. (2010). Efficacy of Oregano Oil in the Inactivation of *Salmonella typhimurium* on Lettuce. *Food Control*. 21 (4): 513-517.
- Gutiérrez Bustillo M., Hernández-Agero T. O. and García Martín F. (1986). Contribution to the Anatomical Study of the genera *Elaeoselinum* Koch ex DC., *Margotia* Boiss. And

- Distichoselinum* García Martín & Silvestre (Umbelliferae), in the Iberian Peninsula. *Lazaroa*, 9: 69-82.
- Gyorgyi H., Laszlo Gy S. and Éva H. (2006). Essential Oil Composition of Three Cultivated *Thymus* Chemotypes from Hungary. *J Essent Oil Res.* 18 (3): 315-317.
- Haddouchi F., Lazouni H., Ahammer K. A., Carson C. F. and Riley T. V. (1999). Antimicrobial Activity of Essential Oils and Other Plant Extracts. *J Appl Microbiol.* 86: 985-990.
- Hailu T., Endris M., Kaleab A. and Tsige G. M. (2005). Antimicrobial Activities of Some Selected Traditional Ethiopian Medicinal Plants Used in the Treatment of Skin Disorders. *J Ethnopharmacol.* 100 (1-2): 168-175.
- Halliwell B., Aeschbach R., Löliger J. and Aruoma O. I. (1995). The Characterization of Antioxidants. *Food Chem Toxicol.* 33 (7): 601-617.
- Halliwell B. (1997). Antioxydants: The Basics – What they are and how to evaluate them. *Adv Pharmacol.* 38 (0): 3-20.
- Hamia C., Gourine N., Boussoussa H., Saidi M., Gaydou E. M. and Yousfi M. (2013). Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Fatty Acids of the Flowers of *Rhanterium adpressum*. *Nat Prod Commun.* 8 (8): 1171-1174.
- Hammoudi R., Dehak K., Hadj Mahammed M. et Didi Ouldelhadj M. (2015). Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de *Deverra scoparia* Coss. & Dur. (Apiaceae). *Leb Sci J.* 16 (2): 27-36.
- Hashemabadi D., Kaviani B., Erfatpour M. and Larijani K. (2010). Comparison of Essential Oils Compositions of *Eryngo* (*Eryngium caucasicum* Trautv.) at Different Growth Phases by Hydrodistillation Method. *Plant Omics Journal (POJ).* 3 (4): 135-139.
- Helal G. A., Sarhan M. M., Abu Shahla A. N. K. and Abou El-Khair E. K. (2007). Effects of *Cymbopogon citratus* L. Essential Oil on the Growth, Morphogenesis and Aflatoxin Production of *Aspergillus flavus* ML2- Strain. *J Basic Microbiol.* 47 (1): 5-15.
- Hernandez-Ochoa L. R. (2005). Substitutions des Solvants et Matières Actives de Synthèse par Combiné ‘Solvant/Actif’. D’origine végétale. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechniques de Toulouse, Spécialité: Sciences des Agroressources, France, 225p.

- Heywood V. H. (1971). *The Biology and Chemistry of the Umbelliferae*. 1^{ère} ed. Academic Press Inc. London, 438p.
- Heywood V. H. (1996). *Les Plantes à Fleurs: 306 Familles de la Flore Mondiale*, Nathan (Farnand), Paris, 335p.
- Howes M.-J. R., Simmonds M. S. J. and Kite G. C. (2004). Evaluation of the Quality of Sandalwood Essential Oils by Gas, Chromatography–Mass Spectrometry. *J Chromatogr. A*. 1028 (2): 307-312.
- Hseini S., Kahouadji A., Lahssissene H. et Tijane M. (2007). Analyses Floristique et Ethnobotanique des Plantes Vasculaires Médicinales Utilisées dans la Région de Rabat (Maroc Occidental). *Lazaroa*. 28: 93-100.
- Hyun J-E., Bae Y-M., Yoon J-H. and Lee S-Y. (2015). Preservative Effectiveness of Essential Oils in Vapor Phase Combined with Modified Atmosphere Packaging Against Spoilage Bacteria on Fresh Cabbage. *Food Control*. 51: 307-313.
- Inyoue S., Goi H., Miyouchi K., Ogihara M. and Iwanami I. (1983). Inhibitory Effect of Volatil Components on the Proliferation of Bacteria. *Bokin Bobai*. 11: 609-615.
- Inouye S. Takizawa T. and Yamaguchi H. (2001a). Antibacterial Activity of Essential Oils and their Major Constituents Against Respiratory Tract Pathogens by Gaseous Contact. *J Antimicrob Chemother*. 47 (5): 565-573.
- Inouye S., Yamaguchi H. and Takizawa T. (2001b). Screening of the Antibacterial Effects of a Variety of Essential Oils on Respiratory Tract Pathogens, Using a Modified Dilution Assay Method. *J Infect Chemother*. 7 (4): 251-254.
- Inouye S., Abe S., Yamaguchi H. and Asakura M. (2003). Comparative Study of Antimicrobial and Cytotoxic Effects of Selected Essential Oils by Gaseous and Solution Contacts. *Int J Aromather*. 13 (1): 33-41.
- Jaset-Dongmo P. M., Tatsadjieu N. L., Tchinda Sonwa E., Kuate J., Amvan Zollo P. H. and Menut C. (2008). Antiradical Potentiel and Antifungal Activities of Essential Oils of the Leaves of *Eucalyptus saligna* and *Eucalyptus camaldulensis* Against *Phaeoramularia angolensis*. *Afr J Biotechnol*. 7 (22): 4045-4050.
- Jham G. N., Dhingra O. D., Jardim C. M. and Valente V. M. M. (2005). Identification of the Major Fungitoxic Component of *Cinnamon* Bark Oil. *Fitopatol. bras*. 30 (4): 404-408.

- Johansen C., Verheul A., Gram L., Gill T. and Abee T. (1997). Protamine-Induced Permeabilization of Cell Envelopes of Gram-positive and Gram-negative Bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 63 (3): 1155- 1159.
- Joshi R. K. (2013). Antimicrobial Activity of Leaf Essential Oil of *Chaerophyllum villosum* Wall. ex DC. From Kumaun Himalayan of Uttrakhand. *Indo Am J Pharm Res.* 3 (2): 1503-1509.
- Jukić M., Politeo O. and Milos M. (2006). Chemical Composition and Antioxidant Effect of Free Volatile Aglycones from Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) Compared to its Essential Oil. *Croat Chem Acta.* 79 (2): 209-214.
- Karakoca K., Ozusaglam M. A., Cakmak Y. S. and Erkul S. K. (2013). Antioxidative, Antimicrobial and Cytotoxic Properties of *Isatis floribunda* Boiss. ex Bornm. Extracts. *EXCLI J.* 12: 150-167.
- Karakoca K., Asan-Ozusaglam M., Cakmak Y. S. and Teksen M. (2015). Phenolic Compounds, Biological and Antioxidant Activities of *Onobrychis armena* Boiss. & Huet Flower and Root Extracts. *Chiang Mai J Sci.* 42 (2): 376-392
- Kato T., Lijima H., Ishihara K., Kaneto T., Hirai K., Naito Y. and Okuda K. (1990). Antibacterial Effect Listerine on Oral Bacteria. *Bull. Tokyo. Dent. coll.* 31 (4): 301-307.
- Khalfallah A., Labeled A., Semra A., Al Kaki B., Kabouche A., Touzani R. and kabouche Z. (2011). Antibacterial Activity and Chemical Composition of the Essential Oil of *Ammi visnaga* L. (Apiaceae) from Constantine, Algeria. *Int J Med Arom Plants.* 1(3): 302-305.
- Kharkwal G. C., Pande C., Tewari G., Panwar A. and Pande V. (2014). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Heracleum lanatum* Michx. from Uttarakhand Himalaya. *Int J Scientific and Technology Research (IJSTR).* 3 (12): 60-64.
- Kloucek P., Smid J., Frankova A., Kokoska L., Valterova I. and Pavela R. (2012). Fast Screening Method for Assessment of Antimicrobial Activity of Essential Oils in Vapor Phase. *Food Res Int.* 47 (2): 161-165.

- Knobloch K., Weigand H., Weis N., Schwarm H. M. and Vigenchow H. (1986). Action of Terpenoids on Energy Metabolism. In *Progress in Essential Oil Research*; Brunke, E.J., Ed.; Walter de Gruyter: Berlin, Germany. 429-445.
- Koffi A. M., Tonzibo Z. F., Delort L., Ruiz N., Caldefie-Chézet L. et Chalchat J. C. (2013). Corrélation entre la Composition Chimique et l'Activité Antifongique des Huiles Essentielles à Prédominance Thymol sur *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*. *Phytothérapie*. 11 (2): 134-139.
- Kohen R. and Nyska A. (2002). Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants Redox Reactions and Methods for their Quantification. *Toxicol Pathol*. 30 (6): 620-650.
- Koroch A. R., Juliani H. R. and Zygadlo J. A. (2007). Bioactivity of Essential Oils and their Components. In R. G. Berger (Ed.). *Flavours and Fragrances*. Springer Press Berlin. 5: 87-115.
- Krist S., Banovac D., Tabanca N., Wedge D. E., Gochev V. K., Wanner J., Schmidt E. and Jirovetz L. (2015). Antimicrobial Activity of Nerolidol and its Derivatives Against Airborne Microbes and Further Biological Activities. *Nat Prod Commun*. 10 (1): 143-148
- Ksouri A., Dob T., Belkebir A., Krimat S. and Chelghoum C. (2015). Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil and the Methanol Extract of Algerian Wild Carrot *Daucus carota* L. ssp. *carota*. (L.) Thell. *J Mater Environ Sci*. 6 (3): 784-791.
- Kula J., Izydorczyk K., Czajkowska A. and Bonikowski R. (2006). Chemical Composition of Carrot Umbel Oils from *Daucus carota* L. ssp. *Sativus* Cultivated in Poland. *J Flavour Fragr*. 21(4): 267-269.
- Kumaran A. and Karunakaran R. J. (2007). *In Vitro* Antioxidant Activities of Methanol Extract of Five Phyllanthus Species from India. *LWT-Food Sci Technol*. 40 (2): 344-352.
- Labeled I. (2015). Composition Chimique et Evaluation des Activités Biologiques des Huiles Essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. et de *Ferula vesceritensis* Coss. & Dur. et Synthèse Catalytique de Nouveaux Dérivés Pipéridiniques. Thèse de Doctorat. Département de Chimie, Université de Constantine, Algérie, 254p.

- Lado C., Then M., Varga I., Szoke E. and Szentmihalyi K. (2004). Antioxidant Property of Volatile Oils Determined by the Ferric Reducing Ability. *Z. Naturforsch.* 59 (5-6): 354-358.
- Lahlou M. (2004). Methods to Study Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils. *Phytother Res.* 18(6): 435-448.
- Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M. et Hseini S. (2009). Catalogue des Plantes Médicinales Utilisées dans la Région de Zaër (Maroc Occidental). *Revue de Botanique L2 Nord, Lejeunia.* 186-2.
- Laird K. and Phillips C. (2012). Vapour Phase: a Potential Future Use for Essential Oils as Antimicrobials?. *Letters in Applied Microbiology.* 54 (3): 169-174.
- Lamamra M. (2010). Contribution à l'Etude de la Composition Chimique et de l'Activité Antimicrobienne des Huiles Essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Mémoire de Magister Spécialité: Biologie et Physiologie Végétale, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 107p.
- Lamarti A., Badoc A., Deffieux G. et Carde J. P. (1994). Biogénèse des Monoterpènes: la Chaîne Isoprenique. *Bull Soc Pharm Bordeaux.* 133: 79-99.
- Lanfranchi D., Laouer H., El Kolli M., Prado S., Maulay-Bailly C. and Baldovini N. (2010). Bioactive Phenylpropanoids from *Daucus crinitus* Desf. from Algeria. *J Agric Food Chem.* 58 (4): 2174-2179.
- Langenheim J. H. (1994). Higher Plant Terpenoids: a Phytocentric Overview of their Ecological Roles. *J Chem Ecol.* 20 (6):1223-1280.
- Laouer H., El Kolli M., Soizic P. and Baldovini N. (2009). An Antibacterial and Antifungal Phenylpropanoid from *Carum montanum* (Coss. et Dur.) Benth. et Hook. *Phytother Res.* 23 (12): 1726-1730.
- Laouer H., Bouheda A., Haroutounian S., Evergetis E., Bouchekrit M., Sahli F., Boulaacheb N. and Akkal S. (2013). Chemical and Biological Study of Essential Oils of Two Populations of Algerian *Daucus setifolius* Desf. *Pharmacognosy Communications.* 3(1): 9-11.
- Laouer H., El Kolli M., Boulaacheb N. and Akkal S. (2014). Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Anthemis pedunculata* and *Anthemis punctata*. *Yanbu Journal of Engineering and Science.* (9): 76-83.

- Lee K-G. and Shibamoto T. (2001). Antioxidant Activities of Volatile Components Isolated from *Eucalyptus* species. *J Sci Food Agr.* 81 (15): 1573-1579.
- Lehucher-Michel M. P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P. et Prost M. (2001). Stress Oxydant et Pathologies Humaines: Bilan et Perspective Préventives. La Presse Médicale, Masson, Paris, France; 30 (21): 1076-1081.
- Louail Z., Kameli A., Benabdelkader T., Bouti K., Hamza K. and Krimat S. (2016). Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oil of *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. Seeds. *J Mater Environ Sci.* 7 (7): 2328-2334.
- Loza-Tavera H. (1999). Monoterpenes in Essential Oils: Biosynthesis and Properties. *Adv Exp Med Biol.* 464: 49-62.
- Lu F. and Yeap Foo L. (2001). Antioxidant Activity of Polyphenols from Sage (*Salvia officinalis*). *Food Chem.* 75 (2): 197-202.
- Makhloufi A. (2013). Etude des Activités Antimicrobienne et Antioxydante de Deux Plantes Médicinales Poussant à l'Etat Spontané dans la Région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L.) et leur Impact sur la Conservation des Dattes et du Beurre Cru. Thèse de Doctorat d'Etat en Biologie, Spécialité Microbiologie et Sécurité Sanitaire des Aliments, Université Aboubaker Belkaid, Tlemcen, 166p.
- Mallea M., Soler M., Anfosso F. et Charpin J. (1979). Activité Antifongique d'Essences Aromatiques. *Pathol Biol.* 27 (10): 597-602.
- Mann C. M. and Markham J. L. (1998). A New Method for Determining the Minimum Inhibitory Concentration of Essential Oils. *J Appl Microbiol.* 84 (4): 538-544.
- Mann C. M., Cox S. D. and Markham J. L. (2000). The Outer Membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 Contributes to its Tolerance to the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree Oil). *Letters in Applied Microbiology.* 30 (4): 294-297.
- Marino M., Bersani C. and Comi G. (2001). Impedance Measurements to Study the Antimicrobial Activity of Essential Oils from Lamiaceae and Compositae. *Int J Food Microbil.* 67 (3): 185-187.
- Masotti V., Juteau F., Bessière J. M. and Viano J. (2003). Seasonal and Phenological Variations of the Essential Oil from the Narrow Endemic Species *Artemisia molinieri* and its Biological Activities. *J Agric Food Chem.* 51 (24): 7115-7121.

- Massada Y. (1976). Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. *J Wiley & Sons Inc*, New York. 334p. (margo: analyse)
- Matejić J. S., Džamić A. M., Mihajilov-Krstev T., Ranđelović V. N., Krivošej Z. Đ. and Marin P. D. (2014). Antimicrobial Potential of Essential Oil from *Pastinaca sativa* L. *Biologica Nyssana*. 5 (1): 31-35.
- Mazandarani M., Ghafourian M. and Khormali A. (2014). Ethnopharmacology, Antibacterial and Antioxidant Activity of *Dittrichia graveolens* (L.) W. Greuter. which Has Been Used as Remedies Antirheumatic, Anti-Inflammation and Against *Leishmaniasis* in the Traditional Medicine of Gorgan, Iran. *Crescent J Med and Biol Sci*. 1 (4): 125-129.
- Mazandarani M., Zeinali Z. and Ghafourian M. (2015). Autecology Essential Oil Composition, Antibacterial, Anti-Candidacies and Ethnopharmacological Survey of *Ferula gummosa* L. as Anti-Infection to Treat of Vaginal Infections in Traditional Medicine of Razavi Khorasan Province (North East of Iran). *Crescent J Med and Biol Sci*. 2 (2): 42-47.
- Mc Lafferty F. W. and Michnowicz J. A. (1992). State of the Art GC-MS. *Chemtech*. 22 (3): 182-189.
- Meliani N., Dib M. El A., Bendiabdellah A., Djabou N., Chikhi I., Allali H. and Tabti B. (2012). Evaluation of Antioxidant Activity of Essential Oil and Extracts from Algerian *Daucus carota* L. Aerial Parts. *The Global J Pharm Res (WJPR)*. 1 (5): 1121-1129.
- Meliani N., Dib M. El A., Djabou N., Costa J., Allali H., Tabti B. and Muselli A. (2013). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Daucus aureus* Essential Oils from Algeria. *Nat Prod Com*. 8 (6): 835-840.
- Meot-Duros L., Le Floch G. and Magné C. (2008). Radical Scavenging, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Halophytic Species. *J Ethnopharmacol*. 116 (2): 258-262.
- Merghache D., Boucherit-Otmani Z., Merghache S., Chikhi I., Selles C. and Boucherit K. (2014). Chemical Composition, Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Activities of Algerian *Eryngium tricuspdatum* L. Essential Oil. *Nat Prod Res. Taylor & Francis*. 28(11): 795-807.
- Michaelakis A., Koliopoulos G., Milonas P., Kontodimas D., Polissiou M., Kimbaris A. C. and Papachristos D. (2008). Activity of Nonoxygenated Versus Oxygenated

- Monoterpenes Against Mosquitoes. An Attempt to Correlate Toxicity with Chemical Structure. A 7th Joint Meeting of AFERP, GA, PSE & SIF. Natural Products with Pharmaceutical, Nutraceutical, Cosmetic and Agrochemical Interest, Athens, 2-8 August 2008.
- Michel T. (2011). Nouvelles Méthodologies d'Extraction, de Fractionnement et d'Identification: Application aux Molécules Bioactives de l'Argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de Doctorat, Chimie Analytique-Phytochimie, Université D'Orléans, France, 288p.
- Mighri H., Hajlaoui H., Akrouf A., Najjaa H. and Neffati M. (2010). Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Artemisia herba-alba* Essential Oil Cultivated in Tunisian Arid Zone. *C.R. Chim.* 13 (3): 380-386.
- Miladi H., Ben Slama R., Mili D., Zouari S., Bakhrouf A. and Ammar E. (2013). Chemical Composition and Cytotoxic and Antioxidant Activities of *Satureja montana* L. Essential Oil and its Antibacterial Potential Against *Salmonella* spp. Strains. *J Chem.* 2013: 9-18.
- Mileski K., Džamić A., Ćirić A., Grujić S., Ristić M., Matevski V. and Marin P. D. (2014). Radical Scavenging and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Extracts of *Echinophora sibthorpiana* Guss. from Macedonia. *Arch Biol Sci.*, Belgrade. 66 (1): 401-413.
- Mileski K. S., Džamić A. M., Ćirić A. D., Ristić M. S., Grujić S. M., Matevski V. S. and Marin P. D. (2015). Composition, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Endemic Species *Ferulago macedonica* Micevski & E. Mayer. *Rec Nat Prod.* 9 (2): 208-223.
- Mohammadpour H., Moghimipour E., Rasooli I., Hadi Fakoor M., Astaneh S. A., Moosaie S. S. and Jalili Zeynab. (2012). Chemical Composition and Antifungal Activity of *Cuminum cyminum* L. Essential Oil from Alborz Mountain Against *Aspergillus* Species. Jundishapur. *J Nat Pharm Prod.* 7(2): 50-55.
- Mohammed Aslam Albulushi S., Al Saidi H., Amaresh N. and Mullaicharam A. R. (2014). Study of Physicochemical Properties, Antibacterial and GC-MS Analysis of Essential Oil of the Aniseed (*Pimpinella anisum* L.) in Oman. Research and Reviews: *J Pharmacogn Phytochem (RRJPP)*. 2 (4):24-33.

- Mohammedi Z., Bachik S. and Belkaroube N. (2010). Antifungal and Antiaflatoxicogenic Potential of Essential Oils from an Endemic *Thymus fontanesii* Boiss and Reut. *Les Technologies de Laboratoire*. 5 (19): 10-15.
- Mojab F. and Nickavar B. (2003). Composition of the Essential Oil of the Root of *Heracleum persicum* from Iran. *Iran J Pharm Res*. 2 (4): 245-247.
- Molyneux P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Stimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J Sce Technol*. 26 (2): 211-219.
- Mondello F., Girolamo A., Scaturro M. and Ricci M. (2009). Determination of *Legionella pneumophila* Susceptibility to *Melaleuca alternifolia* Cheel (Tea Tree) Oil by an Improved Broth Micro-Dilution Method Under Vapour Controlled Conditions. *J Microbiol Methods*. 77 (2): 243-248.
- Moon J-K. and Shibamoto T. (2009). Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *J Agric Food Chem*. 57 (5): 1655-1666.
- Moreira M. R., Ponce A. G., Valle C. E. del. and Roura S. I. (2005). Inhibitory Parameters of Essential Oil to Reduce a Foodborne Pathogen. *Food Sci Technol*. 38 (5): 565-570.
- Mothana R. A., Al-Rehaily A. J. and Schultze W. (2010). Chemical Analysis and Biological Activity of the Essential Oils of Two Endemic Soqotri *Commiphora* species. *Molecules*. 15 (2): 689-698.
- Narasimhan M. K., Pavithra S. K., Krishnan V. and Chandrasekaran M. (2013). *In Vitro* Analysis of Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activity of *Enteromorpha antenna*, *Enteromorpha linza* and *Gracilaria corticata* Extracts. *J Nat Pharm Prod*. 8 (4): 151-159.
- Nedorostova L., Kloucek P., Kokoska L., Stolcova M. and Pulkrabek J. (2009). Antimicrobial Properties of Selected Essential Oils in Vapour Phase Against Food-Borne Bacteria. *Food Control*. 20 (2): 157-160.
- Nickavar B., AdeliA. and Nickavar A. (2014). TLC-Bioautography and GC-MS Analyses for Detection and Identification of Antioxidant Constituents of *Trachyspermum copticum* Essential Oil. *Iran J Pharm Res*. 13 (1): 127-133.
- Nicole M. (1996). Aperçu de l'Aromathérapie. *Info Essence*. 2: 4-5.

- Nissinen A., Ibrahim M., Kainulainen P., Tilikkala K. and Holopainen J. K. (2005). Influence of Carrot Psyllid (*Trioza apicalis*) Feeding or Exogenous Limonene or Methyl Jasmonate Treatment on Composition of Carrot (*Daucus carota*) Leaf Essential Oil and Headspace Volatiles. *J Agric Food Chem.* 53 (22): 8631-8638.
- Nychas G. J. E. (1995). Natural Antimicrobial from Plants. In *New Methods of Food Preservation*. Ed. GW Gould. Blackie Academic, London, 324p.
- Ogbulie J. N., Ogueke C. C., Okoli IC. and Anyanwu B. N. (2007). Antibacterial Activities and Toxicological Potentials of Crude Ethanolic Extracts of *Euphorbia hirta*. *Afr J Biotechnol.* 6 (13): 1544-1548.
- Ohno N., Mabry T. J., Zabel V. and Watson W. H. (1979). Tetrachyrin, a New Rearranged Kaurenoid Lactone, and Diterpene Acids from *Tetrachyron orizabaensis* and *Helianthus debilis*. *Phytochem.* 18 (10): 1687-1689
- Olle M. and Bender I. (2010). The Content of Oils in Umbelliferous Crops and its Formation, *Agron Res.* 8 (Special Issue III): 687-696.
- Omidbeygi M., Barzegar M., Hamidi Z. and Naghidibadi H. (2007). Antifungal Activity of Thyme, Summer Savory and Clove Essential Oils Against *Aspergillus flavus* in Liquide Medium and Tomato Paste. *Food Control.* 18 (12): 1518-1528.
- Ortega T. and Carretero M. E. (1985). The Essential Oil from *Elaeoselinum foetidum* (L.) Boiss. Umbelliferae. *Acta Agron. Acad. Hung.* (34) (Suppl.): 70.
- Ortega T., Pardo M. P. and Carretero M. E. (1985). The Essential Oil from *Elaeoselinum tenuifolium* (Lag.) Lange. Umbelliferae. *Acta Agron Acad Hung.* (34) (Suppl.): 71.
- Ortega T., Carretero M. E., Bermejo P. and Pardo M. P. (1986). Essential Oils in Umbelifers. Study of the Essential Oil of *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. subsp. *asclepium*. *Anales Jard Bot, Madrid.* 43 (1): 121-124 (in Spanish).
- Ouariachi E. El, Lahhit N., Bouyanzer A., Hammouti B., Paolini J., Majidi L., Desjobert J-M. and Costa J. (2014). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils and Solvent Extracts of *Foeniculum vulgare* Mill. from Morocco. *J Chem Pharm Res.* 6 (4): 743-748.
- Ouattara B., Simard R. E., Holley A. R., Piette G. J. P. and Bégin R. (1997). Antibacterial Activity of Selected Fatty Acids and Essential Oils Against Six Meat Spoilage Organisms. *Int J Food Microbiol.* 37 (2-3): 155-162.

- Ouis N. (2015). Etude Chimique et Biologique des Huiles Essentielles de Coriandre, de Fenouil et de Persil. Thèse de Doctorat, Chimie Organique, Université d'Oran I. Algérie, 239p.
- Ouraiïni D., Agoumil A., Ismaili-Alaoui M., Alaoui K., Cherrah Y., Amrani M. et Bellabas M.A. (2005). Etude de l'Activité des Huiles Essentielles de Plantes Aromatiques à Propriétés Antifongiques sur les Différentes Etapes du Développement des Dermaphytes. *Phytothér.* 3 (4): 147-157.
- Ouraiïni D., Agoumi A., Alaoui M. I., Alaoui K., Cherrah Y., Alaoui M. A. et Belabbas M. A. (2007). Activité Antifongique de l'Acide Oléique et des Huiles Essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., Comparé aux Antifongiques dans les Dermatoses Mycosiques. *Phytothér.* 5 (1): 6-14.
- Oussou K. R., Kanko C., Guessend N., Yolou S., Koukoua G., Dosso M., N'Guessan Y. T., Figueredo G. et Chalchat J.-C. (2004). Activités Antibactériennes des Huiles Essentielles de Trois Plantes Aromatiques de Côte-d'Ivoire. *Elsevier, C. R. Chimie.* 7 (10): 1081-1086.
- Oyedeki O., Oziegbe M. and Taiwo F. O. (2011). Antibacterial, Antifungal and Phytochemical Analysis of Crude Extracts from the Leaves of *Ludwigia abyssinica* A. Rich. And *Ludwigia decurrens* Walter. *J Med Plants Res.* 5 (7): 1192-1199.
- Özcan M. M. and Chalchat J. C. (2007). Chemical Composition of Carrot Seeds (*Daucus carota*L.) Cultivated in Turkey: Characterization of the Seed Oil and Essential Oil. *Grasas y Aceites.* 58(4): 359-365.
- Özkalp B. and Musa Özcan M. (2009). Antibacterial Activity of Several Concentrations of Sater (*Satureja hortensis* L.) Essential Oil on Spoilage and Pathogenic Food - Related Microorganisms. *World Appl Sci J.* 6 (4): 509-514.
- Ozyurek M., Guçlu K., Tutem E., Baskan K. S., Erçag E., Çelik S. E., Baki S., Yıldız L., Karamanc S. and Apak R. (2011). A Comprehensive Review of CUPRAC Methodology. *Anal Methods.* 3: 2439-2453.
- Palá-Paúl J., Perez-Alonso M. J. and Velasco-Negueruela A. (2001). A Contribution to the Knowledge of the Oil of *Elaeoselinum gummiferum* (Desf.) Tutin. *J Essent Oil Res.* 13 (5): 362-363.

- Palá-Paúl J., Perez-Alonso M. J., Velasco-Negueruela A., Varade J., Villa A. M., Sanz J. and Brophy J. J. (2005). Analysis of the Essential Oil Composition from the Different Parts of *Eryngium glaciale* Boiss. from Spain. *J Chromatogr A*. 1094 (1-2): 179-182.
- Paolini J. (2005). Caractérisation des Huiles Essentielles par CPG/IR, CPG/SM-(IE et IC) et RMN du Carbone-13 de *Cistus albidus* et de Deux Asteraceae Endémiques de Corse: *Eupatorium cannabinum subsp. corsicum* et *Doronicum corsicum*. Thèse de Doctorat. Discipline: Chimie Organique et Analytique. Université de Corse Pascal Paoli, France, 342p.
- Paranagama P. A., Abeysekera K. H., Abeywickrama K. and Nugaliyadde L. (2003). Fungicidal and Anti-Aflatoxigenic Effects of the Essential Oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Lemongrass) Against *Aspergillus flavus* Link. Isolated from Stored Rice. *Lett Appl Microbiol*. 37 (1): 86-90.
- Peana A. T., Moretti M. D. L. and Juliano C. (1999). Chemical Composition and Antimicrobial Action of the Essential Oil of *Salvia desoleana* and *S. sclarea*. *Planta Med*. 65 (8): 752-745.
- Peerakam N., Punjaisee S., Buamongkol S., Sirisa-ard P., Julsrigival J. and Chansakaow S. (2014). Chemical Compositions, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oils from *Anethum graveolens* L. and *Trachyspermum roxburghianum* (DC.) Craib grown in Thailand. *J Nat Sci Res*. 4 (12): 62-70.
- Perry J. J., Staley J. T. et Lory S. (2004). Microbiologie. Dunod, Paris (France), 891p.
- Persidis A. (1999). Antibacterial and Antifungal Drug Discovery. *Nat Biotechnol*. 17 (11): 1141-1142.
- Pibiri M.-C., Seigniez C. et Roulet C.-A. (2001). Assainissement Microbiologique de l'Air et des Systèmes de Ventilation au Moyen d'Huiles Essentielles et leurs Effets sur le Bien-Etre des Occupants. *CISBAT*, Lausanne, 211-216.
- Pibiri M. C., Goel A., Vahekeni N. and Roulet C. A. (2006). Indoor Air Purification and Ventilation Systems Sanitation with Essential Oils. *Int J Aromather*. 16 (3): 149-153.
- Pibiri M.-C. (2006). Assainissement Microbiologique de l'Air et des Systèmes de Ventilation au Moyen d'Huiles Essentielles. Thèse de Doctorat, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse. 177p.
- Pignatti S. (1982). Flora d'Italia. Vol 2, *Edagricole*, Bologna, Italy, 731p.

- Pimenov M. G. and Leonov M. V. (1993). The Genera of the Umbelliferae: a Nomenclator. *Royal Botanic Gardens, Kew, United Kingdom*, 156 p.
- Pinar M., Rodriguez B. and Alemany A. (1978). Gummiferolic Acid, A New ent-ATIS-6-ene diterpenoid from *Margotia gummifera*. *Phytochem.* 17 (9): 1637-1640
- Pinar M., Rico M., Pascual C. and Fernandez B. (1983). Foetidol, an 8,9-seco-17-nor-Kaurane Diterpenoid from *Elaeoselinum foetidum*. *Phytochem.* 22 (12): 2775-2777.
- Pincemail J., Lecomte J., Collart E., Castiaux J. P. and Defraigne J. O. (2003). Stress Oxydant, Antioxydants et Exercice Physique. *Médecine Interne.* 6 (5): 1-3.
- Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Chessa M., Cerri R. and Casanova J. (2002). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Oils from Sardinia and Corsica. *Flavour Frag J.* 17 (1): 15-19.
- Pokorny J., Yanishlieva N. et Gordon H. (2001). Les Antioxydants dans les Aliments. Les Applications Pratiques. *Woodhead Publishing Limited. CRC Press. Cambridge Angleterre.* 389p.
- Portes E. (2008). Synthèse et Etudes de étrahydrocurcuminoïdes : Propriétés Photochimiques et Antioxydantes, Applications à la Préservation de Matériaux d'Origine Naturelle. Thèse de Doctorat, Spécialité: Chimie Organique, Université Bordeaux I (France), 244p.
- Prieto P., Pineda M. and Aguilar M. (1999). Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity Through the Formation of Phosphomolybdenum Complex. Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Anal Biochem.* 269 (2): 337-341.
- Prior R. L., Wu X. and Schaich K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J Agric Food Chem.* 53 (10): 4290-4302.
- Que F., Mao L. and Pan X. (2006). Antioxidant Activities of Five Chinese Rice Wines and the Involvement of Phenolic Compounds. *Food Res Int.* 39: 581-587.
- Quézel P. et Santa S. (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques et Méridionales. Tome 2, Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 603p.

- Radulović N., Misić M., Aleksić J., Doković D., Palić R. and Stojanović G. (2007). Antimicrobial Synergism and Antagonism of Salicylaldehyde in *Filipendula vulgaris* Essential Oil. *Fitoterapia*. 78 (7-8): 565-570.
- Rahman A., Choudhary M. L., Hayat S., Khan A. M., Ahmad A. and Malik S. (1999). Spatozoate and Varninasterol from the Brown Alga *Spatoglossum variabile*. *Phytochem*. 52 (3): 495-499.
- Rasooli I. and Abyaneh M. R. (2004). Inhibitory Effect of Thyme Oils on Growth and Afltoxin Production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Control*. 15 (6): 479-483.
- Rasooli I., Fakoor M. H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A. and Rezaei M. B. (2008). Antimycotoxigenic Characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. Essential Oils. *Int J Food Microbiol*. 122 (1-2): 135-139.
- Rhayour K. (2002). Etude du Mécanisme de l'Action Bactéricide des Huiles Essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.
- Robinson T. (1991). The Organic Constituents of Higher Plants. Their Chemistry and Interrelationships. 6^{ème} Edition, Cordus Press, USA. 346p.
- Rodriguez B. and Pinar M. (1979). Margotianin, A New Diterpenoid from *Margotia gummifera*. *Phytochem*. 18 (5): 891-893.
- Rosselli S., Maggio A., Eiroa C., Formisano C., Bruno M. and Irace C., Maffettone C. and Mascolo N. (2008). Cytotoxic Activity of Diterpenoids Isolated from the Aerial Parts of *Elaeoselinum asclepium* subsp. *meoides*. *Planta Med*. 74 (10): 1285-1287.
- Ruberto G. and Baratta M. T. (2000). Antioxidant Activity of Selected Essential Oil Components in Two Lipid Model Systems. *Food Chem*. 69(2): 167-174.
- Rudloff E. (1968). Gas-Liquid Chromatography of Terpenes XVI. The Volatile Oil of the Leaves of *Juniperus ashei* Buchholz. *Can J Chem*. 46 (5): 679-683.
- Russo R., Corasaniti M. T., Bagetta G. and Morrone L. A. (2015). Exploitation of Cytotoxicity of Some Essential Oils for Translation in Cancer Therapy. *Review Article Evid Based Complement Alternat Med*. Volume 2015: 1-9 .

- Saad H-E. A., El-Sharkawy S. H. and Halim A. F. (1995). Composition of the Essential Oils of the Leaves and Stems of *Torilis arvensis*. *Pharm Acta Helv.* (70): 85-87.
- Sagdic O., Ozturk I., Ozkan G., Yetim H., Ekici L. and Yilmaz M. T. (2011). RP-HPLC-DAD Analysis of Phenolic Compounds in Pomace Extracts from Five Grape Cultivars: Evaluation of their Antioxidant, Antiradical and Antifungal Activities in Orange and Apple Juices. *Food Chem.* 126 (4): 1749-1758.
- Saleh M. A., Clark S., Woodard B. and Deolu-Sobogun A. A. (2010). Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Essential Oils. *Ethn Dis.* 20 (1 Suppl 1): S1-78-82.
- Salvador U., Ramirez J. and Pena A. (1985). Effects of β -pinen on Yeast Membrane Functions. *J Bacteriol.* 161 (3): 1195-1200.
- Sarafis V., Rumpel H., Pope J. and Kuhn W. (1990). Non-Invasive Histochemistry of Plant Materials by Magnetic Resonance Microscopy. *Protoplasma.* 159 (1): 70-73.
- Schwedt G. (1993). Atlas de Poche des Méthodes d'Analyse. Ed. Flammarion Medecine-Sciences, Paris, 234 p.
- Selles C. (2012). Valorisation d'une Plante Médicinale à Activité Antidiabétique de la Région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'Extrait Aqueux à l'Inhibition de Corrosion d'un Acier Doux dans H₂SO₄ 0.5M. Thèse Doctorat en Sciences Physiques; Option Chimie Physique. Université Abou-Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie, 214p.
- Sévenet T. et Tortora C. (1994). Plantes, Molécules et Médicaments. Tome 1, Nathan: CNRS Editions, Paris, 119p.
- Shahat A.-Elaaty A., Ibrahim A. Y., Hendawy S. F., Omer E. A., Hammouda F. M., Abdel-Rahman F. H. and Saleh M. A. (2011). Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils from Organically Cultivated Fennel Cultivars. *Molecules.* 16 (2): 1366-1377.
- Shahbazi Y., Shavisi N., Karami N. and Kakaei S. (2015). Chemical Composition and *In Vitro* Antibacterial Activity of *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss Essential Oil. *J Pharm Sci.* 21 (1): 6-11.
- Shama H., Mohamed R., Zakaria H., Badr S., Mohamed G. H. et Mustapha E. L. A. (2011). Évaluation du Potentiel Antifongique des Huiles Essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la Lutte Biologique contre les Champignons

- Responsables de la Détérioration des Pommes en Conservation. *Bull Soc Royale des Sci Liège*. 80: 824-836.
- Sharma N. and Tripath A. (2008). Effects of *Citrus sinensis*(L.) Osbeck Epicarp Essential Oil on Growth and Morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiol Res*. 163 (3): 337-44.
- Shunying Z., Yang Y., Huaidong Y., Yue Y. and Guolin Z. (2005). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Chrysanthemum indicum*. *J Ethnopharmacol*. 96 (1-2): 151-158.
- Singh G., Marimuthu P., de Heluani C. S. and Catalan C. A. N. (2006). Antioxidant and Biocidal Activities of *Carum nigrum* (Seed) Essential Oil, Oleoresin, and their Selected Components. *J Agric Food Chem*. 54 (1):174-181.
- Singh P. K., Verma N. S. and Tandon P. K. (2012). Antibacterial Activity of Essential Oils of *Seseliindicum* a Wild Weed of Family Apiacea. *Webmed Central: Research articles*. 1-5.
- Skoula M., Gotsiou P., Naxakis G. and Johnson C. B. (1999). A Chemosystematic Investigation on the Mono- and Sesquiterpenoids in the Genus *Origanum* (Labiaceae). *Phytochem*. 52 (4): 649- 657.
- Smirnoff N. (2005). Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants; Ed 1: *Blackwell Publishing Ltd*. 317p.
- Smith-Palmer A., Stewart J. and Fyfe L. (1998). Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils and Essences Against Five Important Food-Borne Pathogens. *Lett Appl Microbiol*. 26 (2): 118-122.
- Sofowara A. (2010). *Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle d’Afrique*, Edition Karthala, Paris, France. 384p.
- Soković M., Glamočlija J., Marin Petar D., Brkić D. and Van Griensven Leo J. L. D. (2010). Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an *In Vitro* Model. *Molecules*. 15 (11): 7532-7546.
- Souici M. L., Lourici L. et Messadi D. (2007). Relation Structure/Retention Chromatographique de Treize Alkylnaphtalènes. *Leb Sci J*. 8 (1): 63-73.

- Soylu E. M., Yigitba H., Tok F. M., Soylu S., Kurt S., Baysal Ö. and Kaya A. D. (2005). Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of *Artemisia annua* L. Against Foliar and Soil-Borne Fungal Pathogens. *J Plant Dis Protect.* 112 (3): 229-239.
- Soylu E. M., Soylu S. and Kurt S. (2006). Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Various Plants Against Tomato Late Blight Disease Agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia.* 161 (2): 119-128.
- Staniszewska M., Kula J., Wieczorkiewicz M. and Kusewicz D. (2005). Essential Oils of Wild and Cultivated Carrots-the Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *J Essent Oil Res.* 17 (5): 579-583.
- Stefanini M. B., Figueiredo R. O. and Ming L. C. (2003). Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Some Spice Herbs. *Proc Int Conf on MAP.* 215-216.
- Suresh B., Sriram S., Dhanaraj S. A., Elango K. et chinnaswamy K. (1997). Anticandidal Activity of *Santolina chamaecyparissus* Volatile Oil. *J Ethnopharmacol.* 55 (2): 151-159.
- Sutour S. (2010). Etude de la Composition Chimique d'Huiles Essentielles et d'Extraits de Menthe de Corse et de Kumquats, Thèse de Doctorat. Discipline Chimie Organique et Analytique, Université de Corse Pascal Paoli, France, 222 p.
- Svoboda K.P. (2000). Secretary Structures of Aromatic and Medicinal Plant – A Review and Atlas of Micrographs. Ed. Microscopix Publications. Powys, UK., 60 p.
- Svoboda K. P. and Greenaway R. I. (2003). Investigation of Volatile Oil Gland of *Satureja hortensis* L. (*Summer savory*) and Phytochemical Comparison of Different Varieties. *Int Jour Aromather.* 13 (4): 196-202.
- Tabanca N., Demirci B., Ozek T., Kirimer N., Baser K. H. C., Bedir E., Khan I. A. and Wedge D. E. (2006). Gas Chromatographic–Mass Spectrometric Analysis of Essential Oils from *Pimpinella* Species Gathered from Central and Northern Turkey. *J Chromatogr. A.* 1117 (2): 194-205.
- Tahri N., Zidane L., El Yacoubi H., Fadli M., Rochdi A. et Douira A. (2011). Contribution à l'étude de la Biodiversité de la Région de Ben Slimane (Ouest Marocain): Catalogue Floristique des Plantes Vasculaires. *J Anim Plant Sci.* 12 (3): 1632-1652.

- Tantaoui-Elaraki A., Lattaoui N. and Errifi A. (1993). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Thymus broussonetti*, *Thymus zygis* and *Thymus satureioides*. *J Essent Oil Res.* 5: 45-53.
- Taran M., Ghasempour R. H. and Shirinpour E. (2010). Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Ferulago angulata* subsp. *carduchorum*, *Jundishapur J Microbiol.* 3 (1): 10-14.
- Tassou C. C. and Nychas G. J. E. (1995). Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Mastic Gum (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) on Gram-positive and Gram-negative Bacteria in Broth and Model Food Systems. *Int Biodeter Biodegr.* 36 (3-4): 411-420.
- Tavares A. C., Gonçalves M. J., Cruz M. T., Cavaleiro C., Lopes M. C., Canhoto J. and Salgueiro L. R. (2010). Essential Oils from *Distichoselinum tenuifolium*: Chemical Composition, Cytotoxicity, Antifungal and Anti-Inflammatory Properties. *J Ethnopharmacol.* 130 (3): 593-598.
- Tefiani C., Riazi A., Youcefi F., Aazza S., Gago C., Faleiro M. L., Pedro L. G., Barroso J. G., Figueiredo A. C., Megías C., Cortés-Giraldo I., Vioque J. and Miguel M. G. (2015). *Ammoides pusilla* (Apiaceae) and *Thymus munbyanus* (Lamiaceae) from Algeria Essential Oils: Chemical Composition, Antimicrobial, Antioxidant and Antiproliferative Activities. *J Essent Oil Res.* Taylor & Francis. 27 (2): 131-139.
- Teixeira Duarte M. C. T., Figueira G. M., Sartoratto A., Rehder V. L. G. and Delarmelina C. (2005). Anti Candida Activity of Brazilian Medicinal Plants. *J Ethnopharmacol.* 97 (2): 305-311.
- Tepe B., Daferera D., Sokmen M., Polissiou M. and Sokmen A. (2004). *In Vitro* Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oils and Various Extracts of *Thymus eigi* M. Zohary et P.H. Davis. *J Agric Food Chem.* 52 (5): 1132-1137.
- Thiem B., Kikowska M., Kurowska A. and Kalembe D. (2011). Essential Oil Composition of the Different Parts and *In Vitro* Shoot Culture of *Eryngium planum* L. *Molecules.* 16 (8): 7115-7124.
- Tirillini B., Pagiotti R., Angelini P., Pintore G., Chessa M. and Menghini L. (2009). Chemical Composition and Fungicidal Activity of the Essential Oil of *Laserpitium garganicum* from Italy. *Chem Nat Compd.* 45 (1): 103-105.

- Togashi N., Inoue Y., Hamashima H. and Takano A. (2008). Effects of Two Terpene Alcohols on the Antibacterial Activity and the Mode of Action of Farnesol Against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 13 (12): 3069-3076.
- Toure D. (2015). Etudes Chimique et Biologique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques Médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat, Biochimie, Université Felix Houphoët Boigny, Côte d'Ivoire, French. 154p.
- Trabut L. (1935). Répertoire des Noms Indigènes des Plantes Spontanées, Cultivées et Utilisées dans le Nord de l'Afrique, Collection du Centenaire de l'Algérie: Flore du Nord de l'Afrique, Alger, 355p.
- Trivedi N. A. and Hotchandani S. C. (2004). A Study of the Antimicrobial Activity of Oil of *Eucalyptus*. *Indian J Pharmacol*. 36 (2): 93-94.
- Tsuchiya H., Sato M., Miyazaki T., Fujiwara S., Tanigaki S., Ohyama M., Tanaka T. and Linuma M. (1996). Comparative Study on the Antibacterial Activity of Phytochemical Flavanones Against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *J Ethnopharmacol*. 50 (1): 27-34.
- Tullio V., Nostro A., Mandras N., Dugo P., Banche G., Cannatelli M. A., Cuffini A. M., Alonzo V. and Carlone N. A. (2007). Antifungal Activity of Essential Oils Against Filamentous Fungi Determined by Broth Microdilution and Vapour Contact Methods. *J Appl Microbiol*. 102 (6): 1544-1550.
- Tutin T. G., Heywood V. H., Burges N. A., Moore D. M., Valentine D. H., Walters S. M. and Webb D. A. (1968). Flora Europaea, Vol. 2: Rosaceae to Umbelliferae. 1stEd. Cambridge University Press, London, 455p.
- Tyagi A. K. et Malik A. (2011a). Antimicrobial Potential and Chemical Composition of *Mentha piperita* Oil in Liquid and Vapour Phase Against Food Spoiling Microorganisms. *Food Control*. 22 (11): 1707-1714.
- Tyagi A. K. et Malik A. (2011b). Antimicrobial Potential and Chemical Composition of *Eucalyptus globules* Oil in Liquid and Vapour Phase Against Food Spoiling Microorganisms. *Food Chem*. 126(1): 228-235.
- Ultee A., Kets E. P. W. and Smid E. J. (1999). Mechanisms of Action of Carvacrol on the Food Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*. 65 (10): 4606-4610.

- Ultee A., Bennik M. H. J. and Moezelaar R. (2002). The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol is Essential for Action Against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol.* 68 (4): 1561-1568.
- Valente J., Zuzarte M., Liberal J., Gonçalves M. J., Lopes M. C., Cavaleiro C., Cruz M. T. and Salgueiro L. (2013). *Margotia gummifera* Essential Oil as a Source of Anti-Inflammatory Drugs. *Ind Crops Prod.* 47: 86-91.
- Vargas I., Sanz I. et Prima-Yuferá E. (1999). Antimicrobial and Antioxidant Compounds in the non Volatile Fraction of Expressed Range Essential Oil. *J Food Prot.* 62 (8): 929-932.
- Velasco Negueruela A., Perez Alonso M. J., Carrasquilla C. B. and Samaniego N. M. (1992). Data on the chemical composition (terpenes) of aromatic plants in the province of Toledo. Iberian Conference of medicinal plants, herbs and essential oils, Madrid, 292p.
- Veuillet J. M. (1959). Contribution à l'Etude Morphologique et Anatomique du Genre *Elaeoselinum* au Maroc. *Trav Inst Sci Chérifien Sér Bot.*, Rabat. 63p.
- Villalobos N., Martin L., Macias M. J., Mancheno B. and Grande M. (1994). Gibberellin-Like Activity of Some Tetracyclic Diterpenoids from *Elaeoselinum* Species and their Derivatives. *Phytochem.* 37 (3): 635-639.
- Villano D., Fernandez-Pachon M. S., Moya M. L., Troncoso A. M. and Garcia-Parrilla M. C. (2007). Radical Scavenging Ability of Polyphenolic Compounds Towards DPPH Free Radical. *Talanta.* 71 (1): 230-235.
- Viollon C. and Chaumont J. P. (1994). Antifungal Properties of Essential Oils and their Main Components Upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia.* 128(3): 151-153.
- Vokk R., Lougas T., Mets K. and Kravets M. (2011). Dill (*Anethum graveolens* L.) and Parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss) from Estonia: Seasonal Differences in Essential Oil Composition. *Agronomy Research.* 9 (2): 515-520.
- Wang W., Wu N., Zu Y. G. And Fu Y. J. (2008). Antioxidant Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Oil Compared to its Main Compounds. *Food Chem.* 108 (3): 1019-1022.
- WHO Media Centre (2002). Résistance aux Antimicrobiens. Aide-mémoire N°194. OMS/Genève.

- Wood C. E. (1974). A Student's atlas of Flowering Plants: Some Dicotyledons of Eastern North America. Harvard University, Prepared as Part of the Generic Flora of the Southeastern U.S. Project, 78p.
- Yavaşer R., Erkuş H., Sunna Ç. and Karagözler A. A. (2015). Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Abies cilicica* (Ant & Kotschy) subsp. *isauricacode* & *Cullen* resin. *Eur J Biotechnol Biosci.* 3 (10): 37-44.
- Zaibet W., Laouer H., Amira S., Flamini G., Ramdani M. and Akkal S. (2015). Chemical Composition and Biological Activities of *Daucus aureus* Essential Oils from Eastern Algeria. *J Chil Chem Soc.* 60 (3): 2986-2993.
- Zani F., Massimo G., Benvenuti S., Bianchi A., Albasini A., Melegari M., Vampa G., Bellotti A. and Mazza P. (1991). Studies on the Genotoxic Properties of Essential Oils with *Bacillus subtilis* Rec-Assay and *Salmonella*/Microsome Reversion Assay. *Planta Med.* 57 (3): 237-241.
- Zenasni L. (2014). Etude de Polymorphisme Chimique des Huiles Essentielles de *Thymus satureioides* Coss et d'*Origanum compactum* Benth et du Genre *Nepeta* et Evaluation de leur Propriété Antibactérienne. Thèse de Doctorat, Biochimie Pharmacologique, Université Mohammed V – AGDAL, Rabat, 169p.
- Zengin G., Aktumsek A., Guler G. O., Cakmak Y. S. and Yildiztugay E. (2011). Antioxidant Properties of Methanolic Extract and Fatty Acid Composition of *Centaurea urvillei* DC. subsp. *hayekiana* Wagenitz. *Rec Nat Prod.* 5 (2): 123-132.
- Zengin G., Aktumsek A., Guler G. O., Cakmak Y. S. and Kan Y. (2012). Composition of Essential Oil and Antioxidant Capacity of *Centaurea drabifolia* Sm. subsp. *Detonsa* (Bornm.) Wagenitz, Endemic to Turkey. *Nat Prod Res.* 26 (1): 1-10.
- Zheljazkov V. D., Cantrell C. L., Astakie T. and Jeliaskova E. (2013). Distillation Time Effect of Lavender Essential Oil Yield and Composition. *J Oleo Sci.* 62 (4): 195-199.
- Ziedan E. H. E. and Farrag E. S. H. (2008). Fumigation of Peach Fruits with Essential Oils to Control Postharvest Decay. *Res J Agric Biol Sci.* 4 (5): 512-519.
- Zobel A. M. and March R. E. (1993). Autofluorescence Reveals Different Histological Localizations of Furanocoumarins in Fruits of Some Umbellifereae and Leguminosae. *Ann Bot.* 71 (3): 251-255.

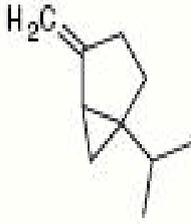
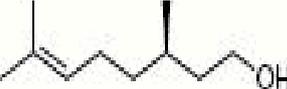
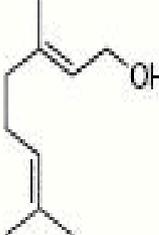
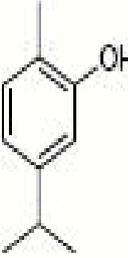
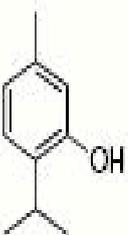
ANNEXES

Annexe 01: Genres d'Apiaceae rencontrés en Algérie (Quezel et Santa, 1963).

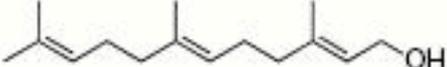
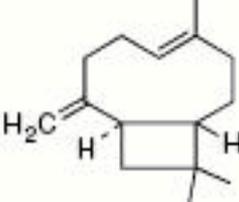
Genre	Nombre	d'espèces	Nombre
<i>Ammi</i>	2		
<i>Ammiopsis</i>	1		
<i>Ammodaucus</i>	1		
<i>Ammoides</i>	2		1 (<i>A. atlantica</i>)
<i>Anethum</i>	1		
<i>Anthriscus</i>	2		
<i>Apium</i>	1		
<i>Balansaea</i>			1 (<i>B. glaberrima</i>)
<i>Bifora</i>	1		
<i>Brachyapium</i>	2		
<i>Bunium</i>	7		4 (<i>B. fontanesii</i> , <i>B. chaberti</i> , <i>B. elatum</i> , <i>B. crassifolium</i>)
<i>Bupleurum</i>	14		5 (<i>B. plantagineum</i> , <i>B. atlanticum</i> , <i>B. montanum</i> , <i>B. balansae</i> , <i>B. oligactis</i>)
<i>Capnophyllum</i>	1		
<i>Carum</i>	2		2 (<i>C. montanum</i> , <i>C. foetidum</i>)
<i>Caucalis</i>	4		1 (<i>C. bifrons</i>)
<i>Chaerophyllum</i>	1		
<i>Conium</i>	1		
<i>Conopodium</i>	1		
<i>Coriandrum</i>	1		
<i>Crithmum</i>	1		
<i>Cuminum</i>	1		
<i>Danaa</i>	1		
<i>Daucus</i>	11	8	1 (<i>D. reboudii</i>)
<i>Echinophora</i>	1		
<i>Elaeoselinum</i>	2		
<i>Eryngium</i>	7		
<i>Ferula</i>	5		2 (<i>F. Cossoniana</i> , <i>F. vesceritensis</i>)

<i>Foeniculum</i>	1	3	
<i>Helosciadium</i>	3		
<i>Heracleum</i>	1	2	
<i>Hippomarathrum</i>	1	2	
<i>Hohenackeria</i>	2		
<i>Hydrocotyle</i>	1		
<i>Kundmannia</i>	1		
<i>Magydaris</i>	2		
<i>Malabaila</i>	1	1	
<i>Margotia</i>	1		
<i>Oenanthe</i>	6		1 (<i>Oe. Virgata</i>)
<i>Orlaya</i>	3		
<i>Petroselinum</i>	1		
<i>Peucedanum</i>	3		1 (<i>P. munbyi</i>)
<i>Physocaulos</i>	1		
<i>Pimpinella</i>	2		1 (<i>P. battandieri</i>)
<i>Pituranthos</i>	4	5	4 (<i>P. reboudii, P. scoparius, P. battandieri, P. chloranthus</i>)
<i>Reutera</i>	1		
<i>Ridolfla</i>	1		
<i>Sanicula</i>	1		
<i>Scandix</i>	3	2	
<i>Seseli</i>	4		
<i>Sison</i>	1		
<i>Smyrniium</i>	2		
<i>Thapsia</i>	3		
<i>Tinguarra</i>	1		
<i>Tordylium</i>	1		
<i>Torilis</i>	2	3	
<i>Turgenia</i>	1		

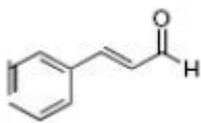
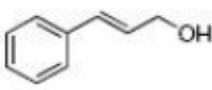
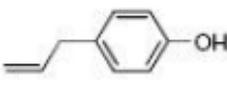
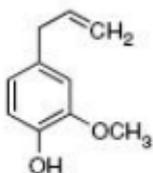
Annexe 02: Structure chimique de certains monoterpènes.

Carbures monocycliques	Monoterpènes	Carbures bicycliques	
Cymène ('y') ou <i>p</i> -cymène	Sabinene	α -pinène	β -pinène
			
Alcools acycliques	Phénols		
Citronellol	Géraniol	Carvacrol	Thymol
			

Annexe 03: Structure chimique de certains sesquiterpènes.**Sesquiterpènes**

Carbures	Alcools
Farnesol	Caryophyllène
	

Annexe 04: Structure chimique de certains composés aromatiques

Composés aromatiques			
Aldéhyde	Alcool	Phénol	
Cinnamaldéhyde	Cinnamyl alcool	Chavicol	Eugénol
			

Annexe 05: Composition des milieux de culture**- Gélose LB (Lauria Bertani)**

Extrait de levure	5g
Peptone de caséine	10g
NaCl	5g
Agar	18g
Eau distillée.....	1l

- Gélose MH (Mueller-Hinton)

Infusion de viande de bœuf déshydraté	300g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar Agar.....	13g
Eau distillée	1l

- Gélose de Sabouraud simple

Peptone chapoteau.....	10g
Gélose	20g

Glucose	20g
Eau distillée	1l

- Bouillon Nutritif

Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillée	1l

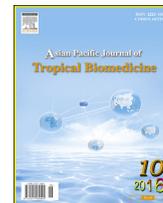
Annexe 06: Produits chimique des tests antioxydant

- DPPH (2,2 diphenyl 1 picrylhydrazyl), MeOH et BHA.
- Tampon acétate, TPTZ, HCl, FeCl₃ et Trolox.
- Le β -carotène, l'acide linoléique, le chloroforme, le Tween 40, H₂O₂ (distillée saturée en oxygène), BHT, MeOH,
- Acide sulfurique, Phosphate de sodium, Molybdate d'ammonium, l'acide ascorbique.



Contents lists available at ScienceDirect

Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/apjtbOriginal article <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.07.014>Essential oils from *Elaeoselinum asclepium*: Chemical composition, antimicrobial and antioxidant propertiesMoufida Bouchekrit^{1*}, Hocine Laouer¹, Mohamed Hajji², Moncef Nasri², Serkos Artin Haroutounian³, Salah Akkal⁴¹Laboratory of Natural Biological Resources Valorization, Faculty of Sciences, University of Setif, 19000, Setif, Algeria²Laboratory of Enzyme Engineering and Microbiology, National School of Engineers of Sfax, BP 1173-3038, Sfax, Tunisia³Chemistry Laboratory, Agricultural University of Athens, Iera Odos 75, 11855, Athens, Greece⁴Valorization of Natural Resources, Bioactive Molecules and Biological Analysis Unit, Department of Chemistry, University of Mentouri Constantine1, 25000, Constantine, Algeria

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 Jan 2016

Received in revised form 24 Feb, 2nd revised form 27 Apr, 3rd revised form 27 Jun 2016

Accepted 15 Jul 2016

Available online 26 Aug 2016

Keywords:

Elaeoselinum asclepium

Apiaceae

Essential oil

Antimicrobial activity

Antioxidant activity

Reducing power

ABSTRACT

Objective: To evaluate the chemical composition of the essential oil isolated from *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. (*E. asclepium*), and test the efficiency of the essential oil as an antimicrobial and antioxidant agent.**Methods:** Essential oil was obtained from the aerial parts of *E. asclepium* by hydro distillation and analyzed by gas chromatography and gas chromatography coupled with mass spectrometry. We study for the first time the chemical composition of the essential oil of *E. asclepium*, followed by the *in vitro* antimicrobial activities, which were evaluated by agar diffusion method against six Gram-positive bacteria, five Gram-negative bacteria, and two fungi. In addition, The antioxidant activities were also investigated using assays of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity and ferric-reducing capacity.**Results:** The analyzed essential oil of the aerial parts of *E. asclepium* was rich in α -pinene (43.9%), other compounds detected in appreciable amounts were sabinene (27.9%) and β -pinene (16.0%). The essential oil yields 1.2%, the IC₅₀ values of essential oil in 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl assay in the reducing power assay were 48.26 mg/mL and at 1 mg/mL, respectively. The absorbance value of essential oil at 700 nm was 0.956. The antimicrobial effect was higher on *Candida albicans* ATCC 1024 strain with the inhibition zone 14.5 mm than bacteria and molds.**Conclusions:** The essential oil of *E. asclepium* has antimicrobial and antioxidant activities. These species may be used as an important source of natural antimicrobial and antioxidant agents.

1. Introduction

Aromatic plants, especially those from the Umbelliferae family are able to synthesize secondary metabolites, such as phenolic compounds, monoterpenes and sesquiterpenes [1].

Essential oil has been known to have antimicrobial and antioxidant proprieties [2–4]. It is worth mentioning that several studies have been conducted using different bacteria and fungi [5,6]. The activity of the chemical side was caused by the presence of terpenes and their oxygenated compounds, and each compound contributes to their biological activities [7–9].

The genus *Elaeoselinum* belongs to Umbelliferae family, Apioidae subfamily (Laserpitieae tribe) [10]. According to Algerian flora [11], the genus *Elaeoselinum* includes two species: *Elaeoselinum asclepium* subsp. *meoides* (Koch.) (*E. asclepium* subsp. *meoides*) (synonym: *Thapsia asclepium* L. or *Laserpitium asclepium* L.) Fiori, called locally Afs or Klikha, and *Elaeoselinum thapsioides* (Desf.) Maire (synonym: *Elaeoselinum fontanesii* Boiss.), called locally Becibsa.

*Corresponding author: Moufida Bouchekrit, Laboratory of Natural Biological Resources Valorization, Faculty of Sciences, University of Setif, 19000, Setif, Algeria. Tel: +213 558932784

E-mail: bouchekritmoufida@gmail.com

Foundation Project: Supported by Project Algero-Tunisienne with grant No. 280/11/07/2012.

Peer review under responsibility of Hainan Medical University. The journal implements double-blind peer review practiced by specially invited international editorial board members.

In Italy, *Elaeoselinum asclepium* (*E. asclepium*) has two subspecies [12]: *Elaeoselinum asclepium* subsp. *asclepium* (synonym: *Elaeoselinum hispanicum* (Lange) Pau), and *E. asclepium* subsp. *meoides* (Desf.) Fiori (synonym: *Elaeoselinum meoides* (Desf.) Koch ex DC).

In connection with the ongoing studies about secondary metabolites from Apiaceae, we are interested in the phytochemical investigation of the components of *E. asclepium* grown in Algeria. The aim of our work is to evaluate two biological activities of the aerial parts of these species: antibacterial and antioxidant activities. The antioxidant activity was evaluated using assays of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and ferric-reducing capacity. On the other hand, the antimicrobial activity was evaluated against a wide range of different pathogenic microorganisms including bacteria, yeast and molds strains.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

DPPH, butylatedhydroxyanile (BHA) were purchased from Sigma–Aldrich (St Louis, MO, USA), potassium ferricyanide (LOBA chemicals), trichloroacetic acid (Scharlau chemicals, Espagne), dipotassium phosphate (ACROS, USA), Monopotassium phosphate (Panreac, Espagne) ferric chloride (Bio-medicals) and other solvents, dimethylsulfoxide (DMSO) were used.

2.2. Plant material

The aerial part of *E. asclepium* (L.) Bertolis was collected in the region of Flifla (Skikda) on July 2013 during the period of blooming at 300 m above sea level. Then, they were freed from the impurities and dried in the shade at an ambient temperature. The collected plant was identified by Prof. Laouer Hocine, Laboratory of Natural and Biological Resources Valorization, Department of Biology and Plant Ecology. Voucher specimen was deposited in the herbarium of the same laboratory of University Ferhat Abbas, Setif 1 (Voucher number 15–2016).

2.3. Essential oil extraction

The dried aerial parts of the studied plant were subjected for 3 h to hydro distillation using a type of Clevenger apparatus. The obtained essential oil was stored at 4 °C until the time of test and analysis.

2.4. Essential oil analysis

2.4.1. Gas chromatography analysis

Chemical analysis of this essential oil was performed on Perkin–Elmer, Clarus 500 gas chromatograph, equipped with a flame ionization detector and HP 5MS 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm film thickness capillary column. The detector, the injector and column temperatures were programmed at 300 °C, 230 °C and (60–280) °C, respectively, the initial rate of this latter equals 3 °C/min. Helium was employed as the carrier gas at rate of 1 mL/min.

2.4.2. GC–MS analysis

The GC–MS analyses were carried using a Hewlett Packard 5973–6890 GC–MS system operating on EI mode (fitted with a HP 5MS), using helium (1 mL/min) as the carrier gas. The first heating column was 60 °C as initial temperature and then it was increased gradually up to 280 °C with a 3 °C/min rate. The different compounds were identified by the comparison of their retention indices [13] obtained by using various *n*-alkanes (C₉–C₂₄). Also, the electron ionization-mass spectra of this analysis was compared with the NIST/NBS, Wiley libraries spectra and literature [14,15]. Furthermore, the marked phytochemicals was confirmed through comparing them with disposable authentic sample.

2.5. Antimicrobial assay

2.5.1. Microbial strains

Antibacterial activity of *E. asclepium* essential oil was tested against 11 strains of bacteria: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S. aureus* ATCC 25923), *Micrococcus luteus* ATCC 4698 (*M. luteus*), *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (*P. aeruginosa*), *Klebsiella pneumonia* ATCC E47 (*K. pneumonia*), *Salmonella typhi* ATCC 19430 (*S. typhi*), *Salmonella enterica* ATCC 43972 (*S. enterica*), methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Listeria inocula* CIP 74915 (*L. inocula*), *Bacillus cereus* ATCC 11778 (*B. cereus*) and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (*E. faecalis*).

Antifungal activity was tested using *Aspergillus niger* 2CA936 (*A. niger*) and *Candida albicans* ATCC 1024 (*C. albicans*).

2.5.2. Agar diffusion method

The study of the antimicrobial activity was carried out following the method of Berghe and Vlietinck [16]. *E. asclepium* essential oil was dissolved at 100 mg/mL in 100% DMSO. Culture suspension (200 µL) of the tested microorganisms 10⁶ CFU/mL of bacteria cells and 10⁸ spores/mL of fungal strains were dispersed on Luria-Burtani and Sabouraud agar medium, respectively. After that, with a sterile borer, holes (6-mm diameter) were made and each hole was filled up with 60 µL of sample essential oil. The positive controls of bacteria and fungi were gentamycin and nystatine, respectively and DMSO as negative reference. The Petri dishes were placed in a cold room (4 °C) for 3 h, and then incubated for 24 h at 37 °C for bacteria, 48 h at 30 °C for *C. albicans* and 8 days for *A. niger* fungal strains. The evaluation of the antimicrobial activity was carried out by estimating the diameter of inhibition zones (mm). The work was repeated twice and the values are the average of two replicates.

2.6. Antioxidant assay

2.6.1. DPPH radical scavenging

The DPPH radical scavenging activity of *E. asclepium* essential oil was performed following the method of Kirby and Schmidt [17] with a few modifications. A volume of 500 µL of essential oil at various concentrations (1–30 mg/mL) was mixed with 375 µL of 99.8% ethanol and 125 µL of DPPH

solution (0.02%) as a free radical source. After that, the preparation was incubated for 1 h in the dark at room temperature. At the end, scavenging capacity was estimated spectrophotometrically by controlling the reduction in absorbance at 517 nm. In its radical form (purple color), DPPH has an absorption band at 517 nm which disappears upon reduction by an antiradical molecule (yellow color). A good radical scavenging activity has been interpreted by decreasing it in mixture absorbance. Synthetic antioxidant, BHA was used as positive reference. DPPH radical scavenging activity was calculated as:

$$\text{DPPH radical scavenging activity \%} = [(A_c - A_s)/A_c] \times 100$$

where, A_c is the absorbance of the control reaction, A_s is the absorbance of *E. asclepium* essential oil. Tests were performed in duplicate. IC_{50} values were estimated by a linear regression.

2.6.2. Ferric-reducing activity

The reducing power of *E. asclepium* essential oils was performed following the method of Yildirim *et al.* [18]. Sample solutions (0.5 mL) with various concentrations (0.5–10.0 mg/mL) of the essential oil added to 1.25 mL of 0.2 mol/L phosphate buffer (pH = 6.6) and 1.25 mL of (10 g/L) $C_6N_6FeK_3$ solution. Then, the preparation was incubated for half an hour at 50 °C. After this time, 1.25 mL of (100 g/L) trichloroacetic acid was added. A 1.25-mL aliquot of the supernatant from each sample mixture was added to 1.25 mL of distilled water and 0.25 mL of (1.0 g/L) $FeCl_3$ solution in a test tube. The absorbance was estimated at 700 nm after 10 min of incubation at room temperature against a blank.

There is a direct relationship between the concentration of essential oil, BHA and reducing power, where the increase of concentration of essential oil and BHA causes an increase in the reducing capacity. EC_{50} value (mg essential oil/mL) is the effective concentration at which the absorbance was 0.5 and it was obtained by interpolation from linear regression analysis [19].

3. Results

3.1. Essential oil analysis

The essential oil obtained from the aerial part of *E. asclepium* picked from the east of Algeria (Flifla-Skikda) was pale yellow with a pleasant and distinct odor for the flowering stage but colorless when the harvest is done in the last stage. The yield of this oil was 1.20% compared with the dry plant weight. Gas chromatography and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) were used to analyze the essential oil produced. In Table 1, the different compounds of essential oil of *E. asclepium* (L.) Bertol. (quantity and quality) were found and arranged in order of elution in Rtx-1 column. Based on the results obtained, forty compounds are adopted which represent 99% of the full oil.

The highest percentages of compounds were monoterpenes such as α -pinene (43.9%), followed by sabinene (27.9%), β -pinene (16.0%), limonene (2.0%) and 4-terpineol (1.4%). However, there is a small amount of α -thujene (monoterpene bicyclic, 0.9%), myrtenal (0.8%), 3-carene (monoterpene

bicyclic, 0.7%), myrcene (monoterpene-hydrocarbon, 0.7%), ρ -cymene (0.6%) and hydrocarbon $C_{10}H_{14}$ (0.6%).

Table 1

Chemical composition of the essential oil of *E. asclepium* analyzed by GC–MS.

Compounds	t_R (min)	RI^{Exp}	RI^{Lit}	%
Hydrocarbon C_8H_{16}	3.668	710	–	0.5
Dimethyl hexane C_8H_{18}	3.797	760	–	0.3
Cis-1,4-dimethylcyclohexane	3.864	780	782	0.1
Trans-1,3-dimethylcyclohexane	3.976	790	790	0.1
Cis-1,2-dimethylcyclohexane	4.520	842	828	Tr
α -Thujene	6.918	923	928	0.9
α -Pinene	7.260	933	936	43.9
Camphene	7.702	948	953	0.3
β -Pinene	8.565	971	978	16.0
Sabinene	8.785	976	976	27.9
Myrcene	9.105	986	991	0.7
α -Phyllandrene	9.731	1003	1005	0.1
3-Carene	9.839	1006	1010	0.7
α -Terpinene	10.146	1013	1018	0.2
ρ -Cymene	10.451	1020	1020	0.6
Limonene	10.718	1028	1031	2.0
(Z)-ocimene	11.310	1040	1040	Tr
(E)-ocimene	11.830	1053	1050	0.3
Cis-sabinenehydrate	12.291	1065	1068	Tr
Isoterpinolene	12.970	1081	1086	Tr
Trans-sabinenehydrate	13.601	1097	1096	Tr
Cis-pinenehydrate	14.640	1120	1122	Tr
α -Camphelenal	14.740	1122	1125	0.1
Hydrocarbon $C_{10}H_{14}$	15.356	1136	–	0.6
Cis-sabinol	15.601	1141	1140	0.5
Trans-pinenehydrate	15.780	1145	1142	Tr
Pinocarvone	16.299	1158	1162	0.4
4-Terpineol	17.165	1177	1177	1.4
ρ -Cymen-8-ol	17.397	1182	1182	0.2
Myrtenal	17.783	1191	1193	0.8
Verbenone	18.281	1202	1204	Tr
Pulegol	18.842	1214	1213	Tr
ρ -Cymen-7-ol	22.044	1287	1287	0.3
Longicyclene or α -ylangene	25.640	1371	1372	Tr
Daucene	26.170	1383	1380	Tr
(E)- β -caryophyllene	27.441	1413	1418	Tr
(Z)- β -farnesene	28.900	1449	1443	Tr
γ -Himachalene	29.976	1475	1476	0.3
α -Selinene	30.049	1488	1494	0.4
Sesquiterpenoid	37.911	1682	–	0.2

Tr: Traces.

3.2. Antimicrobial activity

The results indicated that the essential oil of *E. asclepium* was active against the microorganisms assayed (Table 2). The essential oil tested showed various degrees of antibacterial and antifungal activities against most of bacteria and fungi tested, it was active against *M. luteus* ATCC 4698 (10.0 mm) and *B. cereus* ATCC 11778 (10.0 mm), however, no activity was observed on *S. typhi* ATCC 19430, *E. faecalis* ATCC 29212 and *L. inocula* CIP 74915 bacteria. The other bacterial strains (*S. aureus* ATCC 25923, *S. enterica*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia* ATCC E47) have a diameter of inhibition zones ranging from 8.0 to 9.0 mm. *C. albicans* was the most susceptible with an important inhibition zone of 14.5 mm. At this concentration, inhibition diameters shown by the essential oil were lower than those induced by gentamicin and nystatin.

Table 2Inhibition diameters in mm of *E. asclepium* essential oil (mm).

Bacterial strains	Essential oil	Standard	DMSO
<i>S. typhi</i> ATCC 19430	NI	35.0 ± 1.0 ^a	–
<i>E. coli</i> ATCC 25922	12.0	29.0 ± 1.0 ^a	–
<i>M. luteus</i> ATCC 4698	10.0	24.0 ± 1.0 ^a	–
<i>S. enterica</i> ATCC 43972	8.0	13.0 ± 2.0 ^a	–
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	8.0	25.0 ± 1.0 ^a	–
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	NI	30.0 ± 2.0 ^a	–
MRSA	8.0	27.0 ± 1.0 ^a	–
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	10.0	30.0 ± 2.0 ^a	–
<i>L. inocula</i> CIP 74915	NI	26.0 ± 1.0 ^a	–
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	8.0	35.0 ± 2.0 ^a	–
<i>K. pneumonia</i> ATCC E47	9.0	16.0 ± 1.0 ^a	–
<i>C. albicans</i> ATCC 1024	14.5	21.0 ± 0.1 ^b	–
<i>A. niger</i> 2CA936	NI	11.0 ± 0.1 ^b	–

NI: No inhibition zone; ^a: Gentamicin; ^b: Nystatin.

3.3. Antioxidant activity

3.3.1. DPPH test

The examined essential oil could reduce the stable radical DPPH into DPPH-H. The IC₅₀ value of the essential oil of *E. asclepium* was 48.26 mg/mL, whereas the IC₅₀ of BHA was 12.80 µg/mL. This activity was concentration-dependent.

3.3.2. Ferric-reducing activity

The EC₅₀ value of the essential oil of *E. asclepium* was 0.513 mg/mL, whereas the EC₅₀ of BHA was 22.24 µg/mL. The essential oil exhibited low reducing potential in comparison with BHA. There is a direct relationship between the concentration of essential oil, BHA and reducing power, where the increase of concentration of essential oil and BHA causes an increase in the reducing capacity.

4. Discussion

4.1. Chemical analysis

The essential oil's yield obtained in this study (1.2%) was relatively higher compared to the species yields in the same family: *Daucus carota* ssp. *carota* fruits ranged from 0.8% to 1.6% (v/w), roots up to 0.2% and leaves 0.3% from Ober-Sankt-Veit (v/w) [20], *Astrodaucus persicus* aerial parts 0.6%–0.9% (v/w) while the roots 0.1% (v/w) [21], *Anthemis pedunculata* 0.10% (w/w) and *Anthemis punctata* 0.26% (w/w) [22], *Daucus gracilis* 0.68% (v/w) [23]. However, the essential oil of *Astrodaucus persicus* roots gave a very low rate which was 0.1% (v/w) [21]. Our result is in accordance with other analyses showing similar or low quantities of essential oils: *Foeniculum vulgare* fruit ranged from 1.1% to 2.9% (v/w) [24], *Distichoselinum tenuifolium* flowering umbels yielded 0.1% (v/w), ripe umbels 2.0%–2.6% (v/w) [25]. According to Fellah *et al.* [26], variations in yields could be attributed to several factors such as the extraction technique and the collection period of the plant material [23]. In the study of Guido Flamini *et al.* [27], the yields of *Daucus sahariensis* Eos were different and this is based on the plant's growth phase. In fact, we have observed a lower yield of 0.27% for plants collected at the flower-budding phase in comparison to the higher yields of 0.63% and 0.68% obtained for plants harvested at the flowering and fruiting phase, respectively. Bader *et al.* [10] reported that the

highest essential oil of *E. asclepium* subsp. *meoides* growing in Sicily yield was obtained from the ripe fruits (3.8%), followed by the roots (2.2%) and the aerial parts (0.95%). Zheljzkov *et al.* [28] added the effect of the extraction time.

The results of essential oil's chemical composition are far from those of Evergetis *et al.* [29], which showed that the essential oil of *E. asclepium* is formed by: α -pinene (27.41%), β -pinene (5.23%), myrcene (5.98%) and β -phellandrene (1.63%) are similar for the essential oil of *Elaeoselinum gummiferum* plant [30]. In addition, sabinene, myrcene, α -pinene, β -pinene and camphene were evaluated as main constituents, according to essential oil content of nine commercial varieties of *Daucus carota* ssp. *sativus* (fruits/seeds) and *Daucus carota* ssp. *major* (flowers and fruits) [31]. On the other hand, the chemical analysis of the essential oil of *Elaeoselinum* W.D.J. Koch genus has initially shown the presence of trans- β -farnesene, α -phellandrene, α -copaene, germacrene-D, bicyclogermacrene and α -humulene [29].

Either α -pinene or α + β -pinene as the main constituent it is a common character for all the species, with the exception of *Elaeoselinum tenuifolium* fruits (where myrcene (47.9%) and sabinene (24.3%) were the main components), and one sample of *Elaeoselinum fontanesii* fruits, in which limonene (32.9%) was the principal compound. The analysis of the essential oil of *E. asclepium* subsp. *meoides* revealed the presence of kaurane and epi-13-manoyl oxide in very small amounts. The presence of manoyl oxide in *Elaeoselinum gummiferum* [30] confirms the ability of this genus to synthesize labdanoid terpenes [10]. *Distichoselinum tenuifolium*, distributed widely on the province of Algarve, South Portugal, (= *Elaeoselinum tenuifolium*) is the unique species of the genus. High percentage of myrcene (48%–85%) was not detected in the essential oil of *Elaeoselinum* species [25,30,32].

The study of the larvicidal activity of essential oil of *Oenanthe pimpinelloides* L. (Apiaceae), which essentially contains monooxygenated monoterpenes, indicated that this oil has a high activity against *Culex pipiens* larvae with IC₅₀ = 40.26 mg/L compared to the essential oil of *E. asclepium* (L.) Bertol, which contains pinenes and oxygenated monoterpenes, the activity of this oil was less with IC₅₀ = 96.96 mg/L. The results of this study suggest that the monooxygenated monoterpenes own strong insecticidal activities against *Culex pipiens* L. [29]. According to Bakkali *et al.* [33], the extraction of essential oil under the same conditions from the same part of the plant which should be planted in the same soil, in the same climate and the same season of harvest gives an essential oil with constant composition.

4.2. Microbial test

The propagation of drug resistant pathogens is considered as one of the most dangerous threats to effective treatment of microbial infections. Over the ages, essential oils and other extracts of plants have shown their effectiveness as sources of natural products and mainly for their potential utilization as other remedies for numerous contagious diseases too [34].

Both *E. asclepium* and *Daucus setifolius* essential oils showed low antibacterial activity with all strains tested with varying zone of inhibition (from 6 mm to 13 mm) [35]. The antibacterial activity of *Daucus carota* (*D. carota*) root oils may be slightly related with their main constituents, such as (Z)- α -santalol (14.1%), caryophyllene oxide (10.6%), and

spathulenol (9.8%) [36]. Whereas, the sensitive of the essential oil of *Daucus setifolius* Desf, Bejaia population, was dependent on β -pinene content (41.1%) [35]. *P. aeruginosa* showed natural resistance to many antibiotics [37,38]. On the other side, Satrani *et al.* [39] reported that *E. coli* was more sensitive than *S. aureus* to the essential oils from *Ammi visnaga* (L.) Lam. (Maroc), this antibacterial activity was due to their major components: linalol (22.71%) and methyl-2-butyrate d'isoamyle (27.68%). *C. albicans* was also inhibited by the essential oil of *Daucus gracilis* and the susceptibility was probably due to the high content of the elemicin (35.3%) and the geranyl-acetate (26.8%) in the essential oil [23]. Mileski *et al.* [5] have established that the fractions containing the high concentration of α -pinene and sabinene that inhibited effectively the growth of microorganisms; especially against yeast *C. albicans* which confirm our results with the same strain.

Our work results were in the same axis with several studies which have shown that the essential oils are slightly less active against Gram-negative than Gram-positive bacteria [40,41].

The antimicrobial agents such as essential oil and the majority of antibiotics can easily enter inside Gram-positive bacteria because the cell wall of this type of bacteria is rich on mucopolysaccharides and proteins but less on phospholipids [41,42].

Hajji *et al.* [40] showed that the presence of oxygenated monoterpenes, monoterpene hydrocarbons and aldehydes in essential oils have the ability to inhibit the process of breathing and ions circulation and consequently the destruction of the bacterial cell. The biological activity of essential oil is often attributed to their major components, the moderate antibacterial activity of *E. asclepium* essential oil can be accorded to high amount of monoterpenes such as α -pinene (43.9%) and possibly because of the interaction effect between the different elements of oil [8,25,43].

So in our opinion, the essential oil's antimicrobial activity is thanks to the interactive effect between the major and minor compounds of this essential oil. Based on these results, it can be said that the essential oil of *E. asclepium* is able to inhibit the growth of yeast (*C. albicans*) and both Gram-negative (*E. coli*) and Gram-positive (*S. aureus*, *M. luteus*, *B. cereus*) bacteria. The used concentration of DMSO does not have any antimicrobial effect.

4.3. Antioxidative assay

The DPPH scavenging activity of *E. asclepium* essential oil ($IC_{50} = 48.26$ mg/mL) was weaker than BHA ($IC_{50} = 12.80$ μ g/mL). However, the IC_{50} of Algerian *D. carota* L. essential oil was 40.97 mg/mL [36] which is similar to the IC_{50} of our essential oil. The works of Meliani *et al.* [36] have shown that the essential oils of Algerian *D. carota* L. (stems/leaves) consist primarily of monoterpenes such as α -pinene, sabinene, β -pinene, limonene, myrcene, terpinene-4-ol. It is observed that the chemical composition of *E. asclepium*'s essential oil (Table 1) is relative to *D. carota* L. which reflects the similar DPPH scavenging activity.

The antioxidant activity relies on the chemical composition. It seems that the essential oils which contain oxygenated sesquiterpenes, monoterpenes and phenolic compounds have greater antioxidant properties [9,36,44].

The essential oil's compounds have a direct association with the antioxidant activities. This may be the result of the presence

of high ratio of the main constituents and also the result of the presence of other compounds in low concentration or the synergy between them.

4.4. Ferric-reducing activity

In general, the ferric-reducing test is mainly employed to see the capacity of natural antioxidant in giving an electron or hydrogen [45]. According to various works, there is a direct relation between antioxidant ability and ferric-reducing of some bioactive molecules. For that reason, it is amply believed that the highest absorbance at 700 nm indicates a great reducing power [40]. The reducing power of BHA was significantly more evident relating to the essential oils of aromatic plants.

High percentage of essential oil increased the antioxidant capacity, it means that there are certain elements in essential oil of *E. asclepium* which are electron donors and might react with free radicals to stabilize them and to end radical chain reactions [46]. It can be concluded that this impact could be related to the presence of certain contents that have antioxidant capacity, and also to possible antagonistic and synergistic impact of contents and efficient groups in the essential oil [47].

It may be suggested that like all the medicinal plants, *E. asclepium* contains active substances (α -pinene and β -pinene) and other bioactive substances potentially useful for medicinal properties and as natural food preservation. In the present study, it was found that the essential oil of the aerial part of *E. asclepium* possesses antimicrobial, antioxidant and radical scavenging activities.

Conflict of interest statement

We declare that we have no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors are thankful to Professor Moncef Nasri, Director of Laboratory of Enzyme Engineering and Microbiology, National School of Engineers of Sfax, Tunisia for his great contribution to this work. The authors would like to thank Professor Serkos A. Haroutounian of the Chemistry Laboratory, Agricultural University of Athens, Greece for the GC–MS analysis. This work was financially supported by Project Algero-Tunisienne with grant No. 280/11/07/2012.

References

- [1] Sahebkar A, Iranshahi M. Biological activities of essential oils from the genus *Ferula* (Apiaceae). *Asian Biomed* 2010; 4(6): 835–47.
- [2] Hsouna AB, Trigui M, Mansour RB, Jarraya RM, Damak M, Jaoua S. Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of *Ceratonia siliqua* essential oil with preservative effects against *Listeria inoculated* in minced beef meat. *Int J Food Microbiol* 2011; 148(1): 66–72.
- [3] Hammoudi R, Dehak K, Mahammed MH, Ouldelhadj MD. [Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Deverra scoparia* Coss. and Dur. (Apiaceae)]. *Leban Sci J* 2015; 16(2): 27–36. French.
- [4] Mileski KS, Džamičić AM, Čiričić AD, Grujić SM, Rističić MS, Matevski VS, et al. Radical scavenging and antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Echinophora sibthorpiana* guss. from Macedonia. *Arch Biol Sci* 2014; 66(1): 401–13.

- [5] Mileski KS, Džamić AM, Ćirić AD, Rističić MS, Grujić SM, Matevski VS, et al. Composition, antimicrobial and antioxidant properties of endemic species *Ferulago macedonica* Micevski & E. Mayer *Rec Nat Prod* 2015; **9**(2): 208-23.
- [6] Shukla R, Singh P, Prakash B, Dubey NK. Antifungal, aflatoxin inhibition and antioxidant activity of *Callistemon lanceolatus* (Sm.) sweet essential oil and its major component 1,8-cineole against fungal isolates from chickpea seeds. *Food Control* 2012; **25**: 27-33.
- [7] Ebadollahi A. Plant essential oils from Apiaceae family as alternatives to conventional insecticides. *Ecol Balkanica* 2013; **5**(1): 149-72.
- [8] Ben Marzoug HN, Romdhane M, Lebrihi A, Mathieu F, Couderc F, Abderraba M, et al. *Eucalyptus oleosa* essential oils: chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the oils from different plant parts (stems, leaves, flowers and fruits). *Molecules* 2011; **16**(2): 1695-709.
- [9] Ksouri A, Dob T, Belkebir A, Krinat S, Chelghoum C. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil and the methanol extract of Algerian wild carrot *Daucus carota* L. ssp. *carota*. (L.) Thell. *J Mater Environ Sci* 2015; **6**(3): 784-91.
- [10] Bader A, Cioni PL, Flamini G. GC-MS analysis of the essential oils of ripe fruits, roots and flowering aerial parts of *Elaeoselinum asclepium* subsp. *meoides* growing in Sicily. *Nat Prod Commun* 2010; **5**(7): 1111-4.
- [11] Quezel P, Santa S. *New flora of Algeria and the southern desert regions*. Vol. 2. Paris: CNRS Editions; 1963.
- [12] Pignatti S. *Flora d'Italia*. Vol. 2. Bologna: Edagricole; 1982, p. 241-2.
- [13] Van den Dool H, Kratz PD. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J Chromatogr* 1963; **11**: 463-71.
- [14] Massada Y. *Analysis of essential oil by gas chromatography and spectrometry*. New York: Wiley; 1976.
- [15] Adams RP. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Illinois: Allured; 1995.
- [16] Berghe VA, Vlietinck AJ. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Meth Plant Biochem* 1991; **6**: 47-68.
- [17] Kirby AJ, Schmidt RJ. The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs. *J Ethnopharmacol* 1997; **56**(2): 103-8.
- [18] Yildirim A, Mavi A, Kara AA. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agric Food Chem* 2001; **49**(8): 4083-9.
- [19] Gaamoune S, Harzallah D, Kada S, Dahamna S. Evaluation of antioxidant activity of flavonoids extracted from *Galium tunetanum* Poiret. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 2014; **5**(2): 341-8.
- [20] Chizzola R. Composition of the essential oil from *Daucus carota* ssp. *carota* growing wild in Vienna. *J Essent Oil Bear Plant* 2010; **13**(1): 12-9.
- [21] Goodarzi S, Hadjiakhoondi A, Yassa N, Khanavi M, Tofighi Z. Essential oils chemical composition, antioxidant activities and total phenols of *Astrodaucus persicus*. *Iran J Basic Med Sci* 2016; **19**: 159-65.
- [22] Laouer H, El Kolli M, Boulaacheb N, Akkal S. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Anthemis pedunculata* and *Anthemis punctata*. *Yanbu J Eng Sci* 2014; **9**: 76-83.
- [23] El Kolli M, Laouer H, El Kolli H, Akkal S, Sahli F. Chemical analysis, antimicrobial and anti-oxidative properties of *Daucus gracilis* essential oil and its mechanism of action. *Asian Pac J Trop Biomed* 2016; **6**(1): 8-15.
- [24] Mota AS, Martins MR, Arantes S, Lopes VR, Bettencourt E, Pombal S, et al. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oils of Portuguese *Foeniculum vulgare* fruits. *Nat Prod Commun* 2015; **10**(4): 673-6.
- [25] Tavares AC, Goncalves MJ, Cruz MT, Cavaleiro C, Lopes CM, Canhoto J, et al. Essential oils from *Distichoselinum tenuifolium*: chemical composition, cytotoxicity, antifungal and anti-inflammatory properties. *J Ethnopharmacol* 2010; **130**: 593-8.
- [26] Fellah S, Romdhane M, Abderraba M. [Extraction and a study of essential oils of *Salvia officinalis* from two different regions in Tunisia]. *J Soc Alger Chim* 2006; **16**(2): 193-202. French.
- [27] Flamini G, Smaili T, Zellagui A, Gherraf N, Cioni PL. Effect of growth stage on essential-oil yield and composition of *Daucus sahariensis*. *Chem Biodivers* 2013; **10**: 2014-20.
- [28] Zheljzkov VD, Cantrell CL, Astakie T, Jeliakova E. Distillation time effect on lavender essential oil yield and composition. *J Oleo Sci* 2013; **62**(4): 195-9.
- [29] Evergetis E, Michaelakis A, Kioulos E, Koliopoulos G, Haroutounian SA. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from six Apiaceae family taxa against the West Nile virus vector *Culex pipiens*. *Parasitol Res* 2009; **105**: 117-24.
- [30] Pala-Paul J, Perez-Alonso MJ, Velasco-Negueruela A. A contribution to the knowledge of the oil of *Elaeoselinum gum-miferum* (Desf.) Tutin. *J Essent Oil Res* 2011; **13**: 362-3.
- [31] Flamini G, Cosimi E, Cioni PL, Molfetta I, Braca A. Essential-oil composition of *Daucus carota* ssp. *major* (Pastinacello Carrot) and nine different commercial varieties of *Daucus carota* ssp. *sativus* fruits. *Chem Biodivers* 2014; **11**: 1022-33.
- [32] Ortega T, Carretero ME, Bermejo P, Pardo P. [Essential oils in Umbellifers. Study of essential oil of *Elaeoselinum asclepium* (L.) Bertol. subsp. *asclepium*]. *An Jardín Bot Madrid* 1986; **43**: 121-4. Spanish.
- [33] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem Toxicol* 2008; **46**: 446-75.
- [34] Tepe B, Daferara D, Sokmen M, Polissiou M, Sokmen A. *In vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of *Thymus ezigii* M. Zohary et P.H. Davis. *J Agric Food Chem* 2004; **52**(5): 1132-7.
- [35] Laouer H, Bouheda A, Haroutounian S, Evergetis E, Bouchekrit M, Sahli F, et al. Chemical and biological study of essential oils of two populations of Algerian *Daucus setifolius* Desf. *Pharmacogn Commun* 2013; **3**(1): 7-11.
- [36] Meliani N, Dib MA, Bendiabdellah A, Djabou N, Chikhi I, Allali H, et al. Evaluation of antioxidant activity of essential oil and extracts from Algerian *Daucus carota* L. aerial parts. *Glob J Pharm Res* 2012; **1**(5): 1121-9.
- [37] Henwood CJ, Livermore DM, James D, Warner M. Pseudomonas Study Group. Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*: results of a UK survey and evaluation of the British society for antimicrobial chemotherapy disc susceptibility test. *J Antimicrob Chemother* 2001; **47**(6): 789-99.
- [38] Aboaba S, Akande A, Flamini G. Chemical composition, toxicity and antibacterial activity of the essential oils of *Garcinia mangostana* from Nigeria. *J Essent Oil Bear Plant* 2014; **17**(1): 78-86.
- [39] Satrani B, Farah A, Fechtal M, Talbi M, Bouamrani ML. [Chemical composition and antibacterial and antifungal activity of the essential oil of *Ammi visnaga* (L.) Lam. from Morocco]. *Acta Bot Gallica* 2004; **151**(1): 65-71. French.
- [40] Hajji M, Masmoudi O, Souissi N, Triki Y, Kammoun S, Nasri M. Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from *Periploca laevigata* root barks. *Food Chem* 2010; **121**(3): 724-31.
- [41] Torbati M, Nazemiyeh H, Lotfipour F, Nemati M, Asnaashari S, Fathiazad F. Chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of *Heracleum transcaucasicum* and *Heracleum anisactis* roots essential oil. *Bioimpacts* 2014; **4**(2): 69-74.
- [42] Fraternalia D, Flaminib G, Bisioe A, Albertinid MC, Ricci D. Chemical composition and antimicrobial activity of *Salvia x jamensis* essential oil. *Nat Prod Commun* 2012; **7**(9): 1237-40.
- [43] Mansouri N, Satrani B, Ghanmi M, El Ghadraoui L, Guedira A, Aafi A. [Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of *Juniperus communis* from Morocco]. *Bull Soc Roy Sci Liège* 2011; **80**: 791-805. French.
- [44] Proestos C, Lytoudi K, Mavromelanidou OK, Zoumpoulakis P, Sinanoglou VJ. Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxidants (Basel)* 2013; **2**: 11-22.

- [45] Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J Agr Food Chem* 1992; **40**: 945-8.
- [46] Merghache D, Boucherit-Otmani Z, Merghache S, Chikhi I, Selles C, Boucherit K. Chemical composition, antibacterial, antifungal and antioxidant activities of Algerian *Eryngium tricuspidatum* L. essential oil. *Nat Prod Res* 2014; **28**(11): 795-807.
- [47] Obame LC, Koudou J, Chalchat JC, Bassolé I, Edou P, Ouattara AS, et al. Volatile components, antioxidant and antibacterial activities of *Dacryodes buettneri* H. J. Lam Engl. essential oil from Gabon. *Sci Res Essay* 2007; **2**(11): 491-5.

في إطار تامين الموارد النباتية الجزائرية، قمنا بدراسة الزيوت الأساسية لنباتي *Elaeoselinum asclepium* الذي تم جنيه من ففلة (سكيدة) و *Margotia gummifera* الذي تم جنيه من المنطقة المحيطة بولاية بجاية والذان ينتميان إلى العائلة الخيمية. وقد تم استخلاص الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي باستخدام جهاز من نوع Clevenger ليتم بعدها إجراء التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية بواسطة كروماتوغرافيا الطور الغازي المرفقة بمطيافية الكتلة وكروماتوغرافيا الطور الغازي المرفقة بكاشف تآين اللهب. تمت دراسة النشاطية ضد البكتيرية باستعمال طريقتين: طريقة الانتشار على الوسط الصلب (أقراص إبار) وطريقة الميكروأتموسفير. أما التأثير ضد الفطري، فقد تم تقديره باستعمال طريقة واحدة وهي طريقة الأقراص. كما تمت دراسة النشاطية ضد تأكسدية للزيوت الأساسية باستعمال عدة طرق وهي طريقة DPPH، FRAP، TAC، CUPRIC وكذلك ال-β-carotène. لقد كشف التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية لنبات *Elaeoselinum asclepium* و *Margotia gummifera* عن وجود 40 و 30 مكونا على التوالي، مع هيمنة التربينات الأحادية الهيدروكربونية. وتميز الزيت الأساسي لنبات *E. asclepium* بهيمنة α-pinene (43.9%)، sabinene (27.9%) و β-pinene (16.0%)، في حين أن الزيت الأساسي لنبات *M. gummifera* قد تكون أساسا من α-pinène (34.0%) و β-pinène (41.6%). يتغير الأثر ضد المكروبي للزيوت الأساسية حسب الجراثيم والطرق والتركيزات المستعملة، لكن فعاليتها ضد البكتيريا المختبرة متوسطة على العموم. من خلال الدراسة تبين أن السلالة البكتيرية *S. aureus* هي الأكثر حساسية للزيت الأساسي لنبات *E. asclepium* بقطر تثبيط قدر ب 13 ملم عند التخفيف 2/1 (ح/ح)، بينما كانت السلالة البكتيرية *S. aureus* المقاومة للمضاد الحيوي المتسليين الأكثر حساسية للزيت الأساسي لنبات *M. gummifera* في التخفيف نفسه (12ملم). أما فيما يخص طريقة الميكروأتموسفير، فقد بينت أن الزيت الأساسي لنبات *E. asclepium* هو الأكثر فعالية ضد البكتيريا غرام (+) مقارنة مع الزيت الأساسي لنبات *M. gummifera*. ومن بين السلالات الفطرية المختبرة، نجد أن *Candida albicans* هي الأكثر حساسية لكلا الزيتين بقطر تثبيط قدر ب 13 و 15 ملم على التوالي. كما أبدى الزيتان الأساسيان نشاطا مضادا للجدر التأكسدي (DPPH) ونشاطية ضد تأكسدية (CUPRAC) متناسبة مع التركيز، إضافة إلى امتلاكهما القدرة على إرجاع الحديد والموليبدين (VI) وتثبيط تكوين الجذور الحرة المشتقة من حمض الليونوليك بقيم مختلفة. وفي الختام، يمكن القول ان النوعين النباتيين لهما تأثير دوائي مهم، وهو ما يستدعي التحقق من سمّيتهما.

الكلمات المفتاحية: *Margotia gummifera*، *Elaeoselinum asclepium*، الزيوت الأساسية، النشاطية ضد ميكروبية، النشاطية ضد تأكسدية.

Résumé

Dans le cadre de la valorisation des ressources végétales algériennes, les huiles essentielles de deux plantes de la famille des Apiaceae, à savoir: *Elaeoselinum asclepium*, récoltée de Fel'fla (Skikda), et *Margotia gummifera*, récoltée dans les environs de Béjaïa, ont fait l'objet de cette étude. L'extraction des HE a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. L'analyse chimique des HE a été effectuée par CPG/FID et CPG/SM. L'activité antibactérienne a été mise en évidence par deux méthodes, la méthode de diffusion sur milieu gélosé (disques et puits) et celle de microatmosphère, cependant l'effet antifongique a été estimé par une seule méthode, la méthode des disques. L'activité antioxydante des HE a été réalisée par plusieurs méthodes à savoir la méthode du DPPH, FRAP, TAC, CUPRAC ainsi que la β-carotène. L'analyse chimique de l'HE d'*Elaeoselinum asclepium* et celle de *Margotia gummifera* a révélé la présence de 40 et 30 constituants, respectivement dominés par les monoterpènes hydrocarbonés. L'HE d'*E. asclepium* est caractérisée par la dominance de l'α-pinène (43.9%), sabinene (27.9%) et β-pinène (16.0%) alors que celle de *M. gummifera* est constituée principalement par l'α-pinène (34.0%) et le β-pinène (41.6%). L'effet antimicrobien des HE varie en fonction des germes, les méthodes et les dilutions utilisées mais dans l'ensemble elles sont modérément efficaces sur les bactéries testées. La souche de *S. aureus* est la plus sensible à l'HE d'*E. asclepium* avec un diamètre d'inhibition de 13mm pour la dilution ½ (v/v), par contre la souche *S. aureus* résistante à la méthicilline est la plus sensible à l'HE de *M. gummifera* à la même dilution (12mm). Quant à la méthode de microatmosphère, l'HE d'*E. asclepium* est plus efficace à l'encontre des bactéries Gram (+) par rapport à l'HE de *M. gummifera*. Parmi les souches fongiques testées, *Candida albicans* est la plus sensible à l'huile d'*E. asclepium* et celle de *M. gummifera* avec un diamètre de 13 et 15mm, respectivement. Les HE ont montré également une activité antiradicalaire (DPPH) et antioxydante (CUPRAC) dose dépendante. De même, les deux HE ont une tendance de réduire le fer et le molybdène (VI) et d'inhiber la formation des radicaux libres dérivés de l'acide linoléique avec des valeurs différentes. En conclusion, les deux espèces végétales ont un effet pharmacologique intéressant, ce qui nécessite plus d'investigation du côté de toxicité.

Mots clés: *Elaeoselinum asclepium*, *Margotia gummifera*, Apiaceae, huiles essentielles, activité antimicrobienne, activité antioxydante.

Abstract

In the framework of the valorization of Algerian plant resources, the essential oils of two plants of the Apiaceae family, namely: *Elaeoselinum asclepium* harvested from Fel'fla (Skikda) and *Margotia gummifera* harvested in the vicinity of Béjaïa are the subject of this study. The extraction of EO was carried out by hydro-distillation using a Clevenger apparatus type. The chemical analysis of EO was performed by GC/FID and GC/MS. The antibacterial activity was demonstrated by two methods, the diffusion method on agar medium (discs and wells) and that of microatmosphere, however the antifungal effect was estimated by one method, the disc method. The antioxidant activity of EO was carried out by several methods, namely the DPPH, FRAP, TAC, CUPRAC and β-carotene method. The chemical analysis of the EO of *Elaeoselinum asclepium* and that of *Margotia gummifera* revealed the presence of 40 and 30 constituents, respectively dominated by the hydrocarbon monoterpenes. The EO of *E. asclepium* is dominated by α-pinene (43.9%), sabinene (27.9%) and β-pinene (16.0%), while that of *M. gummifera* is mainly composed of α-pinene (34.0%) and β-pinene (41.6%). The antimicrobial effect of EO varies depending on the germs, the methods and the dilutions used but overall they are moderately effective on the bacteria tested. The strain of *S. aureus* is the most sensitive to the EO of *E. asclepium* with an inhibition diameter of 13mm for ½ dilution, whereas the *S. aureus* methicillin resistant strain is the most sensitive to the EO of *M. gummifera* at the same dilution (12 mm). As for the micro-atmosphere method, the EO of *E. asclepium* is more effective against Gram (+) bacteria than the EO of *M. gummifera*. Among the fungal strains tested, *Candida albicans* is the most sensitive to the EO of *E. asclepium* and that of *M. gummifera* with a diameter of 13 and 15mm, respectively. The EOs also showed antiradical (DPPH) and antioxidant activity (CUPRAC) dose-dependent. Similarly, both EOs have a tendency to reduce iron and molybdenum (VI) and inhibit the formation of free radicals derived from linoleic acid with different values. In conclusion, both plant species have an interesting pharmacological effect, which requires more investigation of their toxicity.

Key words: *Elaeoselinum asclepium*, *Margotia gummifera*, Apiaceae, essential oils, antimicrobial activity, antioxidant activity.