

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، سétif 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT De Biologie Et Ecologie Végétales

N° ...../SNV/2021

THÈSE

Présentée par

**MEKHADMI Nour Elhouda**

Pour l'obtention du diplôme de

**DOCTORAT EN SCIENCES**

**Filière: BIOLOGIE**

**Spécialité: VALORISATION DES RESSOURCES VÉGÉTALES**

THÈME

**Etude Phytochimique et Activités Biologiques des Huiles  
Essentielles de *Matricaria pubescens* Desf. du Sud Algérien**

Soutenue publiquement le ...../...../2021

DEVANT LE JURY

Président	Pr. BEN MAHAMED Amar	UFA Sétif 1
Directeur	Pr. RAMDANI Messaoud	UFA Sétif 1
Examineurs	Pr. LAOUER Houcine	UFA Sétif 1
	Pr. DAHBI Aicha	Université de Bejaia
	Pr. AHMADI Ridha	Université d'El Oued
	Pr. SALHI Nasrine	Université d'Ouargla

*Laboratoire de valorisation des ressources Biologiques naturelles.*

## PUBLICATIONS

*Nour Elhouda Mekhadmi, Messaoud Ramdani, Takia Lograda, Pierre Chalard, Gilles Figueredo. Chemotypes and antibacterial activity of Matricaria pubescens of Algeria. BIODIVERSITA, 20(11): 3170-3179. DOI: 10.13057/biodiv/d201109*

## COMMUNICATIONS

*NOUR ELHOUDA MEKHADMI, M. RAMDANI (2019). Chemical and antimicrobial properties of essential oil of M Matricaria pubscens from Algerian Sahara. The Second international Symposium MPM-2019 in Touzeur (Tunisia) on February 15 to 17.*

*NOUR ELHOUDA MEKHADMI, M. RAMDANI, C. ADEL NADJIB, (2018). L'activité biologique de l'extrait aqueuse et l'huile essentielle la plante spontanée aromatique de région Oued Souf (Matricaria pubscens) et utilisation des extraits dans les produites laitières comme un arôme naturel ». Séminaire International sur les Plantes Médicinales(SIPM) à l'université d'El oued 17-18 janvier 2018 El-oued Algérie.*

*NOUR ELHOUDA MEKHADMI, C. ADEL NADJIB, M. RAMDANI (2017). Utilisation des deux plantes spontanées aromatiques sahariennes de région d'Ouargla Matricaria pubscens et Pituranthos chloranthos dans les produites laitières (fromage AMIR) comme un arôme naturel SNVSN à l'université d'el oued le 11-12 octobre 2017.*

*NOUR ELHOUDA MEKHADMI, C. ADEL NADJIB, M. RAMDANI (2016). L'activité biologique de Matricaria pubscens de l'extrait aqueuse et l'huile essentielle 2ème séminaire national biologie et santé (SNPS) à l'université d'el oued 2016.*

## الملخص :

تستفيد الجزائر من مجموعة متنوعة للغاية من المناخات التي تفضل تنمية النباتات الغنية والمتنوعة. يهدف هذا العمل إلى تثمين النبات العطري الطبي *M. pubescens* بتقييم شامل للمكونات الكيميائية وبعض الأنشطة الحيوية للزيوت الأساسية المستخلصة من الأجزاء العلوية المزهرة المحصل عليه من 14 موقعا مختلفا في الجزائر. تم تحليل هذه الزيوت بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية و الكروماتوغرافيا الغازية المقترنة بمطيافية الكتلة، حيث تم التعرف على 34 مركب مما يشكل ما نسبته  $99,22 \pm 0,891\%$  من إجمالي مكونا الزيوت أبدت هذه الزيوت اختلافات من حيث التكوين. وجد أن الزيوت الطيارة ل *M. pubescens* تحتوي أساسا على نسبة  $83.75\%$  من التربينات الأحادية الهيدروكربونية و نسبة  $11.46\%$  من السيسكوتربينات الأحادية الهيدروجينية ، وكانت المركبات الأساسية كالتالي :  $\beta$ -ocimene (Z)  $\beta$ -bulnesene ( $4,96 \pm 10,6\%$ ), ocimene-allo ( $4,46$  و  $(47,41 \pm 13,67\%)$ ),  $\alpha$ -pinene ( $19 \pm 7,36\%$ )  $\pm 1,3\%$ ), 1-phenyl-penta-2,4-diyne ( $4,06 \pm 5,7\%$ ), limonène ( $3,84 \pm 1,8\%$ ), caryophyllene ( $2,36 \pm 3,6\%$ ) و  $\gamma$ -bisabolene-E ( $2,08 \pm 4,3\%$ ).soxide أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للزيوت المدروسة وجود أربعة أنماط كيميائية، النمط الكيميائي  $\beta$ -bulnesene و Caryophyllene oxide و 1-phenyl-penta-2,4- و diyne و Ocimene allo . في الجزء الثاني تم دراسة النشاطية ضد الميكروبات باستخدام طريقة الانتشار في وسط صلب و تحديد التركيز الأدنى للتنشيط (CMI). أبدت هذه الزيوت فعالية عالية كمضادات للميكروبات ضد أغلبية سلالات البكتريا الممرضة من و الخميرة *candida albicans*، حيث تراوحت قيمة أقل تركيز مثبط بين  $0,093$  و  $3$  مغ/مل. وتظهر الدراسة أن السلالتين *Protus mirabilis* ATCC35659 و *Staphylococcus aureus* ATCC2592 الأكثر حساسية من بين السلالات المدروسة بتركيز أدنى مثبط  $0,05$  إلى  $0,375$  مغ/مل . تم تقدير النشاطية الحيوية المضادة للأكسدة للزيوت الطيارة بطريقة الـ DPPH . حيث أبدت الزيوت الطيار قدرة على إزاحة الجذر الحر DPPH ، حيث تعد هذه النشاطية ضعيفة نوعا ما مقارنة ب حمض الاسكوربيك.

**الكلمات المفتاحية:** زيوت الطيارة ، النمط الكيميائي ، نبات *M. pubescens* ، النشاطية المضادة للميكروبات، النشاطية المضادة للأكسدة

## Abstract :

Algeria benefits from a very varied range of climates favoring the development of rich and diversified flora. This work is interested in the valorization of a medicinal aromatic plant growing in a spontaneous state in Algeria *Matricaria pubescens* collected on 14 different stations, by their evaluation of the composition and the biological activities of EOs extracted from the flowering aerial parts. The oils were analyzed by GC and GC/MS, where a total of 34 compounds were identified, representing  $99,22\% \pm 0,891$  of the total oil contents. Our 14 oils differed considerably in their composition. These EOs were characterized by the predominance of hydrocarbon monoterpenes (83,75%) and hydrocarbon sesquiterpenes (11,46%). The main constituents of these oils were  $\beta$ -ocimene (Z) ( $47.41 \pm 13.67\%$ ),  $\alpha$ -pinene ( $19 \pm 7,36\%$ ),  $\beta$ -bulnesene ( $4,96 \pm 10,6\%$ ), ocimene-allo ( $4,46 \pm 1,3\%$ ), 1-phenyl-penta-2,4-diyne ( $4.06 \pm 5.7\%$ ), limonene ( $3,84 \pm 1,8\%$ ), caryophyllene oxide ( $2,36 \pm 3,6\%$ ) and  $\gamma$ -bisabolene-E ( $2,08 \pm 4,3\%$ ). The results of the chemical composition analysis indicate 04 chemotypes:  $\alpha$ -bulnesene chemotype, Caryophyllene oxide-rich chemotype, 1-phenyl-penta-2,4-diyne chemotype, and Ocimene allo chemotype. The second part consists on the antimicrobial study and the antioxidant activity of essential oils. The antimicrobial potential of essential oils is studied by the disk method and microdilution in a liquid medium, on eight bacterial reference strains and one yeast. In addition, the antioxidant activity is assessed by the DPPH radical reduction method. Our 14 HEs showed good antimicrobial activities against most pathogenic strains of bacteria and yeast tested at minimum inhibitory concentration (MIC) values ranging from 0,093 to 3 mg/mL. The HEs of *M. pubescens* exhibited strong inhibitory activity against the *Protus mirabilis* ATCC35659 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923 strains with a MIC of around (0,375 to 0,05 mg / ml). The results showed that the essential oils of *M. pubescens* have a moderately weak antioxidant power than that of ascorbic acid.

**Keywords:** essential oil, *Matricaria pubescens*, chemotypes, antimicrobial activities, antioxidant activities.

## Résumé

L'Algérie bénéficie d'une gamme très variée de climats favorisant le développement d'une flore riche et diversifiée. Ce travail s'intéresse à la valorisation de la plante aromatique médicinale poussant à l'état spontané dans Algérie *Matricaria pubescens* récoltée sur 14 stations différentes, par leur évaluation de la composition et des activités biologiques des HEs extraites des parties aériennes fleuries. Les huiles ont été analysées par **CG et CG/SM**, où un total de 34 composés a été identifié, représentant de  $99,22\% \pm 0,891$  du contenu total de l'huile. Nos 14 huiles diffèrent considérablement de par leur composition. Ces HEs sont caractérisées par la prédominance des monoterpènes hydrocarbonés (83,75 %) et des sesquiterpènes hydrocarbonés (11,46 %). Les principaux constituants de l'huile sont  $\beta$ -ocimène (Z) ( $47,41 \pm 13,67\%$ ),  $\alpha$ -pinène ( $19 \pm 7,36\%$ ),  $\beta$ -bulnesène ( $4,96 \pm 10,6\%$ ), ocimène-*allo* ( $4,46 \pm 1,3\%$ ), 1-phenyl-penta-2,4-diyne ( $4,06 \pm 5,7\%$ ), limonène ( $3,84 \pm 1,8\%$ ), caryophyllène oxide ( $2,36 \pm 3,6\%$ ) et  $\gamma$ -bisabolène-E ( $2,08 \pm 4,3\%$ ). Les résultats de l'analyse de la composition chimique indiquent 04 chimotypes : chimotype de  $\alpha$ -bulnesène, chimotype riche en Caryophyllène oxide, un chimotype de 1-phenyl-penta-2,4-diyne et chimotype Ocimène *allo*. La deuxième partie consiste en l'étude anti microbienne et de l'activité antioxydante des huiles essentielles. Le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles est étudié par la méthode de disque et de la microdilution en milieu liquide, sur des huit souches bactériennes de références et une levure. En outre, L'activité antioxydante est évaluée par la méthode de la réduction du radical DPPH. Nos 14 HEs ont présenté de bonnes activités antimicrobiennes envers la plupart des souches pathogènes testées des bactéries, et la levure à des valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) allant de 0,093 à 3 mg/mL. Les HEs de *M.pubescens* ont présentés une forte activité inhibitrice vis-à-vis les souches *Protus mirabilis* ATCC35659 et *Staphylococcus aureus* ATCC25923 avec une CMI de l'ordre de (0,375 à 0,05 mg/ml). Les résultats ont montré que les huiles essentielles de *M.pubescens* sont dotées d'un pouvoir antioxydant moyennement faible que celui de l'acide ascorpique.

**Mot clé :** huile essentielle, *Matricaria pubescens*, chimotypes, activités antimicrobiennes, activités antioxydants.

## **REMERCIEMENTS**

*A l'issue de cette thèse, je remercie avant tout DIEU, tout puissant, de m'avoir donné volonté, courage et patience pour enfin arriver à réaliser ce modeste travail scientifique.*

*Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de Thèse, le Professeur **Ramdani Messaoud** pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant d'encadrer la réalisation de cette thèse, et de n'avoir jamais cessé de croire en moi. Je vous remercie pour votre présence, votre aide, votre rigueur scientifique, vos conseils et votre soutien dans les moments difficiles*

*Je tiens à remercier les membres du jury pour avoir bien voulu évaluer ce travail, qu'ils trouvent ici ma gratitude et mes remerciements :*

*Je remercie Monsieur **BEN MAHAMED Amar** Professeur à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1, qui a accepté de consacrer son temps en examinant le manuscrit autant que président de jury.*

*Mes remerciements vont également aux respectueux Professeurs Monsieur **LAOUER Hocine** de l'Université Ferhat Abbas Sétif 1, Monsieur **AHMADI Rida** de l'Université chahide Hamma lakhdar Eloued, Madame **DAHBI Aicha** de l'Université de Bejaia et à Madame **SALHI Nasrine** de l'Université de Ouargla, , qui ont accepté d'être les rapporteurs de cette thèse et dont les remarques étaient bénéfiques et importantes pour ce travail.*

*Mes profonds remerciements vont aussi à Pr. **MASTOURI Maha** directeur du Laboratoire des Maladies Transmissibles et Substances Biologiquement Actives LR99ES27, Faculté de pharmacie de Monastir, Tunisie, pour son aide dans la réalisation des analyses microbiologiques.*

*Mes profonds remerciements vont aussi à madame **Boukhebt habiba** maitre-conférence à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1 et Madame **Sabrina Cherragui ingénieur du laboratoire de recherche (VRBN)** pour leur aide, conseils et leur gentillesse. Mes plus profonds remerciements vont à ma famille, mon soutien psychique et morale, qui a vécu avec ardeur toutes les étapes de la réalisation de cette thèse.*

*Enfin, je remercie tous ceux qui ont contribué de près ou de loin dans à la réalisation de ce travail.*

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> Composés majoritaires des huiles essentielles du <i>M. chamomilla</i> .....	22
<b>Tableau 2:</b> Composés majoritaires des huiles essentielles des <i>M. recutita</i> et <i>M. pubescens</i> .....	24
<b>Tableau 3:</b> Coordonnés géographiques des stations d'étude .....	29
<b>Tableau 4:</b> la composition chimique des huiles essentielles de <i>Matricaria pubescens</i> .....	43
<b>Tableau 5:</b> composés de l'huile essentielle utilisée dans les analyses statistiques .....	47
<b>Tableau 6:</b> Matrice de corrélation des composants de l'huile essentielle de <i>M. pubescens</i> .....	49
<b>Tableau 7:</b> Chemotypes de <i>M. pubescens</i> d'Algérie .....	56
<b>Tableau 8:</b> Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de <i>Matricaria pubescens</i> .....	59
<b>Tableau 9:</b> Effets des moyennes et les interactions d'huile essentielle de <i>M. pubescens</i> .....	60
<b>Tableau 10 :</b> L'efficacité des huiles essentielles de <i>M. pubescens</i> des plusieurs sites d'échantillonnages contre huit espèces de bactéries .....	61
<b>Tableau 11 :</b> Effets des dilutions des huiles essentielles sur la zone inhibition des bactéries testées .....	62
<b>Tableau 12:</b> Groupes de sensibilité des bactéries testées aux huiles essentielles de <i>M. pubescens</i> .....	62
<b>Tableau 13:</b> Concentration minimale inhibitrice (mg/mL) d'huile essentielle de <i>M. pubescens</i> .....	63
<b>Tableau 14 :</b> Activité anti-radicalaire des HEs de <i>M. pubescens</i> .....	68
<b>Tableau 15:</b> Groupes d'activité anti-radicalaire aux huiles essentielles de <i>M. pubescens</i> .....	69

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b> Espèce <i>Matricaria pubescens</i> (Desf.) .....	6
<b>Figure2:</b> Glandes productrices d'huile essentielle de <i>Matricaria pubescens</i> .....	10
<b>Figure 3 :</b> Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation .....	13
<b>Figure 4 :</b> Feuille, fleur de <i>Matricaria pubescens</i> .....	27
<b>Figure 5 :</b> Zone d'échantillonnage de l'espèce <i>Matricaria pubescens</i> .....	28
<b>Figure 6 :</b> Dispositif d'extraction de type Clevenger .....	30
<b>Figure 7 :</b> principe de méthode de la diffusion sur disques .....	34
<b>Figure 8 :</b> principe Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) .....	37
<b>Figure 9 :</b> Variation des rendements des HEs du <i>M. pubescences</i> .....	40
<b>Figure10:</b> Variation de rendement des HE de <i>M. pubescens</i> en fonction de l'altitude .....	41
<b>Figure 11 :</b> Chromatogramme GC/Mass et GC/FID de <i>Matricaria pubescens</i> (population Djemaa) .....	42
<b>Figure 12 :</b> Classes chimiques de l'huile essentielle de <i>M. pubescens</i> .....	45
<b>Figure 13 :</b> Variation de la concentration des composés chez <i>M.pubescens</i> .....	48
<b>Figure 14:</b> Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x2) .....	50
<b>Figure 15:</b> Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x3) .....	51
<b>Figure 16 :</b> projection de populations de <i>M.pubescens</i> , sur le plan 1-2 .....	52
<b>Figure 17 :</b> projection de populations de <i>M.pubescens</i> , sur le plan 1-3 .....	53
<b>Figure 18 :</b> Projection spatiale des14 population de <i>M.pubescens</i> .....	54
<b>Figure 19 :</b> UPGMA cluster des populations de <i>M.pubescens</i> .....	55
<b>Figure 20:</b> Profil des valeurs de désirabilité des populations des huiles essentielles de <i>Matricaria pubescens</i> .....	65
<b>Figure 21 :</b> Courbes des activités antioxydants des huiles essentielles des 14 populations de <i>M.pubescens</i> .....	72
<b>Figure 22:</b> Activité anti radicalaire des HEs Chaque valeur représente la moyenne comparant avec le contrôle positif (A.A) .....	73

## LISTE DES ABREVIATIONS

**A.C** : Acide Ascorpique

**ATCC**: American Type Culture Collection

**ACP** : Analyse en Composantes Principales

**AMX**: Amoxicilline

**CG/MS**: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrophotométrie.de masse

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**DO** : Densité optique

**CZ**: Cefazoline

**CL**: Colistine

**GEM**: Gentamicine

**CPG**: Chromatographie en phase gazeuse.

**DMSO**: diméthylsulfoxyde

**DPPH**: (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl)

**FID**: détecteur à ionisation de flamme

**HE**: Huile essentielle.

**HP**: Hewlett-Packard

**IC50**: concentration inhibitrice médiane

**MH** : milieu Mehuer Hinton

**IR**: Indice de rétention

**KI**: Indice de Kovats.

**UFC**: Unité Formant Colonie

**UPGMA**: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means

**TR**: temps de rétention

# SOMMAIRE

INTRODUCTION .....	1
<b>CHAPITRE I : RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
1- Généralités sur la famille des Astéracées .....	4
1-1- Intérêt thérapeutique des Astéracées .....	4
1-2- Genre <i>Matricaria</i> .....	5
1-2-1- <i>Matricaria pubescens</i> Desf. ....	5
1-2-2- Systématique de <i>Matricaria pubescens</i> .....	6
1-2-3- Composition chimique de <i>Matricaria pubescens</i> .....	7
1-2-4- Domaines d'utilisation du <i>Matricaria pubescens</i> Desf. ....	8
2- Les huiles essentielles .....	9
2-1- Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante .....	9
2-2- Composition chimique .....	10
2-2-1- Les terpènes .....	11
2-2-2- Composés aromatiques dérivés du phénylpropane .....	11
2-2-3- Composés d'origine variée .....	12
2-3- Méthode d'extraction des huiles essentielles .....	12
2-3-1- Entraînement à la vapeur d'eau .....	12
2-3-2- Hydrodistillation .....	12
2-3-3- Extraction par micro-ondes .....	13
2-3-4- Extraction par les solvants et extraction au CO <sub>2</sub> .....	14
2-4- Analyse des huiles essentielles .....	14
2-4-1- Chromatographe en phase gazeuse CPG .....	14
2-4-2- Le couplage CPG/SM .....	15
1-5- Facteurs de variabilité des huiles essentielles .....	15
2-6- Les activités biologiques des huiles essentielles .....	17

2-6-1- L'activité antimicrobienne .....	17
2-6-2- L'activité antioxydant .....	18
2-7- Activités biologiques des Huiles essentielles du genre <i>Matricaria</i> .....	19
2-8- Composition chimiques des Huiles essentielles du genre <i>Matricaria</i> .....	21

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1-Matériel végétal .....	27
1-1-Description d'espèce <i>Matricaria pubescens</i> .....	27
2- Méthodes .....	29
2-1- Extraction des huiles essentielles .....	29
2-2- Analyse des huiles essentielles de <i>Matricaria pubescens</i> par CPG et CPG/MS.....	30
2-3- Activités biologiques .....	32
2-3- 1- Activités antimicrobiennes des huiles essentielles .....	32
2-3-1-1- Méthodologie des tests antibactériens .....	33
a- Méthode de Diffusion en milieu solide ou aromato biogramme .....	33
b- Méthode de microdilution en milieu liquide .....	34
2-3-2- Activité antioxydant .....	36
2-3-2-1- Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) .....	36
2-3-2-2- Protocole .....	37
2-4- Etude statistiques .....	38
2-4-1- Analyse en Composantes Principales (A.C.P.) .....	38
2-4-2- Technique statistique Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means (UPGMA) .....	38
2-4-3-Analyse statistiques des résultats des Activités biologique .....	38
2-4-3-Teste de désirabilité .....	38

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1- Rendements en huile essentielle de <i>M. pubescens</i> .....	40
-----------------------------------------------------------------	----

2- Composition chimique des huiles essentielles .....	42
3- Variabilité chimique des huiles essentielles de <i>M. pubescens</i> .....	46
3-1-Matrice des corrélations .....	48
3-2-Cercle des corrélations .....	49
3-3- Etude des populations .....	51
2-Résultats microbiologiques .....	58
2-1 L'analyse statistique par ANOVA de l'activité antibactérienne .....	60
2-2 Concentration minimale inhibitrice (mg/mL) de l'huile essentielle de <i>M.pubescens</i> .....	63
2-3 Teste de désirabilité .....	64
3- Activité antioxydant .....	68
CONCLUSION.....	76
REFERENCES .....	79
ANNEXE	

# INTRODUCTION

## Introduction

Depuis la plus haute antiquité, l'homme a utilisé les plantes trouvées dans la nature dans plusieurs domaines, tels que la parfumerie, la pharmacologie et l'agroalimentaire, et pour traiter des maladies (Roosta *et al.*, 2017).

Plus de 20000 plantes aromatiques et médicinales sont utilisées (Pandey *et al.*, 2013 ; Nile *et al.*, 2017) en médecine traditionnelle. Ces plantes continuent de fournir des agents thérapeutiques intéressants, à la fois pour la médecine moderne et traditionnelle. En effet, les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes tels que (flavonoïdes, huile essentielle, vitamine, saponines, caroténoïdes, terpènes, polyphénols, alcaloïdes) dont certaines sont issues du métabolisme secondaire (Bouzouita *et al.*, 2008).

Les plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent les huiles essentielles (HE) connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire (Samarath *et al.*, 2017). Les huiles essentielles sont des substances naturelles complexes, possédant des caractéristiques physico-chimiques bien définies, et répondant à des critères de qualité qu'il faut connaître pour éviter tout risque de toxicité qui peut se révéler dangereuse pour la santé (Haddouchi et Ben mansour, 2008). Par ailleurs, ces produits présentent une grande variabilité de leurs constituants chimiques, leur attribuant de nombreuses propriétés médicinales et biologiques qu'il convient de connaître et de valoriser (Rashid *et al.*, 2010 ; Shaaban *et al.*, 2012).

La grande utilisation des antibiotiques en médecine pour lutter contre les micro-organismes pathogènes ne sont pas totalement inoffensifs pour l'organisme et peuvent provoquer, de nombreux effets indésirables, Par conséquent. Il est nécessaire de rechercher de nouvelles molécules antimicrobiennes naturelles pour inhiber les divers microorganismes pathogènes (Rudramurthy *et al.*, 2016).

De nombreux travaux montrent que les huiles essentielles présentent une activité antiseptique non négligeable (Attou, *et al.*, 2017 ; Boukhalfoun *et al.*, 2020). Elles possèdent des activités antibactériennes, antivirale, antioxydante, antiparasitaire et anticancéreuse (Shojaee-Aliabadi, 2013 ; Larbi *et al.*, 2018). Par conséquent, elles peuvent constituer un puissant outil de réduction de développement et de dissémination de la résistance bactérienne (Stefanakis *et al.*, 2013).

Les antioxydants naturels sont apparus comme une alternative aux antioxydants de synthèse qui sont de moins en moins utilisés dans l'industrie alimentaire à cause de leurs effets secondaires nuisibles (Brewer, 2011). Cependant, Les antioxydants naturels peuvent

protéger le corps humain contre les radicaux libres et retarder la progression de nombreuses maladies chroniques, ainsi que le rancissement oxydatif des lipides dans les aliments (Shebis et *al.*, 2013 ; Ribeiro et *al.*, 2019).

Les huiles essentielles sont des sources potentielles de constituants chimiques naturels doués d'activité antioxydante. Les HE ont la particularité d'inhiber la peroxydation des lipides en agissant comme donneur de proton et accepteur de radicaux libres, stoppant ainsi le mécanisme d'auto-oxydation (Viuda-Martos et *al.*, 2010 ; Jayasena et Jo, 2014 ).

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours des dernières années. La flore algérienne comprend 3300 espèces dont 648 espèces appartiennent à la famille des Astéracées (Quézel et Santa 1962-1963 in Chatelain et *al.*, 2018). Le nombre des espèces endémiques dans la flore algérienne se situe au environ de 250 espèces (Quézel et Santa 1962, 1963).

Les Matricaires (*Matricaria pubescens*) sont des plantes médicinales qui appartiennent à la famille des Astéracées. Ils se distinguent, du point de vue chimique, par leurs substances phénoliques et phosphatées et les propriétés de leurs matériaux anti-inflammatoires qui leurs confèrent des caractéristiques antimicrobiens, antioxydants et insecticides (Abdelatif, 2011).

Les principaux objectifs de cette recherche sont basés sur deux axes ;

- ❖ Caractérisation chimique des différents composants des huiles essentielles de 14 populations de *Matricaria pubescens* obtenues par hydrodistillation et analysent par la Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse GC/MS.
- ❖ L'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles (activité antimicrobiennes et l'évaluation du pouvoir antioxydant des huiles essentielles)

Notre manuscrit est divisé en trois chapitres :

Le premier chapitre est divisé en deux parties, dont le premier présente une étude descriptive et caractéristique phytochimique de la famille des *Asteraceae* et du genre *Matricaria*, le deuxième est consacré aux huiles essentielles et leurs activités biologiques.

Le second chapitre regroupe la description des stations d'étude, le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude.

Dans le troisième chapitre nous présenterons les résultats obtenus et leurs discussions. Enfin une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

**CHAPITRE I:**  
**SYNTHÈSES**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

**1- Généralités sur la famille des Astéracées**

La famille des Astéracées du grec « Aster » signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur (Bruneton, 1999). Anciennement nommée Composées. Les Astéracées est une famille qui comprend près de 25000 espèces réparties en 1300 genres. Il existe actuellement 12 sous-familles, incluant elles-mêmes 43 tribus (Ducombs, 2012). En Algérie, il en existe 109 genres et 408 espèces (Quézel et Santa, 1962-1963).

Les Astéracées sont principalement des plantes herbacées, buissons ou arbres. Les canaux résinifères sont souvent présents, de même que les laticifères. Les matières de réserve sont constituées d'oligosaccharides, entre autre l'inuline. Il y a présence générale de poly-acétylènes et d'huiles essentielles (Bruneton, 1999).

Une des propriétés typiques de la famille des Astéracées est sa richesse en composés naturels divers. Les lactones sesquiterpéniques, représentent des principes amers typiques de cette famille, les corps insaturés, les flavonoïdes, les coumarines, les polyphénols, les terpènes (Lepoittevin, 2012). La richesse en constituants chimiques des Astéracées explique la diversité de leurs activités pharmacologiques (Bruneton, 2016).

Les Anthemideae est l'une des plus grande tribu de la famille des Astéracées comprenant, environ 111 genres et 1800 espèces dans le monde, La plupart des Anthemideae étudiées ont le nombre de base  $x = 9$ , qui prédomine dans cette tribu et dans toute la famille des Astéracées (Valles et *al.*, 2005 ; Inceer et Ozcan, 2011).

**1-1- Intérêt thérapeutique des Astéracées**

La famille des Astéracées regroupe des espèces d'une grande importance thérapeutique. Dans de nombreux cas, l'effet thérapeutique de ces plantes médicinales a été corrélé à la présence de métabolites secondaires de types lactones sesquiterpéniques. L'un des cas les plus connus est celui de l'artémisinine, lactone sesquiterpénique aux propriétés antipaludiques, isolée d'*Artemisia annua* (Graziose et *al.*, 2010). Il a été démontré que deux espèces d'*Arnica* (*Arnica montana* et *A. chamissonis*) utilisées traditionnellement dans le traitement des contusions, hématomes, rhumatismes et inflammation de la peau, synthétisant de l'hélénaline, du  $11\alpha,13$ -dihydrohélénaline et le chamissonolide, lactones sesquiterpéniques, pour lesquelles des propriétés anti-inflammatoires ont été mises en évidence (Bruneton, 2016). Actuellement, 43 espèces d'*Asteraceae* sont inscrites dans la liste des plantes médicinales de la Pharmacopée française (2014). Les propriétés biologiques attribuées aux

Astéracées sont très nombreuses, notamment des propriétés antitumorale, cytotoxique, immunosuppressive, antioxydante, anti acétylcholinestérase, antimicrobienne, antivirale, antifongique, leishmanicide, trypanocide, antipaludique, hépatoprotective, cytotoxique, larvicide, anti-inflammatoire, antinociceptive, antitussive, expectorante, antidiabétique et hémolytique (Abad et *al.*, 2012 ; Arora et *al.*, 2013 ; Wang et *al.*, 2014 ; Eruygun et *al.*, 2019 ; Ifedibalu Chukwu, 2020). Les Astéracées sont également connues pour provoquer des allergies (Jack et *al.*, 2013).

## **1-2- Genre *Matricaria***

*Matricaria* est un genre de la famille des Astéracées. Certaines de ces espèces, ont le nom commun de matricaire. Les plantes ayant pour nom de genre *Chamomilla* sont aujourd'hui inclus dans le genre *Matricaria*.

Le genre *Matricaria* comporte une trentaine d'espèces. La plupart sont très fréquents dans les régions tempérées d'Europe, d'Asie, et d'Amérique, ainsi que dans le nord et le sud de l'Afrique (Heydrova, 2020)

Les matricaires sont des plantes annuelles de 50 centimètres à 1,5 m de hauteur, à tige dressée, rameuse. Les feuilles, alternes, sessiles, épaisses, charnues, sont très divisées, en lanières avec stomates anomocytaires. Les fleurs, jaunes au centre, blanches à la circonférence, très odorantes, sont groupées en capitules solitaires au sommet des rameaux. Le fruit est très petit, blanc jaunâtre, légèrement arqué (Quézel et Santa, 1963).

### **1-2-1- *Matricaria pubescens* Desf.**

*Matricaria pubescens* Desf. est une espèce appartenant à la famille des Astéracées, elle pousse en abondance dans les régions sahariennes (Quézel et Santa, 1963). Est une plante herbacée annuelle, de 10 à 20 cm de haut, atteignant rarement 40 cm (Quézel et Santa, 1963). Elle possède des tiges nombreuses couchées puis redressées, sous forme de touffes. Les feuilles découpées et velues sont d'un vert sombre. Les involucre portent des bractées. Les fleurs toutes en tubes, de coloration jaune, sont groupées en capitules dont le diamètre est de 6 à 7 mm. La floraison en : avril-mai (Chahma, 2006). Elle est très utilisée en médecine et en préparations traditionnelles (Cherif et *al.*, 2017). *Matricaria pubescens* appelée aussi camomille du Sahara, est une espèce endémique nord-africaine, elle est largement distribuée dans tout le Sahara algérien, dans le Sahara de Maroc, Tunisie et la Libye (Quézel et Santa,

1963). Elle se rencontre dans les dépressions argilo sableuses et les lits d'oued (Ould El Hadj *et al.*, 2003) (Figure1).



Figure 1 : *Matricaria pubescens* (Desf.)

#### 1-2-2- Systématique de *Matricaria pubescens*

La dénomination de l'espèce *Matricaria pubescens* diffère d'une région à l'autre, appelée Guertoufa à El Goléa et Ouargla, Ainasnis au Tassili (Maiza *et al.*, 1993) et à Béchar Ouazouza et Guertoufa Khadra. La classification botanique de cette plante est décrite comme suit (Ozenda, 2004).

Embranchement	Spermaphyta
S/embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Asterales
Famille	<i>Asteraceae</i>
Tribu	Anthemideae
Genre	<i>Matricaria</i>
Espèce	<i>Matricaria pubescens</i> Desf.

**1-2-3- Composition chimique de *Matricaria pubescens***

Des travaux réalisés sur l'espèce *Matricaria pubescens* ont permis d'isoler des métabolites secondaires divers tels que :

**➤ Les coumarines**

L'analyse des extraits des parties aériennes de *M. pubescens* a révélé la présence des coumarines comme dimère de herniarine, herniarine, 2,4-hexadiénisobutylamide (Benferdjallah et al., 2019).

**➤ Les flavonoïdes**

Beaucoup de travaux ont été réalisés sur *Matricaria pubescens* ont révélé la présence de flavonoïdes glycosylés comme Luteolin 7-O-glucoside et flavonoïdes aglycones quercétrine (Gherboudj et al., 2012).

**➤ Les amides**

Les parties aériennes et les racines de *Matricaria pubescens* présentent un goût piquant et poivré dû à des métabolites secondaires comportant un radical isobutylamide. Ces amides peuvent être aromatiques ou, aliphatiques (Benferdjallah et al., 2019).

**➤ Les lactones sesquiterpéniques**

Les lactones sesquiterpéniques constituent un groupe de produits naturels très importants dans la famille des Astéracées. Ces molécules sont douées d'activités multiples: anti inflammatoire, antifongique, anti-tumoral (Ducombs, 2012). Les sesquiterpènes lactones présents dans le genre *Matricaria* sont essentiellement, Matricine, matricarine, dés acetylmaticarine (Ghedira et al., 2009 ; Serba, 2015).

**➤ Les huiles essentielles de *Matricaria pubescens***

Des études ont été réalisées sur les huiles essentielles de *Matricaria pubescens*, les composées majoritaires sont l'isochrysanthemoate d'éthyle, spathulenol,  $\alpha$ -cadinol et le geranyl isovalerate (Boutaghane et al., 2011). Une autre étude effectuée sur l'huile essentielle des parties aériennes de l'espèce de la région du Ghardaïa a donné comme composés majoritaires le Spathulenol, l' $\alpha$ -bisabolol oxide, l' $\alpha$ -bisabolol et l' $\alpha$ -bisabolol oxide-A (Tadrent et al, 2016). Dans l'huile essentielle de *M. pubescens* de la région de Ghardaïa Bouziane (2015) identifie l'endobornyl acétate et le sathulenol comme composants

majoritaires, alors que des populations de Biskra montrent le spathulenol, l'elemicine et l'herniarine. Les huiles de *M. pubescens* de la région de Béchar sont caractérisées par le  $\beta$ -ocimene-Z, le mycènes, le limonène et le  $\beta$ -ocimene-E (Makhloufi et *al.*, 2015).

#### **I-2-4- Domaines d'utilisation du *Matricaria pubescens* Desf.**

##### **➤ Alimentation**

Cette plante est utilisée dans la région Sud- ouest algérienne, pour donner une bonne saveur au thé, elle est aussi utilisée pour la préparation des soupes et dans la conservation du beurre transformé traditionnellement (D'han) (Martinez et *al.*, 2007).

D'après Makhloufi (2013), l'ajout de *M. pubescens* ou son huile essentielle influe considérablement sur la diminution de la charge microbienne, cela est dû à leur activité antimicrobienne, ainsi que la stabilité des paramètres physicochimiques due à la propriété antioxydante de cette plante.

##### **➤ Médicinale**

Dans une large mesure, l'utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle est très variée. Elle est utilisée pour traiter la dysménorrhée (tous les troubles des conditions liées à la menstruation), la toux, les maladies oculaires, les maladies rénales, les rhumatismes et les douleurs des maladies infectieuses, de l'abdomen, la sécheresse, la dentition, les allergies, activité anti-hyperglycémique, et la morsure des scorpions (Graziose et *al.*, 2010; Maiza et *al.*, 2011; Djellouli et *al.*, 2013; Amssayef et *al.*, 2020; Adaika et *al.*, 2021).

**2- Les huiles essentielles**

Une huile essentielle se définit comme un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (Pharmacopée Européenne, 2008).

Les huiles essentielles ont une faible solubilité dans l'eau, mais sont solubles dans les graisses, l'alcool, les solvants organiques et d'autres substances hydrophobes et sont généralement liquides à température ambiante, incolores ou jaunâtres, inflammables et s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant (Baser et Demirci, 2007; Li et al., 2014).

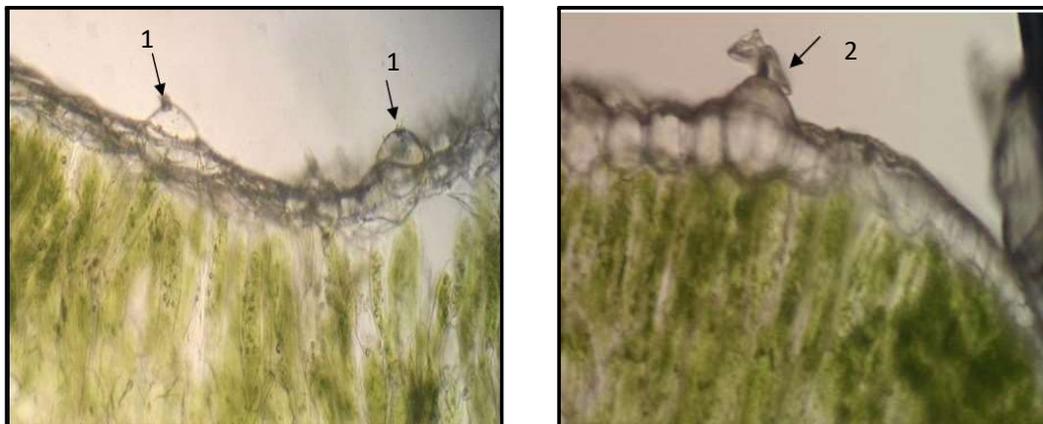
L'huile essentielle est un mélange complexes de métabolites secondaires volatils et liquide à température ambiante (Rubiolo et al., 2010). Les organes producteurs des huiles essentielles peuvent être situés dans le fruit, la fleur, la feuille, la tige, la racine ou la graine (Burt, 2004).

**2-1- Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante**

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Parmi les 1500000 espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques », réparties sur 60 familles. Les espèces capables d'élaborer des huiles essentielles sont réparties dans un nombre restreint des familles *Asteraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Apiaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Zingiberaceae*, *Piperaceae* (Baser et Buchbauer, 2010 ; Vigan, 2010 ; Carson et Hammer, 2011 ; Tisserand et Young, 2013).

Les huiles essentielles sont élaborées au sein du cytoplasme des cellules sécrétrices et stockées dans des structures cellulaires spécialisées ; cellules à huile essentielle (*Lauraceae* et *Zingiberaceae*), cellules à poils sécréteurs (*Lamiaceae*), canaux sécréteurs (*Apiaceae* et *Asteraceae*) ou des poches sécrétrices (Figure 2) (*Myrtaceae*) (Baser et Buchbauer, 2010; Mekhadmi, 2014; Moghaddam et Mehdizadeh, 2017).

Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux, les fleurs (lavande, menthe, camomille), les feuilles (eucalyptus ...), les racines ou les rhizomes, les fruits, le bois et/ou les graines (Solórzano-Santos et Miranda, 2012 ; Tisserand et Young, 2013).



1 : Cellules à poils sécréteurs

2 : Trichomes glandulaire

**Figure 2:** Glandes productrices d'huile essentielle de *Matricaria pubescens* (Mekhadmi, 2014)

## 2-2- Composition chimique

Les huiles essentielles sont des substances à fort odeur aromatique, de couleur très variable. La densité relative d'une huile essentielle est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique de l'eau distillée à 20°C (Franchomme et Pénoël, 2001; Costa et *al.*, 2015 ; Couic-Marinier, 2018). Le point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires (Abou Zeid, 2000). Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants différents selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Baser et Buchbauer, 2010 ; Fernandez et Chemat, 2012 ; Bruneten, 2016).

La composition chimique d'une huile essentielle peut varier au sein d'un même genre botanique, ces variations peuvent s'observer au sein d'une même espèce. Elle dépend en fait de différents paramètres extrinsèques (le sol, l'environnement, le climat), intrinsèques (le degré de maturité, les facteurs génétiques, la localisation), technologiques (le type de culture, le mode de récolte), ainsi que les modes d'extraction (Bruneten, 2016; Moghaddam et Mehdizadeh, 2017)

**2-2-1-Les terpènes**

Les terpènes, également appelés isoprènes, ou terpénoïdes ou isoprénoïdes lorsqu'ils contiennent de l'oxygène, constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Avec plus de 30000 structures (Carson et Hammer, 2011). Ces structures sont très variable et toutes issues de sous unités isoprénique ( $C_5H_8$ ). Ces squelettes pouvant être arrangé de façon acyclique, monocyclique ou même tricyclique. Leur classification est basée sur le nombre d'unité isoprène ( $C_5H_8$ ), les monoterpènes et les sesquiterpènes sont les plus courants dans les huiles essentielles (Bakkali, 2008; Hyldgaard et *al.*, 2012; Andre et *al.*, 2016 ; Cseke et *al.*, 2016)

**➤ Les monoterpène**

Les monoterpène ont pour formule  $C_{10}H_{16}$  issus du couplage de deux unités isoprénique « têtes à queue » (Bakkali, 2008; Hyldgaard et *al.*, 2012). Ce sont des hydrocarbures aliphatiques, saturés ou insaturés. Pouvant être acycliques, monocycliques ou bicyclique. Environ 1500 monoterpénoïdes ont été décrits (Bakkali, 2008).

**➤ Les sesquiterpènes**

Forment un groupe de composés diversifiés, de 1500 à 2000 composées sesquiterpéniques. Les sesquiterpènes contiennent une unité isoprénique supplémentaire par rapport aux monoterpène  $C_{15}H_{24}$  (assemblages de trois unités isoprènes). Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou hydrocarbures oxygénés. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicyclique (Bakkali, 2008 ; Carson et Hammer, 2011). Les sesquiterpènes cycliques comme l'acide abscissique, l' $\alpha$ -bisabolène et l' $\alpha$ -bisabolol, se trouvent avec des taux élevés dans les huiles de camomille (Croteau et *al.*, 2000)

**➤ Les diterpène**

Sont des dérivés des hydrocarbures en  $C_{20}H_{32}$ , issus du couplage de quatre unités isoprénique. Ces composés, à point d'ébullition élevé, se retrouvent surtout dans les résines. Ils sont particulièrement abondants chez les Astéracées et les Lamiacées. Ils peuvent être acycliques ou bicyclique (Moghaddam et Mehdizadeh, 2017).

**2-2-2- Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane**

Les composés aromatiques sont bio génétiquement issus d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique, se sont des composés volatils (comme la vanilline,

l'eugénol, l'anéthole, l'estragole) possédant un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle (Couic-Marinier et Lobstein, 2013; Moghaddam et Mehdizadeh, 2017).

Ils sont caractérisés par un noyau aromatique lié à une chaîne de trois atomes de carbone propène C6- C3, les plus fréquemment trouvés sont l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique, l'eugénol, l'anéthole (Hyldgaard et *al.*, 2012).

### **2- 2-3- composés d'origine variée**

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléique et l' $\alpha$ -linoléique en (3-cis hexanol, decanal,  $\beta$ -ionone) (Kurkin, 2003 ; Piochon et *al.*, 2008).

### **2-3- Méthode d'extraction des huiles essentielles**

Il existe plusieurs méthodes qui permettent d'extraire les huiles essentielles de la plante. Les plus utilisées sont la distillation par entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodistillation et l'expression alcoolique par solvant.

#### **2-3-1- Entraînement à la vapeur d'eau**

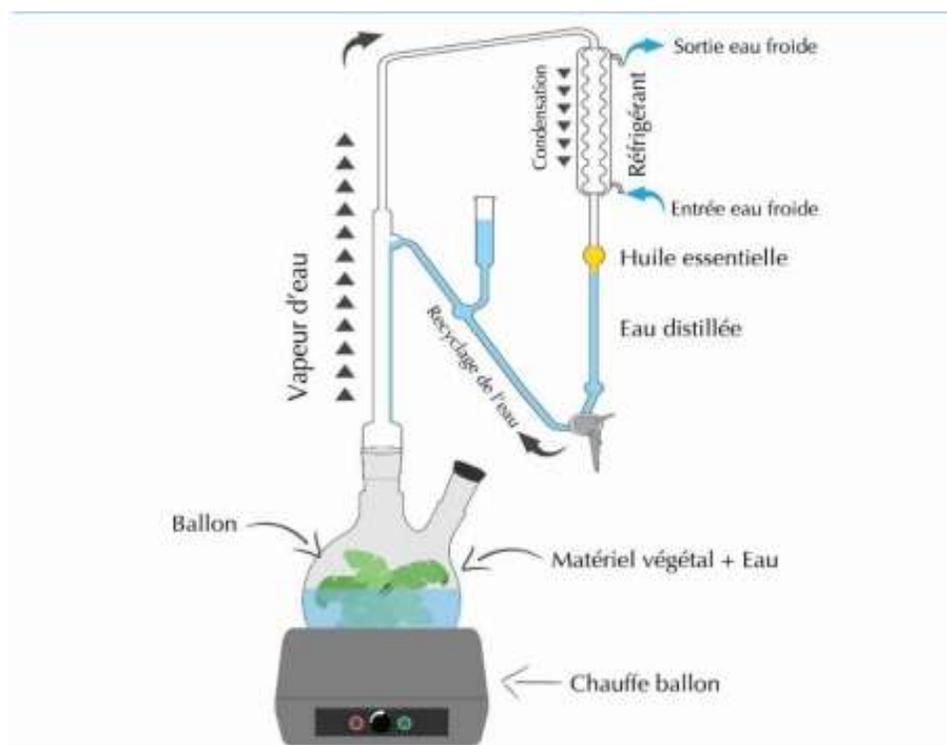
La distillation à la vapeur est une méthode ancienne très répandue, destinée à l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques. Cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale 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 ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique (l'huile essentielle), cette méthode d'extraction minimise les altérations hydrolytiques (Rojas et Buitrago, 2015). La plante ne macère (immerge) pas directement dans l'eau, ce qui limite les phénomènes d'hydrolyse et valorise la qualité des extraits. Ainsi que le risque de dégradation par la chaleur est mieux maîtrisée puisque le chauffage ne se fait pas directement sur la cuve contenant la matière première végétale (De Sousa, 2012).

#### **2-3-2- Hydrodistillation**

L'hydrodistillation est une méthode ancienne très utilisée (Bruneton, 2016). Elle consiste à immerger directement le matériel végétal dans un alambic (ballon) rempli d'eau distillé (Figure 3). L'ensemble est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement

des cellules végétales et libérée les composés volatiles qui y sont contenus. Ces composés volatiles forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique (Asbahani et *al.*, 2015). Le mélange est ensuite refroidi, condensé puis séparé par différence de densité en une phase aqueuse et phase organique qui constitue l'huile essentielle.

Cependant, La longue durée de procédé (température du milieu et parfois de l'acidité) il peut produire des réactions d'hydrolyse, ce qui facilite la survenue d'un certain nombre de transformations au sein de composés des huiles essentielles (Fernandez et Chemat, 2012 ; Boukhatem et *al.*, 2019).



**Figure 3 :** Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Malti, 2019)

### 2-3-3- Extraction par micro- ondes

Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement, et décantation (Koubaa et *al.*, 2016). Cette technique possède plusieurs avantages tels que la rapidité,

l'utilisation de petites quantités de solvant, et donne un bon rendement d'extraction (Barba Orellana et *al.*, 2016; Boukhatem et *al.*, 2019).

### **2-3-4- Extraction par les solvants et extraction au CO2**

Cette technique, largement utilisée actuellement. Elle consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant (hexane, méthanol, éthanol, acétone ..... ) à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras (Koubaa et *al.*, 2016; Boukhatem et *al.*, 2019).

### **2-4- Analyses des huiles essentielles**

La détermination de la composition chimique des huiles essentielles est généralement réalisée par la combinaison de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse ou l'infrarouge (GC/MS ou GC/IRFT) sur deux colonnes de polarité différente (Hedges et Wilkins, 1991). Les composés sont alors identifiés d'après leur indice de rétention et leur spectre de masse. Suite aux travaux innovants de Kubeczka et Formáček (1982), une troisième méthode consiste à identifier les composants individuels d'une HE sur la base d'un spectre RMN <sup>13</sup>C (résonance magnétique nucléaire) de l'HE, sans séparation préalable de ses constituants.

#### **2-4-1- Chromatographe en phase gazeuse CPG**

C'est la technique la plus utilisée dans le domaine des analyses des huiles essentielles car elle possède plusieurs avantages : sensibilité, polyvalence, rapidité de mise au point des analyses nouvelles et la possibilité d'automatisation, qui augmentent plus son intérêt (Arpino et *al.*, 1995). Elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Un chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois principales parties.

- L'injecteur : a une double fonction : il porte l'échantillon à l'état de vapeur, puis il l'amène dans le flux gazeux en tête de colonne.

-La colonne : Elle se présente sous la forme d'un tube de silice, enroulée sur lui-même et de longueur allant de 1 à plus de 60 m. Entraînés par un gaz vecteur (hélium, azote, argon ou

hydrogène) inerte, les analytes étudiés sont séparés en fonction de leur capacité d'interaction avec la phase stationnaire.

- Le détecteur : il s'agit du module qui va permettre de détecter voire d'identifier les composés en sortie de colonne (Herent et *al.*, 2007 ; Marie et *al.*, 2007).

#### **2-4-2- Le couplage CPG/SM**

Le couplage CPG/SM en mode impact électronique est la technique la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Elle permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives aux molécules. Dans la source d'ionisation les molécules sont bombardées à l'aide d'électrons, conduisant ainsi à la formation des ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Il existe plusieurs analyseurs de masse mais les plus utilisés pour l'analyse des huiles essentielles sont le « quadripôle » et le « piège à ion » ou « ion trap » (Adams, 2007 ; El bazaoui, 2009 ; Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

### **1-5- Facteurs de variabilité des huiles essentielles**

#### **➤ Parties de la plante**

Pour une espèce donnée, la proportion des différents constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long de son développement (Bakkali, 2008). Une plante peut donner des huiles essentielles de composition chimique très différente selon les organes dont elle est issue (Vigan, 2010 ; Solórzano-Santos et Miranda-Novales, 2012 ; Soilhi et *al.*, 2019). Les travaux de Gaspar et Leek (2004), ont montré que la composition chimique de l'huile essentielle est très dépendante de son organe producteur.

Chouikh et *al.* (2015), ont montré que chez l'espèce *Cotula cinerea*, le rendement des huiles essentielles et leur composition chimique diffère selon les organes.

#### **➤ Influence des facteurs extrinsèques**

Il s'agit là de l'incidence des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales ; la température, l'humidité relative et le régime des vents exercent une influence directe, sur la composition des huiles essentielles surtout chez les espèces qui possèdent des structures histologiques de stockage superficielles (Bruneton, 2016). Lorsque la localisation est plus profonde la qualité d'huile essentielle est beaucoup plus constante. Les conditions culturales

telles que la date de semis, la date de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récolte influencent aussi la composition et le rendement des huiles essentielles (Bruneton, 2016 ; Bajalan *et al.*, 2018).

➤ **Influence de la durée de stockage**

Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles (Jouault, 2012 ; Najafian, 2014).

➤ **Influence des procédés d'obtention**

La labilité des constituants d'huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal (Bruneton, 2016). La méthode d'extraction et l'état du matériel végétal influent aussi sur la composition et le rendement des huiles essentielles (Bruneton, 1999; Besombes, 2008; Boukhatem *et al.*, 2019).

➤ **Existence de chimotypes**

Les chimotypes ou les chémotype ou races chimiques, sont très fréquents chez les plantes, au sein d'une même espèce la composition chimique de l'huile essentielle peut être différente (Tisserand et Young, 2013 ; Bruneton, 2016; Rahimmalek *et al.*, 2017).

Le chimotype est « un groupe chimiquement défini au sein d'une population d'individus morphologiquement indiscernables ». Il constitue une carte d'identité qui permet de différencier les huiles essentielles extraites de la même espèce (Couic-Marinier, 2018). Il s'agit d'un polymorphisme chimique, une espèce peut être homogène au niveau de son génome et son caryotype mais produire des huiles essentielles de compositions différentes, sous l'influence de nombreux facteurs comme la qualité du sol, le climat, l'altitude, l'hygrométrie, de l'humidité, de la pression atmosphérique, de la photopériode (Shama *et al.*, 2011 ; Faucon, 2012; Jouault, 2012).

**2-6-Les activités biologiques des huiles essentielles****2-6-1- L'activité antimicrobienne**

Les extraits des plantes médicinales aromatiques ont des composés chimiques capables d'avoir une activité antimicrobienne. Les constituants des huiles essentielles sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons (Li *et al.*, 2014).

**➤ Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. Deux sortes d'effets des huiles essentielles sur les bactéries sont distinguées :

- Effet bactéricide (bactéricidie) : exerçant une activité létale
- Effet bactériostatique (bactériostase): d'après Smith-Palmer *et al.* (1998), la concentration bactériostatique est une concentration pour inhiber *in vitro* la croissance des souches bactériennes.

L'activité bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité bactéricide. Cependant il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides (Talbaoui *et al.*, 2012). Les huiles essentielles possédant des propriétés antimicrobiennes sont riches en composés chimiques connus pour leur efficacité antimicrobienne et leur large spectre, les monoterpènes, les sesquiterpènes et les composants non terpéniques tels que les phénylpropanoïdes (thymol, carvacrol et eugénol) (Hammer et Carson, 2011 ; Bouyahya *et al.*, 2017). Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chimiosmotique et une fuite d'ions (K<sup>+</sup>) (Cox *et al.*, 2000 ; Souza *et al.*, 2006).

En général, les bactéries Gram négatives sont plus résistantes à l'huile essentielle que les bactéries Gram positives grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides (LPS) la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (Cristiani *et al.*, 2007 ; Solórzano-Santos et Miranda-Novales, 2012).

**➤ Activité antifongique**

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les champignons pathogènes et opportunistes (De Bellerbeck, 2002). D'après Cox *et al.* (2000) généralement les champignons sont plus sensibles que les bactéries.

Les composés phénoliques des huiles essentielles modifient la perméabilité cellulaire fongique en interagissant avec les protéines de la membrane. Cela provoque la déformation de la structure cellulaire, et perturbe la fonctionnalité aboutissant à la perte des macromolécules conduisant à une inhibition de la croissance fongique (Pramila *et al.*, 2012). Chez la levure, l'huile essentielle établit un potentiel membranaire en perturbant la production d'ATP, ce qui conduit à la lyse cellulaire (Aleksic et Knezevic, 2014). L'eugénol est un composé antifongique efficace qui cause des dommages permanents aux cellules des levures tels que *Candida albicans* (Latifah-Munirah *et al.*, 2015), et des champignons : *Aspergillus ochraceus*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. fumigates*, *Trichoderma viride* et *P. funiculosum* (Beatovic *et al.*, 2015).

**2-6-2- L'activité antioxydant**

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 in Ghafoor *et al.*, 2020). Ces molécules jouent un rôle vital dans la signalisation cellulaire, contrôle de tonalité vasculaire, défense contre les micro-organismes, la génération de cellule et la régulation de l'homéostasie (Basu, 2010). Toutefois, lorsqu'il y a un excès des radicaux libres, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) participent également à la pathogenèse liées à des dommages de l'ADN et aux protéines causant des modifications des gènes et des mutations protéiques, des dommages gluco-oxydatifs et une dégradation des lipides membranaires des cellules, causant des troubles de santé: le cancer, le diabète, l'athérosclérose (Villano *et al.*, 2007 ; Carochi et Ferreira, 2013; Shoib et Shahid, 2015).

Parmi les molécules antioxydantes, on trouve : les vitamines ( $\alpha$ -tocophérol, acide ascorbique, etc...) ainsi que de nombreux composés naturels extraits de plantes, notamment des composés polyphénoliques (flavonoïdes...) (Bentabet *et al.*, 2014 ; Ahmed *et al.*, 2019). Les substances polyphénoliques des huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés biologiques, mais la propriété la mieux décrite dans tous les groupes de composés

phénoliques est leur capacité d'agir comme antioxydant, représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires (Kumar et Pandey, 2013 ; Gurnani *et al.*, 2016).

Ruberto et Baratta (2000), ont montré que les hydrocarbures sesquiterpéniques d'huile essentielle de *Teucrium marum* exerçaient un effet antioxydant faible, alors que les hydrocarbures monoterpéniques ont montré un effet antioxydant significatif, avec plusieurs variantes en raison des différents groupes fonctionnels. Teixeira *et al.* (2013) ont démontrés que l'activité antioxydant élevée de l'huile essentielle du clou de girofle indienne est due à son composé majoritaire l'eugénol qui est un phénylpropanoïde, connu comme un puissant antioxydant. La faible ou par fois l'absence d'activité antioxydante des terpènes hydrocarbonés serait due à leur faible capacité donatrice d'un atome d'hydrogène au radical DPPH et également de la faible solubilité des huiles essentielles milieu réactionnel tel que le méthanol ou l'éthanol (Andrade *et al.*, 2013)

## **2-7- Activités biologiques des Huiles essentielles du genre *Matricaria***

Une large variété de produits naturels caractérise les espèces des Astéracées, ainsi les plus rencontrés sont les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpènes, les huiles essentielles et d'autres métabolites secondaires tels que, les quinones, les acides phénoliques (Moreira-Munoz, 2007; Bruneton, 2016).

Dans la famille des Astéracées, les principales plantes à huile essentielle sont Les Matricaires. Elles possèdent une activité anti-inflammatoire, des propriétés apéritives, antispasmodiques, adoucissantes et antiprurigineuses. Cette propriété est due à la présence de chamazulène formé par la décomposition d'une lactone sesquiterpéniques (Botineau et Pelt, 2010; Bruneton, 2016).

Les espèces du genre *Matricaria* sont largement utilisées en Europe, Amérique latin, Asie et en Afrique pour traiter les signes et symptômes liés aux infections, généralement, les parties aériennes sont utilisées, en particulier les fleurs (Miraj et Alesaeidi, 2016). De nombreuse espèces du genre *Matricaria*, et en particulier *Matricaria chamomilla*, *M. recutita* et *M. pubscens*, sont les plantes médicinales les plus utilisées et les plus populaires en raison de leurs richesse en composés actifs (Sharifi-Rada, 2018). L'huile essentielle des fleurs de *Matricaria chamomilla* a montré une activité contre le champignon *Aspergillus niger* (Tolouee, 2010).

Certaines huiles essentielles de *Matricaria* sont riches en  $\alpha$ -pinène, camphène, sabinène, 1,8-cinéole, oxyde de bisabolol et  $\alpha$ -bisabolol, les spiroéthers, le chamazulène et l'ombelliférone. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne et antifongiques (Soković, 2010 ; Tolouee, 2010 ; Abdoul-Latif et *al.*, 2011 ; Kazemi, 2014). D'après Berhanu et *al.* (2016) l'huile essentielle des fleurs de *Matricaria chamomilla* collectés d'Ethiopie n'a montré aucune activité antimicrobiennes contre: *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, ainsi contre les champignons.

L'huile des parties ariennes de *Matricaria chamomilla* a montré une activité antimicrobienne contre *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* (Ljiljana, 2016). Alors que celle de *Matricaria recutita* a montré une activité antibactérienne contre trois bactéries pathogènes Gram-positives et quatre Gram-négatives (Kazemi, 2015).

Les travaux de Jamalian et *al.* (2012), sur l'huile essentielle *M. recutita* montre des effets antifongiques contre *Candida albicans* ainsi que des effets sur la croissance d'*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Trichoderma harzianum* et *Fusarium oxysporum*. L'huile essentielle de *M. chamomilla* présentait une meilleure activité antioxydant avec une valeur CE<sub>50</sub> de 2,07 mg/ ml (Ljiljana, 2016). L'huile de *M. chamomilla* d'Egypte a montré des activités antioxydant et antimicrobiennes (Roby et *al.*, 2013).

De plus, l'huile essentielle de *M. Pubescens* a montré une activité antifongique contre sept souches de champignons phytopathogènes (Makhloufi et *al.*, 2015).

Selon les études de Makhloufi et *al.* (2012), l'huile essentielle de *M. pubescens* à montré une activité antifongique distincte contre les champignons phytopathogènes et une activité antibactérienne, cette huile essentielle pourrait être utiliser dans la lutte contre les maladies des cultures agricoles et contre les détériorations des aliments. Les huiles essentielles des camomilles ont un potentiel phyto-médical important dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et chimiques en tant qu'antioxydant naturel au lieu d'additifs synthétiques qui présentent des effets toxiques et cancérigènes (Makhloufi et *al.*, 2015; Ljiljana, 2016).

**2-8- Composition chimiques des Huiles essentielles du genre *Matricaria***

La composition chimique des matricaires varie selon les régions, le cultivar et les conditions de leur obtention (Bruneton, 2016). Le genre *Matricaria* a fait l'objet de beaucoup d'études se rapportant à la chimie et à la pharmacologie de ses extraits bruts ou purifiés. Plus de 120 constituants chimiques ont été identifiés dans la fleur de camomille comme métabolites secondaires, dont 28 terpénoïdes et 36 flavonoïdes (Berhanu et al., 2016). Tolouee et al. (2010), ont trouvé que l'huile essentielle de *Matricaria chamomilla*, est caractérisé par l' $\alpha$ -bisabolol, le trans-trans-farnésol, cis- $\beta$ -farnésène, guaiazulène,  $\alpha$ -cubébène, oxyde d' $\alpha$ -bisabolol A et le chamazulène.

L' $\alpha$ -bisabolol oxide B et le chamazulène sont les composés majoritaire de *M.chamomilla* d'Ethiopia (Berhanu, et al., 2016). L' $\alpha$ -bisabolol oxide A et le  $\beta$ -farnésène (E) dominant la composition chimique des échantillons d'Egypte et Iran (Tadrent et al., 2016) (tableau 1). Le cis  $\beta$ -farnesene, saphathulenol, oxyde d' $\alpha$ -bisabolol A oxyde et l' $\alpha$ -bisabolol B sont les composés majoritaires de l'huile essentielle de *M. recutita* provenant d'Allemagne (Raal et al., 2011; Tadrent et al., 2016) (Tableau 1).

Tableau 1 : Composés majoritaires des huiles essentielles du *M. chamomilla*

Espèce	<i>M. chamomilla</i>															
	A,B													A	C	
Localité	Maroc	Egypte	Iran									Italia	Inde	Serbia	Ethiopia	
$\alpha$ -pinene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,21
Myrcene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
$\Delta^3$ -carene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Limonene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3
1,8-Cinole	9,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	56,9	0,0	0,0	0,0
$\beta$ -ocimene (Z)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
$\beta$ -ocimene (E)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0
Ocimene-allo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	0,0	0,0
Endobornyl acetate	0,0	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9	0,0	0,0
$\beta$ -caryophyllene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Herniarine	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
$\beta$ -Farnesene (Z)	0,0	0,0	5,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,12	22,1	0,0	0,0	0,0	0,0
$\beta$ -Farnesene (E)	12,5	34,6	0,0	24,2	11,5	4,4	0,0	2,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,95
$\gamma$ -bisabolene (E)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	43,5	0,0
Sapathulenol	0,0	0,0	9,4	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Caryophyllene oxide	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,5	0,0	0,0
$\alpha$ -Bisabolol oxide B	0,0	8,8	7,0	5,0	0,0	0,0	0,0	9,9	9,4	2,1	0,0	9,8	0,0	0,0	0,0	51,43
$\alpha$ bisabolol	0,0	0,0	5,0	7,3	7,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	56,86	2,2	0,0	0,0	0,0	4,14
$\alpha$ -Bisabololone oxide A	0,0	7,4	10,0	0,2	0,0	0,0	0,0	5,2	0,0	62,4	0,0	6,7	0,0	9,0	0,0	0,0
Trans-trans farnesol	0,0	0,0	0,0	0,0	17,0	66,0	0,0	0,0	0,0	0,0	15,64	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Chamazylene	25,2	0,9	4,2	0,0	2,6	0,0	21,0	4,3	0,0	2,1	2,18	2,8	0,0	6,0	0,0	17,7

## CHAPITRE I

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

<b><math>\alpha</math>-Bisabolol oxide A</b>	0,0	<b>32,5</b>	<b>21,5</b>	<b>10,2</b>	0,0	0,0	<b>41,0</b>	<b>53,0</b>	<b>25,0</b>	<b>15,5</b>	<b>2.18</b>	<b>48,7</b>	0,0	0,0	0,0
<b><math>\alpha</math>-cubebene</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	<b>2.69</b>	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>En-in-dicycloether</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	<b>10.48</b>
<b>Guaiazylene</b>	0,0	0,0	0,0	<b>10,6</b>	<b>10,6</b>	<b>16,2</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	<b>4.24</b>	0,0	0,0	<b>5,6</b>	0,0

A : (Tadrent et al., 2016) B : (Tolouee et al., 2010) C: (Berhanu, et al., 2016)

L'huile extraite de *M.suaveolens* est riche en (Z)-en-yne-dicycloether, geranyl isovalerate, (E)- $\beta$ -farnesene (Raal et al., 2011 ; Tadrent et al., 2016). Les études réalisées sur *Matricaria pubescens*, ont montré que la partie aériens contiennent le  $\Delta^3$ -carene, l'Endobornyl acetate et le saphathulenol comme composés majoritaire (Boutaghane et al., 2011; Bouziane, 2015; Tadrent et al., 2016). Par contre l'huile de la même espèce de région Biskra contient l'herniarine et le apathulenol (Bouziane, 2015). De mêmes, Makhloufi et al. (2014) indiquent que l'huile de *Matricaria pubescens* est riche en  $\beta$ -ocimene (Z),  $\beta$ -ocimene (E), myrcene et le 1,8-cinole (Tableau 2).

**Tableau 2** : Composés majoritaires des huiles essentielles des *M. recutita* et *M. pubescens*

Espèces	<i>M. recutita</i>				<i>M.suaveolens</i> L.	<i>M. pubescens</i>			
	A	A,B				B	C	D	E
Références	Egypte	Iran	Allemagne	Iran	Estonia	Algerie			
Localité						Gardaia	Biskra	Bechar	
Composes chimiques									
$\alpha$ -pinene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,7
Myrcene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	15,2
$\Delta^3$ -carene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	9,2	0,0	0,2
Limonene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2
1,8-Cinole	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,4
$\beta$ -ocimene (Z)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	53,8
$\beta$ -ocimene (E)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,2
Ocimene-allo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7
Endobornyl acetate	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	26,5	2,0
$\beta$ -caryophyllene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5
Herniarine	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	16,9	0,0
$\beta$ -Farnesene (Z)	0,0	0,0	5,9	4,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
$\beta$ -Farnesene (E)	0,0	1,3	0,0	0,0	0,0	15,6	0,9	0,0	0,2
$\gamma$ -bisabolene (E)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Sapathulenol	0,0	0,0	9,4	0,4	0,0	0,0	3,6	19,4	4,8
Caryophyllene oxide	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2
$\alpha$ -Bisabolol oxide B	9,4	6,6	20,8	22,5	1,2	0,2	23,2	0,0	0,0
$\alpha$ Bisabolol	0,0	0,0	5,0	7,3	2,2	0,0	0,0	0,0	0,2
$\alpha$ -Bisabololone oxide A	25,0	29,9	3,3	3,2	0,1	0,6	10,0	0,0	0,0
Geranyl isovalerate	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Z-enynedicycloet	0,0	0,0	12,1	12,7	25,8	0,0	0,0	0,0	0,0

her										
Hexadecanoic acid	0,0	<b>0,0</b>	<b>0,4</b>	1,2	<b>23,0</b>	0	0,0	0,0	0,0	0,0
Polyacetylene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	<b>38,3</b>	0,0	0,0	0,0	0,0
Trans-trans farnesol	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Chamazylene	<b>0,0</b>	0,9	<b>4,2</b>	0,0	2,8	0,0	3,8	0,0	0,0	0,0
$\alpha$ -Bisabolol oxide A	0,0	<b>53,6</b>	<b>29,1</b>	<b>23,8</b>	<b>0,1</b>	0,1	<b>15,4</b>	0,0	0,0	0,0
Guaiazylene	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<b>A :</b> (Tadrent et <i>al.</i> , 2016) <b>B :</b> (Tadrent et <i>al.</i> , 2016) (Raal et <i>al.</i> , 2011) <b>C:</b> (Boutaghane et <i>al.</i> , 2011) <b>D, E :</b> (Bouziane, 2015) <b>F:</b> (Makhloufi et <i>al.</i> , 2015)										

**CHAPITRE II:**  
**MATERIEL ET**  
**METHODES**

## II- Matériel et Méthodes

### 1- Matériel végétal

#### 1-1- Description de l'espèce *Matricaria pubescens*

*Matricaria pubescens* appelée *Aaronsohnia pubescens* Desf. Syn (*Chlamydophora pubescens* (Coss. et Kra)) (Quézel et Santa, 1963) est une espèce spontanée aromatique de la famille des Astéracées. C'est plante annuelle de 10 centimètres à 40 cm de hauteur, à tige dressée, rameuse. Les feuilles, alternes, sessiles, épaisses, charnues, sont très divisées en lanières (Figure 4). Les fleurs, jaunes au centre, blanches à la circonférence, très odorantes, sont groupées en capitules solitaires au sommet des rameaux (Quézel et Santa, 1963). Le fruit est très petit, blanc jaunâtre, légèrement arqué. Cette espèce se retrouve dans les pâturages steppiques et désertiques, elle est endémique du Sahara (Quézel et Santa, 1963).

L'identification de l'espèce a été réalisée sur des échantillons possédant les parties aériennes végétatives (tiges et feuilles) et reproductives (fleurs, gousses et graines). L'identification botanique a été réalisée par l'utilisation de la flore de Quézel et Santa (1963).



**Figure 4 :** *Matricaria pubescens*

Les parties aériennes (fleurs, tiges et feuilles) de la plante *Matricaria pubescens* ont été récoltées au stade de floraison en mars 2015 de 14 stations (Figure 5).

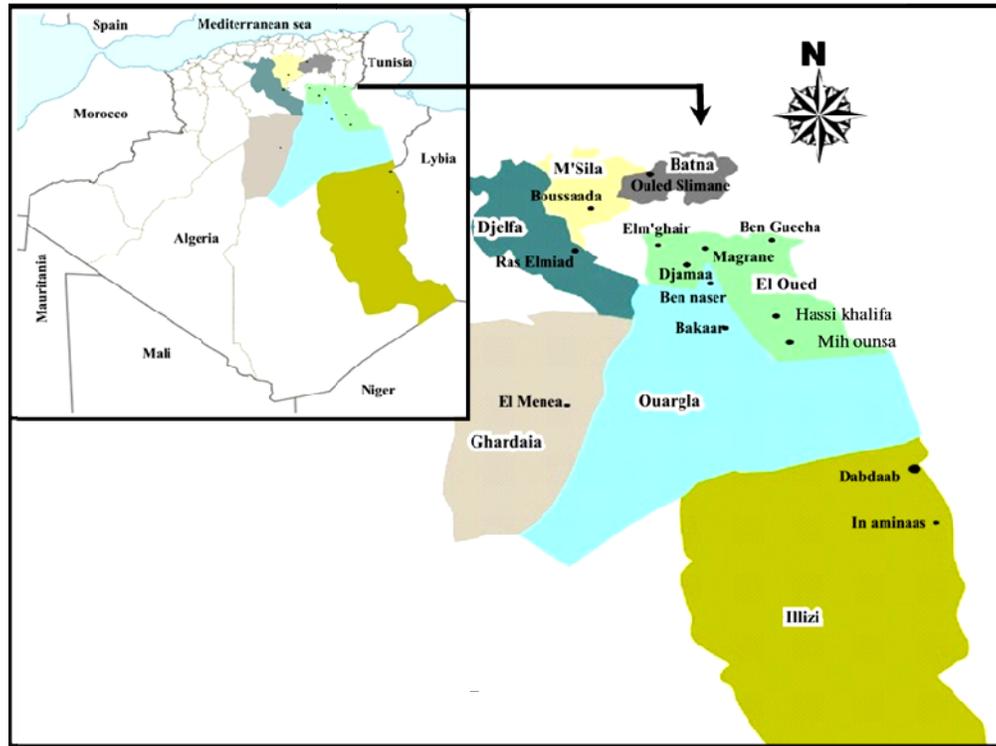


Figure 5 : Zone d'échantillonnage de *Matricaria pubescens*

Les coordonnées géographiques (Latitude, Longitude et Altitude) des stations échantillonnées sont regroupées dans le tableau 3. Le matériel végétal récolté est séché, coupé en petits morceaux et conservé à la température ambiante du laboratoire à l'abri du soleil.

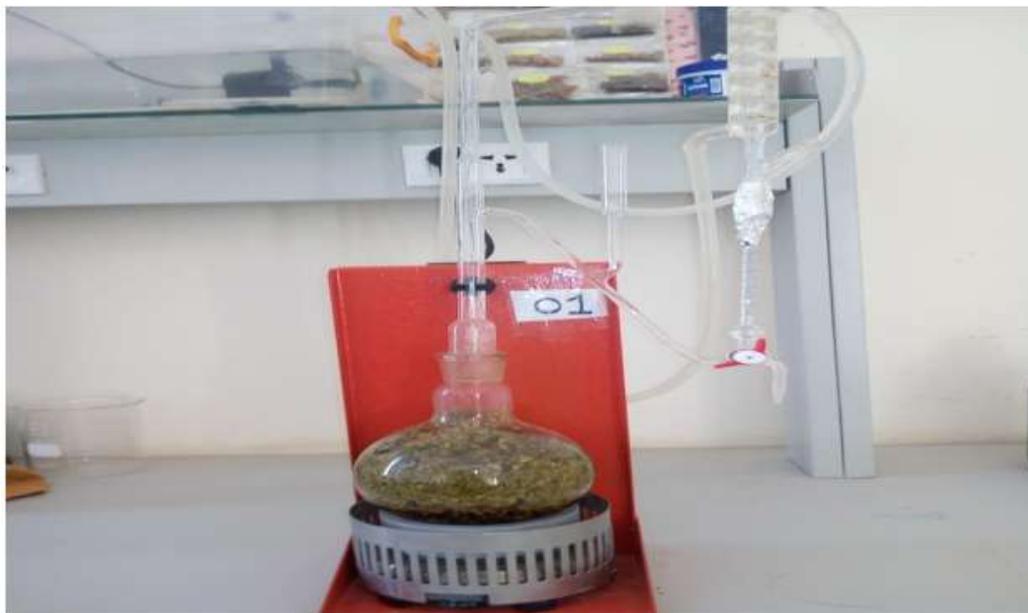
**Tableau 3** : Coordonnés géographiques des stations d'étude

Wilayas	Stations	Latitude (N)	Longitude (E)	Altitude (m)
Eloued	Djamaa	33°32'55"	5° 59'41"	43
	El m'ghair	33° 57'07"	5° 55'53"	02
	Magrane	33° 35'23"	6° 57' 56"	43
	Mihouansa	33° 12'50"	6° 42'49"	97
	Hassikhalifa	33° 36'08"	7° 01'04"	42
	Beni guecha	33° 59'45"	7° 20'35"	09
Djelfa	Rasselmiad	34°11'44"	4° 26'53"	394
Illizi	In aminaas	28°02'47"	9° 33'52"	553
	Dabdaab	29°58'28"	9° 25'18"	348
Ouargla	Bakaar	33° 24'04"	6° 24'45"	100
	Ben Naser	33° 04'24"	6° 31'24"	100
Batna	Oulad Slimane	35° 36'54"	5° 36'53"	767
Msila	Boussaâda	35° 14'46"	4°13'12"	606
Ghardaïa	EL Ménéa	30° 35'01"	2° 59'29"	396

## 2- Méthodes

### 2-1- Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par le procédé d'hydro distillation dans un appareil de type Clevenger (figure 6), 300g de la plante est introduit dans un ballon de quatre litres contenant trois litres d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement. Après condensation, l'huile est séparée par décantation. L'huile essentielles récupérée et conservée au réfrigérateur à 4°C et à l'obscurité jusqu'à son utilisation. L'extraction a été réalisée au laboratoire de valorisation des ressources biologiques naturelles (VRBN) de l'Université de SETIF 1.



**Figure 6 :** Dispositif d'extraction de type Clevenger

Le rendement en HE est calculé selon la formule suivante :

$$R = (m / m_0) * 100$$

**R** : le rendement en huiles essentielles en pourcentage

**m** : masse d'huiles essentielles récupérées (g)

**m<sub>0</sub>** : poids du matériel végétal (g)

## 2-2- Analyse des huiles essentielles de *Matricaria pubescens* par CPG et CPG/MS

Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse, au niveau duquel ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres.

L'identification des constituants volatiles des huiles essentielles (HE) a été réalisée au moyen de la CPG couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) et la détermination quantitative a été faite sur un appareil équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (CPG/FID). La quantification des constituants des huiles essentielles est déterminée par la

méthode universelle de normalisation interne sans coefficient de réponse, compte tenu que tous les produits présents ne sont pas isolés, connus et clarifiés. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/MS. Chromatographe Hewlett-Packard HP 7890 couplé à un spectromètre de masse HP 5975.

<b><u>Conditions opératoires</u></b>
<b>Chromatographe gazeux : CPG/FID 7890</b>
Colonne Apolaire : DB5 MS : 40 m 0,18 mm 0,18 $\mu$ m
Programmation de température : 50 °C pdt 5 min – 5 °C/min °C jusqu'à 300 °C
Gaz vecteur : He : 1 ml/min
Échantillon : 4% en solution dans l'acétone ou l'hexane
Volume d'injection : 2 $\mu$ l
Injecteur : 280 °C avec diviseur 1/100
Les % sont calculés à partir des surfaces de pics donnés par le GC/FID sans l'utilisation de facteur de correction
<b>Chromatographe gazeux : CPG/MS 7890/5975C</b>
Colonne : Apolaire : DB5 MS : 40 m 0,18 mm 0,18 $\mu$ m
Programmation de température : 50 °C pdt 5 min – 5 °C/min °C jusqu'à 300 °C
Gaz vecteur : He : 1 ml/min
Échantillon : 4% en solution dans l'acétone ou l'hexane
Volume d'injection : 2 $\mu$ L
Injecteur : 280 °C avec diviseur 1/100
Gamme de masse : 33 à 550
Les composés de l'huile sont identifiés par une recherche combinée des temps de rétention (bibliothèque du laboratoire) et des spectres de masse (librairie NIST 225 000 spectres)

L'identification des composants était basé sur la comparaison de leur masse spectres avec ceux de la bibliothèque spectrale de masse du NIST (NIST, 2002) et ceux décrits par Adams en 2007 ainsi que sur la comparaison de leurs indices de rétention soit avec ceux composés authentiques ou ayant des valeurs littéraires (Adams, 2007).

L'identification des composés a été réalisée par comparaison de leurs spectres de masse et de leurs KI (Indice de Kovats) avec ceux des bases de données (Adams, 2007) et celle établie par le laboratoire d'accueil. Pour que l'identification soit convenable, les principes suivants qui découlent des propriétés des colonnes (Adams, 2007). L'indice de rétention linéaire est défini par la formule suivante :

$$KI = 100n + (TR(A) - TR(Cn)) / (TR(Cn+1) - TR(Cn)) \times 100$$

KI : Indice de rétention

A : composé inconnu,

TR(A) : temps de rétention du composé inconnu

TR(C<sub>n</sub>) : temps de rétention de l'hydrocarbure à n atomes de carbone précédant immédiatement le composé

TR (C<sub>n+1</sub>) : temps de rétention de l'hydrocarbure à (n + 1) atomes de carbone suivant immédiatement le composé ; Les indices expérimentaux sont comparés à ceux de la littérature ainsi qu'à ceux des banques de données du laboratoire pour confirmation.

## 2-3- Activités biologiques

### 2-3- 1- Activités antimicrobiennes des huiles essentielles

Pour évaluer l'activité antimicrobienne, nous avons utilisés deux méthodes différentes :

- La méthode de diffusion de disque
- La méthode de microdilution en milieu liquide pour déterminer les CMI.

Les tests antimicrobiens ont été effectués sur des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC), gracieusement fournies par l'Institut Pasteur d'Algérie, et de Laboratoire de Microbiologie Appliquée (LMA) Université Abderrahmane Mira Bejaia. Ces souches ont été choisies pour leur haute pathogénicité et leur multi résistance. Les bactéries sont des espèces Gram négatif /ou Gram positif pathogènes. Il s'agit des souches suivantes :

**Gram+** : *Staphylococcus aureus* ATCC2592, *Listeria innocua* CLIP 74915, *Bacillus cereus* ATCC 11778.

**Gram- :** *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Escherichia coli* ATCC25922, *Protus mirabilis* ATCC35659, *Salmonella enterica* ssp *Arizonae* CIP81-3.

Les souches bactériennes ont été conservées à la température ambiante dans des tubes contenant 3 mL de milieu incliné (gélose de conservation).

**Et la levure** *Candida albicans* ATCC 30031

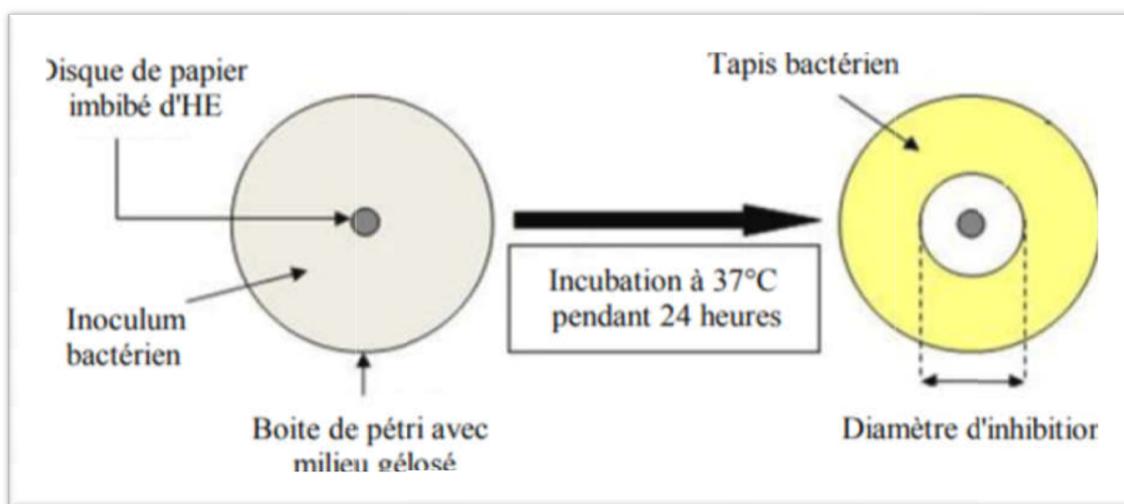
➤ **Préparation de l'inoculum bactérien :**

Les bactéries à tester ont étéensemencées sur des boites de Pétri contenant des milieux sélectifs appropriés aux souches bactériennes, puis incubés à 37°C pendant 24 heures, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées. Après incubation, 1 à 2 colonies bactériennes bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine, puis émulsionnées dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique en agitant au vortex. La densité de l'inoculum a été ajustée à 0,5 Mc Farland ( $10^8$  UFC. ml<sup>-1</sup>)

### **2-3-1-1- Méthodologie des tests antibactériens**

#### **a- Méthode de Diffusion en milieu solide ou aromatobiogramme**

L'étude de la sensibilité des bactéries a été réalisée par la méthode de disque ou aromatogrammes. Cette technique est semblable à l'antibiogramme standard. Le principe de cette méthode repose sur le pouvoir de migration des huiles essentielles sur milieu solide. Des disques de papiers buvard ou papier Watman 3 imprégnés des antibiotiques ou des extraits (HE) à tester sont déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablementensemencé avec une culture pure (Figure 7). Après l'incubation (18h à 24h à 37°C), on observe autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (Fauchère et Avril, 2002).



**Figure 7 :** Principe de la méthode de la diffusion sur disque

#### ➤ **Ensemencement**

Vingt millilitres (20ml) de l'agar de Muller Hinton sont coulés dans des boîtes de pétri. Après solidification du milieu de culture, 100  $\mu$ l de la suspension microbienne à tester ( $10^8$  UFC/ml) sont étalés en surface du milieu.

#### ➤ **Dépôt des disques**

A l'aide d'une pince flambée au Bec Benzen, les disques d'antibiotiques ou des extraits sont déposés à la surface de la boîte gélosée de Mueller-Hinton précédemment encensée. Les disques sont imprégnés de 10  $\mu$ l de la solution d'huile essentielle brute ou huile essentielle diluée (1/2, 1/4 et 1/8 v/v) dans 10 % de Diméthyle Sulfoxyde (DMSO). Les disques sont déposés à égale distance sur la surface de la gélose MH. Le DMSO à 10% est utilisé comme contrôle négatif, alors que les antibiotiques sont utilisés comme témoins positifs pour les bactéries et les levures. La boîte gélosée ainsi préparée est maintenue à la température du laboratoire pendant 30 mn afin de permettre la pré-diffusion. Ensuite, elle sera incubée à 37°C pendant 24 heures. Les essais sont réalisés en trois répétitions. Les disques d'antibiotiques, utilisés pour les essais de diffusion sont l'Amoxicilline 25  $\mu$ g (AMX), la Gentamicine 15  $\mu$ g (GEM), le Cefazoline 30 $\mu$ g (CZ) et le Colistine 25 $\mu$ g (CL).

Selon la classification de Duraffourd et *al.*, (1990), l'huile essentielle est considérée comme inactive si elle produit des diamètres d'inhibition inférieurs ou égaux à  $D < 8$  mm, intermédiaire pour des diamètres compris entre 8 et 14mm. Elle est moyennement efficace pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm l'huile est

très efficace. Nous avons considéré qu'une huile essentielle a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 12 mm (Baudoux, 2001 ; Sagdaç, 2003).

### **b- Méthode de microdilution en milieu liquide**

Cette méthode a pour objectif la détermination des CMI à partir d'une gamme de concentration de produit dans le milieu de culture. La micro dilution est réalisée dans des plaques Elisa de 96 puits.

#### **➤ Détermination de la concentration minimale inhibitrice**

Trois à Cinq colonies d'une culture bactérienne de 18 à 24 heures ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine puis délayées dans 10 ml de bouillon Muller Hinton et incubés pendant 3 à 5 heures à 37°C.

L'inoculum ainsi réalisé est dilué dans de l'eau physiologique en fonction du type de germes :

- Pour *Pseudomonas* et *staphylocoques*, 300 µl de l'inoculum est dilué dans 10 ml d'eau physiologique.
- Pour Entérobactéries, 100 µl de l'inoculum est dilué dans 10 mL d'eau physiologique.
- Pour les bactéries à Gram négatif, 200 µl de l'inoculum est dilué dans 10 ml d'eau physiologique.

Cette dilution nous a permis d'avoir une suspension bactérienne à  $5.10^6$  UFC/ml (condition standard). Pour faciliter la miscibilité des huiles essentielles dans le milieu liquide, nous avons utilisé le DMSO 5% à raison de 90% d'huile essentielle pour 10 % DMSO (Oussou et *al.*, 2008). Le DMSO a servi la dispersant des huiles dans l'eau. Il est à la fois miscible à l'huile et à l'eau. Les extraits d'huiles essentielles dissouts dans le DMSO (1/10) sont préparés par pesée et par ajout de volume nécessaire d'eau distillée pour obtenir une suspension mère à 3 mg/ml. La solution ainsi obtenue est agitée au vortex pendant 3min de sorte à avoir une bonne homogénéisation.

A partir de la solution mère des dilutions des huiles essentielles, séries des dilutions de sont préparées dans les puits de la plaque ( $3 \text{ mg/ mL}^{-1}$  dilué dans 5% 1 DMSO). Un réactif coloré est utilisé, la résazurine. La couleur de la résazurine est violette. En présence de micro-organismes en croissance et d'acidification du milieu, cette couleur violette vire au rose, voire devient incolore.

Tous les puits des plaques de microtitration ont été remplis avec (100 µl) de bouillon nutritif MH. Une dilution en série de deux fois (dans toute la colonne) a été obtenue en

transférant 100 µl de matériel d'essai de la première rangée au puits suivant dans la rangée suivante du même colonne et de sorte que chaque puits contienne 100 µl d'huile essentielle à des concentrations décroissantes. (10 µl) de solution de résazurine comme indicateur a été ajouté à chaque puits. Enfin, un volume de (20 µl) de suspension bactérienne et (70 µl en vue d'obtenir une concentration cellulaire finale d'environ  $10^6$  CFU/ml) de bouillon nutritif MH a été ajouté à chaque puits.

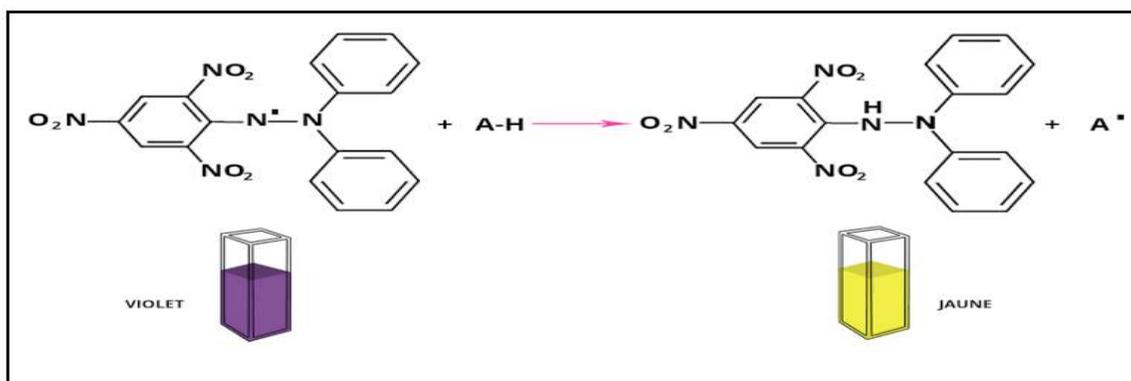
Des puits contenant uniquement l'antibiotique de référence « Gentamicine® (40 mg/ml)» servent de contrôle positif colonne (a) et des puits sans échantillon d'HE servent de contrôle négatif Colonne (b). Si la croissance est bloquée par la présence d'une substance bactériostatique, on remarque que la couleur violette persiste. La CMI est déterminée en suivant le virage de la couleur de la résazurine après une incubation allant de 18 à 24 heures. Le premier puits dont la couleur ne varie pas indique que la CMI correspond à un niveau de 99% d'inhibition de la croissance (Aouni et *al.*, 2013). Selon Aligiannis et *al.* (2001), l'activité antimicrobienne est considérée comme forte lorsque les valeurs de CMI sont comprises entre 0,05 et 0,50 mg/ml, modérée quand elles sont comprises entre 0,6 à 1,50 mg/ml et faibles quand elles sont supérieures à 1,50 mg/ml.

### **2-3-2- Activité antioxydant**

#### **2-3-2-1- Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)**

La méthode de DPPH présente plusieurs avantages du fait qu'elle est indépendante, simple et rapide. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette) en présence des molécules dites « antioxydants » afin de mesurer leur capacité à réduire le radical DPPH.

La forme réduite (de couleur jaune) n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde (figure 8).



**Figure 8** : Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

### 2-3-2-2- Protocole

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Colak et *al.* (2017).

Un volume de 100  $\mu$ l de différentes concentrations des HE ont été mélangés avec 1 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,33 Mmol), 10 mg DPPH avec 300 ml de méthanol fraîchement préparée. Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement et incubé pendant 30 min à une température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 520nm. Le contrôle négatif est composé de 100ul de méthanol et de 1ml de la solution DPPH. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'absorbance de l'acide ascorbique (antioxydant de référence) est mesurée dans les mêmes conditions que celles des huiles essentielles.

### Calcul des pourcentages d'inhibition

Les pourcentages d'inhibition sont calculés par la formule suivante :

$$I\% = [(AC-AT)/AC] * 100$$

- **I%** : Pourcentage d'inhibition
- **AC** : Absorbance du contrôle
- **AT** : Absorbance du test effectué

### ➤ Calcul des IC50

IC50 ou concentration inhibitrice de 50% (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; c'est le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des fractions testées. (Bertoncelj et *al.*, 2007 ; Marxen et *al.*, 2007 ; Scherer et Goboy, 2009 ; Fabri et *al.*, 2009).

## 2-4- Etude statistiques

### 2-4-1- Analyse en Composantes Principales (ACP)

Les analyses des données ont été réalisées en utilisant l'Analyse en Composantes Principales (ACP). Les analyses statistiques des compositions chimiques ont été réalisées en utilisant le logiciel statistique STATISTICA

### 2-4-2- Technique statistique Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means (UPGMA)

Est le nom d'un algorithme destiné à la construction d'un arbre phylogénétique. Cette méthode permet la transformation d'une matrice de distances (entre différents organismes, populations ou séquences de nucléotides) en un arbre enraciné. C'est la méthode la plus simple de construction d'arbre. A l'origine elle a été développée pour construire les phénogrammes taxonomiques (arbres qui reflètent les similitudes phénotypiques entre unités taxonomiques), mais elle est employée aussi pour construire les arbres phylogénétiques si les taux d'évolution sont approximativement constants parmi les différentes lignées.

### 2-4-3-Analyse statistiques des résultats des Activités biologique

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type.ils sont analyses par ANOVA three-way, pour comparions des moyennes en utilisant le logiciel statistique (COStat). On considère que la déférence est statistiquement significative avec  $p \leq 0,5$ .

### 2-4-3-Test de désirabilité

C'est une méthode statistique d'analyse des données, elle consiste à transformer une variable en une valeur de désirabilité. L'opportunité est définie de telle sorte que si une réponse dépasse les limites acceptables, la valeur de désirabilité correspondante à 0 représente une réponse complètement indésirable. Si la réponse est sur la cible, la valeur de désirabilité sera égale à 1 et représente la réponse la plus souhaitable.

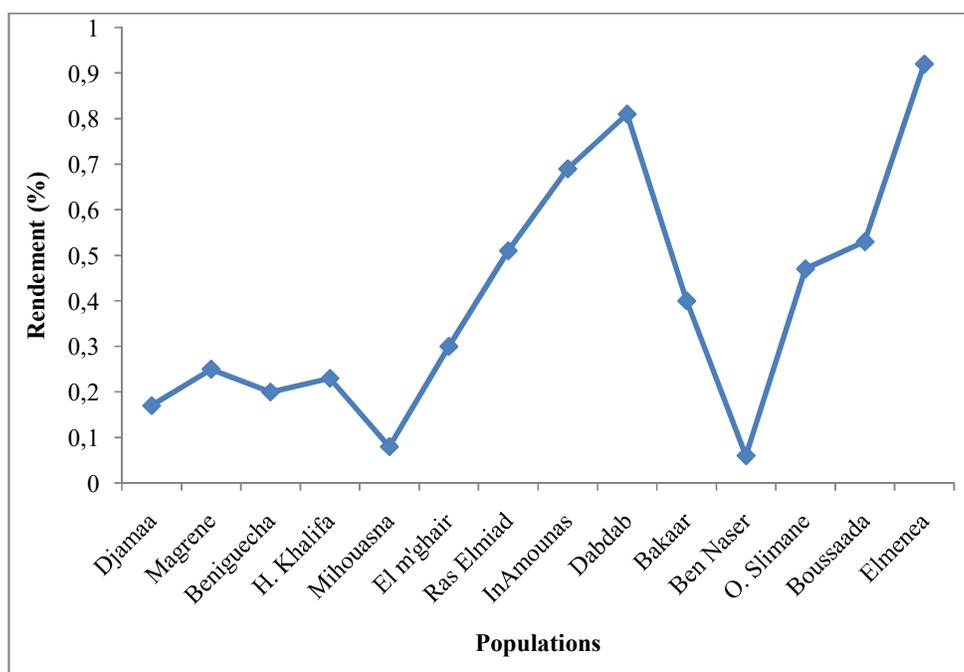
**CHAPITRE III**  
**RESULTATS ET**  
**DISCUSSIONS**

## 1- Résultats chimiques

### 1- Rendements en huile essentielle de *Matricaria pubescens*

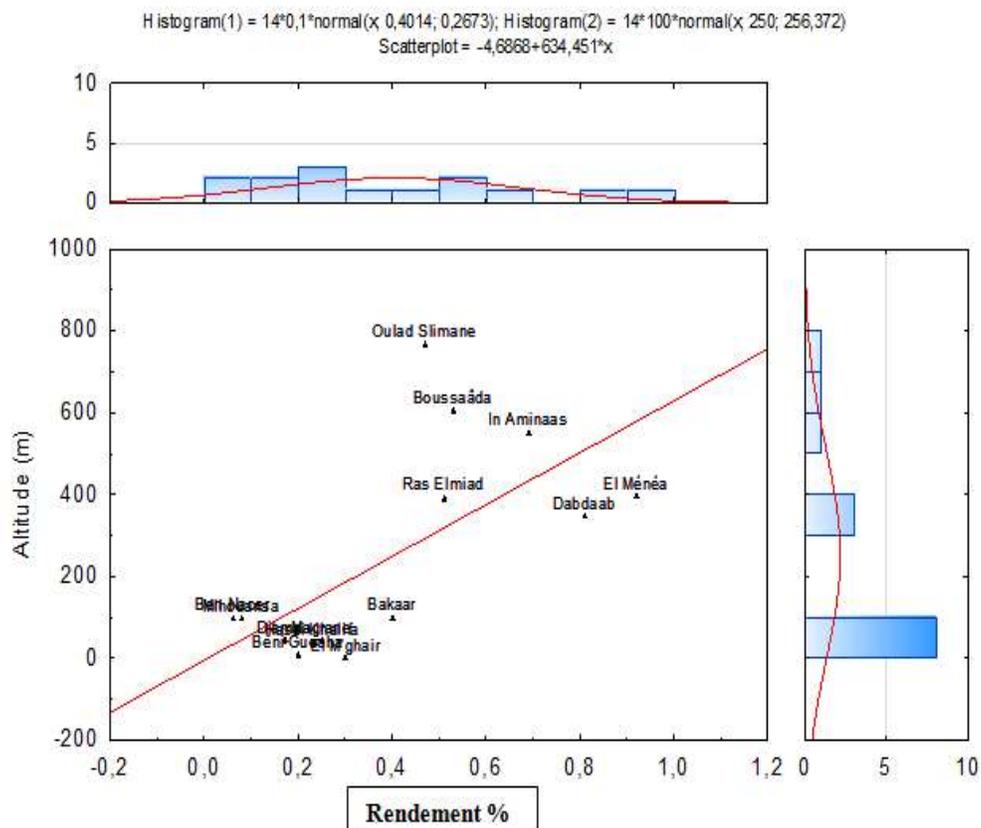
L'extraction par hydro distillation des parties aériennes a été réalisée dans des conditions opératoires strictement identiques pour les 14 populations de *M. pubescens*. Ces extractions ont fourni des huiles essentielles ayant des colorations variables allant du jaune clair au jaune foncé, avec une très forte odeur caractéristique.

Les rendements en huiles essentielles des populations de *M. pubescens* sont moyens avec une valeur de  $0,4 \pm 0,27$  %. La valeur la plus faible (0,06%) est enregistrée dans la population cultivée à Ben Naser, alors que la valeur la plus élevée (0,92%) est celle de la population d'El-Menea (Figure 9).



**Figure 9** : Rendements des huiles essentielles de *M. pubescens*

Nous avons remarqué la présence d'une relation étroite entre le rendement en huile essentielle de *M. pubescens* et les lieux d'échantillonnage des populations (Altitude). Lorsque l'altitude augmente le rendement en huile essentielle augmente, ce qui est indiqué par la droite de régression (Figure 10).



**Figure 10 :** Variation de rendement en huile essentielle de *M. pubescens* en fonction de l'altitude

Le rendement en huile essentielle de *M. pubescens* de la région d'El-Menea (Ghardaïa) est important (0,92%) en comparaison avec le rendement des échantillons de la région de Biskra (0,17%) (Bouziane, 2015). Ce résultat de rendement confirme celui trouvé par Boutaghane et *al.* (2011), qui est de 1,2%, à partir des populations de la région de Ghardaïa. Makhloufi et *al.* (2012) ont pu obtenir un rendement de 0,8% à partir de *M. pubescens* de la région de Bechar. Les différences de rendement en huiles essentielles peuvent être expliquées par l'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction. Le rendement dépend également du sol, de l'altitude, de l'exposition et de l'âge de la plante (Shama et *al.*, 2011; Kouamé, 2012; Jouault, 2012 ; Moghaddam et Mehdizadeh, 2017 ; Boukhatem et *al.*, 2019).

2- Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles de *M. pubescens* ont été analysées par Chromatographe en phase gazeuse, couplée à la spectrophotométrie de masse (Figure 11). 34 composés chimiques sont identifiés dans l'huile essentielle représentant  $99,22 \pm 0,84\%$  de l'huile totale (Tableau 4).

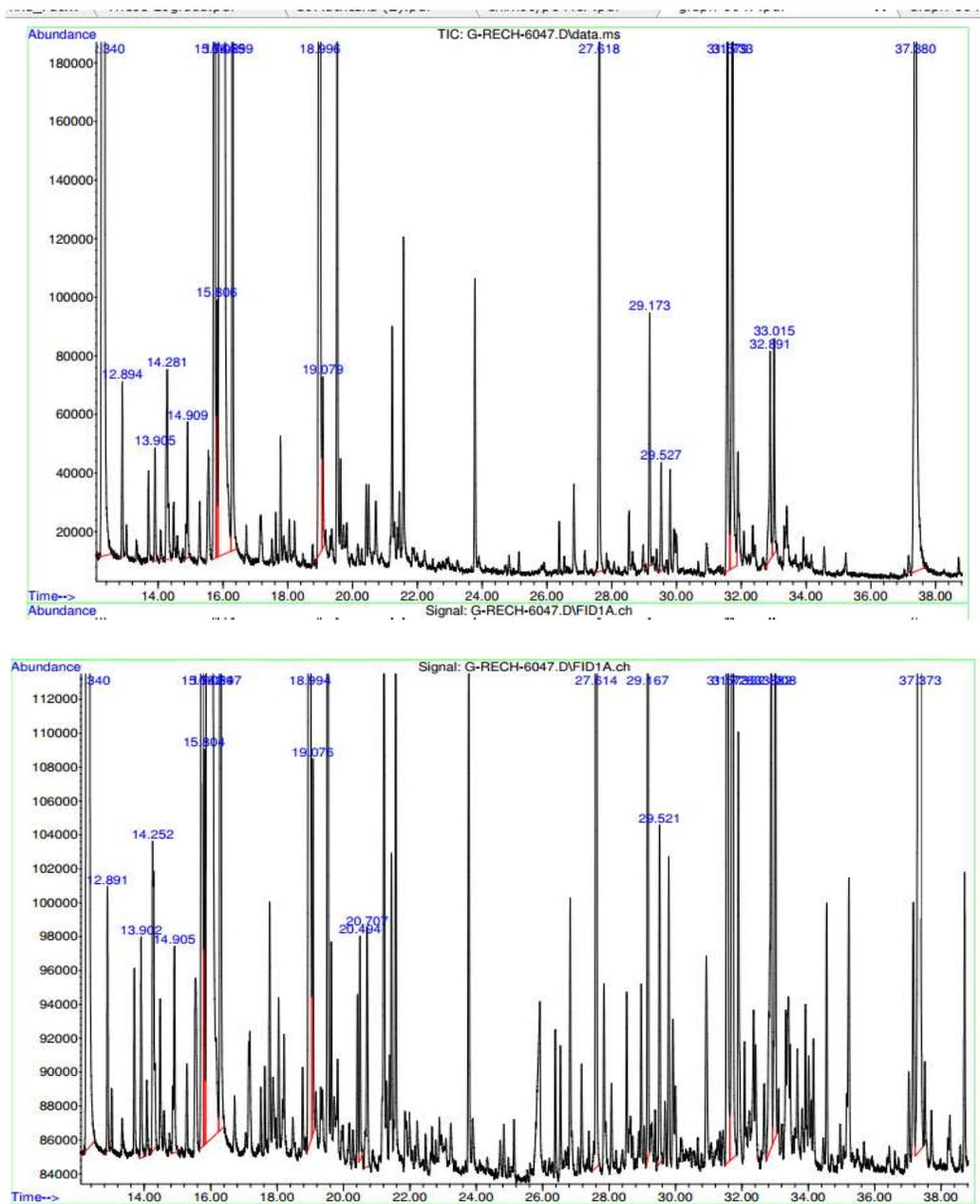


Figure 11 : Chromatogramme GC/Mass et GC/FID de *Matricaria pubescens* (population de Djemaa)

Tableau 4 : Composition chimique des huiles essentielles de *Matricaria pubescens*

Localities		El Oued						Djelfa	Illizi			Ouargla		Batna	M'Sila	Ghardaia	M	SD
Stations		Djemmaa	Magrene	Beni guecha	H. Khalifa	Mihouasna	El-Mghair	Ras El-Miad	In Amunas	Dabdab	Bakaar	Ben Necer	O. Slimane	Boussaada	El-Menea			
Number of compounds	KI	21	15	20	16	21	21	17	22	17	19	30	20	22	23	20	4	
Total (%)		99.87	99.68	99.37	99.34	99.25	99.65	97.62	99.88	99.79	99.65	97.09	99.27	99.54	99.04	99.22	0.80	
$\alpha$ -thujene	921	0.00	0.00	0.25	0.99	1.38	0.11	0.17	6.72	1.99	0.88	1.20	0.17	0.00	0.14	1	1.69	
$\alpha$ -pinene	931	17.44	11.20	14.57	18.12	22.73	23.17	20.91	34.31	29.91	18.67	9.87	13.50	23.00	8.90	19.02	7.09	
Camphene	946	0.19	0.12	0.23	0.00	0.21	0.32	0.22	0.00	0.80	0.13	0.33	0.12	0.24	0.17	0.22	0.18	
Sabinene	968	0.00	0.00	0.00	0.55	0.53	0.19	0.29	1.62	0.00	0.46	0.47	0.23	0.22	0.17	0.34	0.40	
$\beta$ -pinene	974	0.17	0.00	0.00	0.33	0.37	0.38	0.30	0.75	0.80	0.21	0.31	0.14	0.18	0.14	0.30	0.23	
Myrcene	983	0.46	0.51	0.60	0.77	0.96	1.17	0.49	0.65	0.00	0.44	0.28	0.50	0.55	0.34	0.55	0.27	
$\Delta^3$ -carene	1001	0.22	0.00	0.38	0.00	0.00	0.21	0.00	0.00	0.80	0.00	0.22	0.12	0.00	0.00	0.14	0.22	
$\alpha$ -Terpinene	1012	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.23	0.07	0.00	0.00	0.02	0.06	
Cymene-ortho	1020	0.00	0.00	0.00	0.44	0.37	0.26	0.00	0.37	0.00	0.19	0.43	0.27	0.22	0.31	0.20	0.16	
Limonene	1026	3.28	2.40	4.09	5.86	7.29	5.30	4.68	2.54	6.38	2.43	2.69	1.88	2.60	2.40	<b>3.84</b>	<b>1.69</b>	
$\beta$ -phellandrene	1028	0.32	0.00	0.00	0.00	0.00	1.65	0.13	0.07	0.00	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.18	0.42	
$\beta$ -ocimene (Z) ->	1034	52.48	46.04	44.10	41.10	41.91	52.80	57.46	33.80	24.73	48.70	25.69	71.00	56.05	67.90	<b>47.41</b>	<b>13.26</b>	
$\beta$ -ocimene (E)	1042	1.89	1.21	2.11	1.33	1.49	3.10	2.92	0.84	0.80	1.30	1.29	2.42	2.46	3.04	1.87	0.77	
$\gamma$ -terpinene	1054	0.00	0.00	0.00	0.00	0.21	0.38	0.00	0.30	0.00	0.09	0.19	0.00	0.00	0.00	0.083	0.12	
Terpinolene	1081	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.22	0.00	0.00	0.16	0.05	0.08	
3-methyl-2(2-methyl butenyl) furane	1085	0.14	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.00	0.14	0.18	0.06	0.09	
Butanoic acid, 2-methyl-2-methylbutyl ester	1098	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.14	0.00	0.16	0.00	0.02	0.05	
Ocimene-allo	1124	5.97	3.73	4.16	3.43	3.56	5.08	5.12	2.79	2.39	4.23	4.04	6.17	5.20	6.60	<b>4.46</b>	<b>1.27</b>	

**CHAPITRE III**

**RESULTATS ET DISCUSSIONS**

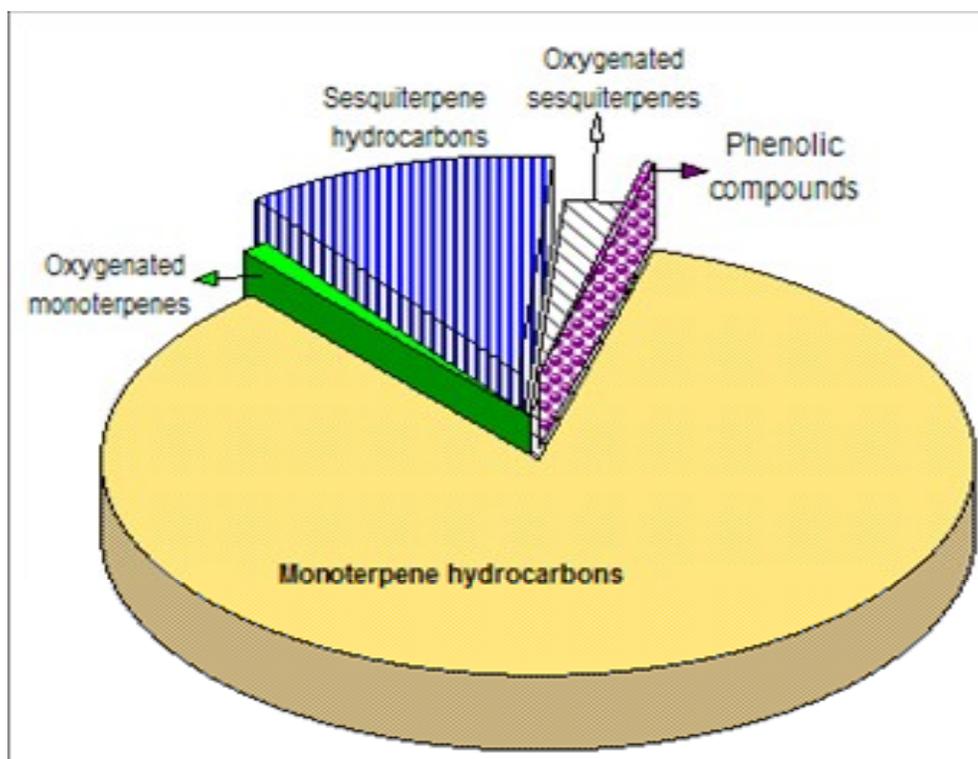
Mentha-1,5,diene-8-ol	1127	0.32	0.00	0.32	0.00	1.17	0.00	0.00	0.00	0.80	0.00	1.07	0.00	0.00	0.13	0.27	0.42
Camphor	1149	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.77	0.86	0.00	0.42	0.12	0.19	0.43	0.20	0.30
Endobornyl acetate	1288	0.17	0.00	0.39	0.00	0.00	0.43	0.44	0.00	2.39	0.00	0.82	0.23	0.49	0.29	0.40	0.62
1-Phenyl-penta-2,4-diyne	1291	0.00	15.20	0.00	8.40	5.54	0.00	0.00	3.18	9.50	15.05	0.00	0.00	0.00	0.00	<b>4.06</b>	<b>5.74</b>
Limonen-10-ol	1349	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.36	0.00	0.47	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.51	0.20	0.20
Caryophyllene (E)	1429	1.48	2.50	4.09	2.54	3.90	1.47	1.15	2.70	1.92	2.05	0.45	1.10	1.28	1.64	2.10	1.04
$\alpha$ -humulene	1465	0.00	0.84	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.57	0.91	0.29	0.00	0.04	0.00	0.00	0.21	0.33
Germacrene D	1491	0.61	2.07	1.40	0.99	0.26	1.75	0.44	0.85	0.00	1.00	0.00	0.76	1.28	0.31	0.84	0.63
Bicyclogermacrene	1504	0.29	0.00	0.78	0.00	0.00	0.77	0.37	0.00	1.31	0.00	0.26	0.31	0.64	0.00	0.33	0.40
$\gamma$ -bisabolene (E)	1516	0.00	12.74	0.60	11.49	0.00	0.51	0.00	0.00	0.00	2.89	0.11	0.12	0.66	0.00	2.08	4.32
Germacrene B	1589	2.28	0.00	2.30	1.66	1.17	0.00	2.40	1.27	0.00	0.00	0.81	0.00	0.22	1.16	0.95	0.93
Caryophyllene oxide	1595	2.40	0.00	1.86	1.33	5.38	0.00	0.00	4.16	13.50	0.00	2.75	0.00	0.19	1.52	<b>2.36</b>	3.62
Elemicin	1645	0.70	0.18	1.45	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.41	0.00	0.55	0.63	0.35	0.52
$\alpha$ -cadinol-epi	1651	0.58	0.16	0.00	0.00	0.27	0.00	0.15	0.47	0.00	0.00	1.35	0.00	0.00	0.00	0.21	0.38
$\gamma$ -muurolene	1665	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.98	0.00	0.00	0.00	0.07	0.26
$\alpha$ -bulnesene	1668	8.47	0.77	15.40	0.00	0.27	0.00	0.00	0.67	0.00	0.33	38.50	0.00	3.01	1.96	<b>4.95</b>	10.60
<b>classes Chimiques</b>																	

<b>Monoterpene hydrocarbonés</b>	82,42	80,42	70,48	81,33	86,68	94,35	92,68	87,95	78,10	92,75	47,77	96,59	90,72	90,28	83,75	12,63
<b>Monoterpènes Oxygénés</b>	0,63	0,00	0,71	0,00	1,31	0,79	0,44	1,25	4,05	0,33	2,70	0,35	0,99	1,53	1,08	1,11
<b>Sesquiterpènes hydrocarbonés</b>	13,14	18,92	24,87	16,69	5,60	4,51	4,35	6,06	4,14	6,57	41,10	2,33	7,09	5,07	11,46	10,83
<b>Sesquiterpenes Oxygénés</b>	2,99	0,16	1,86	1,33	5,65	0,00	0,15	4,63	13,50	0,00	4,10	0,00	0,19	1,52	2,52	3,67
<b>Composées phénoliques</b>	0,70	0,18	1,45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,41	0,00	0,55	0,63	0,35	0,52

15 composés sont identifiés dans l'huile essentielle extraite de la population de Magrane et 30 de la population de Ben Naser. Deux composés sont détectés pour la première fois dans l'huile essentielle de *M. pubescens*, le penyl penta- 2,4-dine et l' $\alpha$ -bulnesene.

Les populations de *M. pubescens* ont le même pic majoritaire, le  $\beta$ -ocimene (Z) avec un pourcentage moyen de  $(47,41 \pm 13,67\%)$ . La concentration la plus élevée de ce composant est observée dans l'huile de la population d'Oulad Slimane (71%). Suivi par l' $\alpha$ - pinene ( $19 \pm 7,36\%$ ),  $\beta$ -bulnesene ( $4,96 \pm 10,6\%$ ), ocimene<allo-> ( $4,46 \pm 1,27\%$ ), 1-phenyl-penta-2,4-diyne ( $4,06 \pm 5,74\%$ ), ainsi que d'autres composées présents avec des concentrations moindres, le limonène ( $3,84 \pm 1,76\%$ ), le caryophyllene oxide ( $2,36 \pm 3,63\%$ ) et le  $\gamma$ -bisabolene-E ( $2,08 \pm 4,33\%$ ). Quatre composants terpéniques majoritaires sont présent dans la composition chimique des huiles essentielles de *M. pubescens* dans toutes les populations, le  $\beta$ -ocimene (Z), l' $\alpha$ - pinene, l'ocimene<allo-> et le limonène.

L'analyse a montré la prédominance des composés monoterpéniques hydrocarbonés dans l'huile essentielle de *M. pubescens* avec un pourcentage de  $83.57 \pm 12,18\%$  (Figure 12), cette classe est représentée par le  $\beta$ -ocimene-Z, l' $\alpha$ -pinene et l'ocimene-allo.



**Figure 12 :** Classes chimiques de l'huile essentielle de *M. pubescens*

Les Sesquiterpènes hydrocarbonés, représentant la deuxième classe la plus abondante avec un pourcentage de  $11,46 \pm 10,44$  %, sont caractérisés par la présence de l' $\alpha$ -bulnesene et le caryophyllène-E. Les sesquiterpènes hydrocarbonés figurent en quantité importantes (41,10 %) dans la population de Ben Naser, ils sont dominés par l' $\alpha$ -bulnesene (38,50 %) et le caryophyllène oxide (2,75 %).

Les monoterpènes oxygénés et les sesquiterpènes oxygénés sont minoritaires dans les huiles essentielles de *M. pubescens*. Les composées phénoliques sont représentées par l'elemicin, ce dernier est signalé chez les populations de Beni Guecha (1,45%) et la population de Ben Naser (1,41%).

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *M. pubescens* des populations de Dabdaab et Ain Aminaas a montré que l' $\alpha$ -pinène est le constituant majoritaire, alors que l' $\alpha$ -bulnesene (38,50 %), est le principal constituant de l'huile essentielle de la population de Ben Naser, suivie par le  $\beta$ -ocimène Z (25,96 %).

Le penyl penta-2,4dine présent en quantité importante dans l'huile essentielle de la population Magrane (15,20 %) et de Baker (15,05%). alors qu'il est absent des d'autres populations.

Le profil chimique de *M. pubescens* de la population d'Oulad Slimane est caractérisé par la dominance du  $\beta$ -ocimène (Z) (71 %) suivie par l' $\alpha$ - pinène (13,50%).

La différence de l'hétérogénéité de la composition chimique des huiles essentielles des populations étudiées est à remarquer, l' $\alpha$ -bulnesene, composé présent dans la population de Ben Naser (38,50%) est absent dans les populations de H. Khalifa, El-Mghair, Ras El-Miad, Dabdab et O. Slimane. La répartition quantitative et qualitative des terpènes n'est pas homogène dans les huiles de *M. pubescens*. Les monoterpène hydrocarbonés sont présent dans l'huile essentielle de la population d'Oulad Slimane avec un pourcentage élève de 96,59%. Les sesquiterpènes hydrocarbonés représentés par un pourcentage de 41,10% dans l'huile essentielle de la population de Ben Naser.

### 3- Variabilité chimique des huiles essentielles de *M. pubescens*

L'analyse en composantes principales (ACP) et l'analyse des clusters UPGMA ont été appliquées aux résultats des huiles essentielles, afin d'identifier les relations qui existent entre les populations du *M. pubescens*.

La composition chimique des huiles essentielles des 14 populations de *M. pubescens* sont peu différentes. Pour comparer les profils en composés chimiques nous avons considéré chaque composé comme une variable quantitative à expliquer (Tableau 5).

**Tableau 5** : Composés de l'huile essentielle utilisée dans les analyses statistiques

<b>Composés</b>	<b>Code</b>
<b><math>\alpha</math>-thujene</b>	V1
<b><math>\alpha</math>-pinene</b>	V2
<b>Myrcene</b>	V3
<b>Limonene</b>	V4
<b><math>\beta</math>-ocimene-Z</b>	V5
<b><math>\beta</math>-ocimene-E</b>	V6
<b>Ocimene&lt;allo&gt;</b>	V7
<b>Endobornyl acetate</b>	V8
<b>1-phenyl-penta-2,4-diyne</b>	V9
<b>Germacrene-D</b>	V10
<b>Caryophyllene-E</b>	V11
<b><math>\delta</math>-bisabolene-E</b>	V12
<b><math>\beta</math>-germacrene</b>	V13
<b>Caryophyllene oxide</b>	V14
<b><math>\alpha</math>-bulnesene</b>	V15

Les composants chimiques majoritaires identifiés dans les huiles essentielles des 14 populations de *M. pubescens* montrent de grande variation quantitative (Figure 13). Le  $\beta$ -ocimene-Z (V5) présente la plus une grande variation, suivi de l' $\alpha$ -bulnesene (V15), l' $\alpha$ -pinene (V2), du 1-phenyl-penta-2,4-diyne (V9) et du  $\delta$ -bisabolene-E(V12).

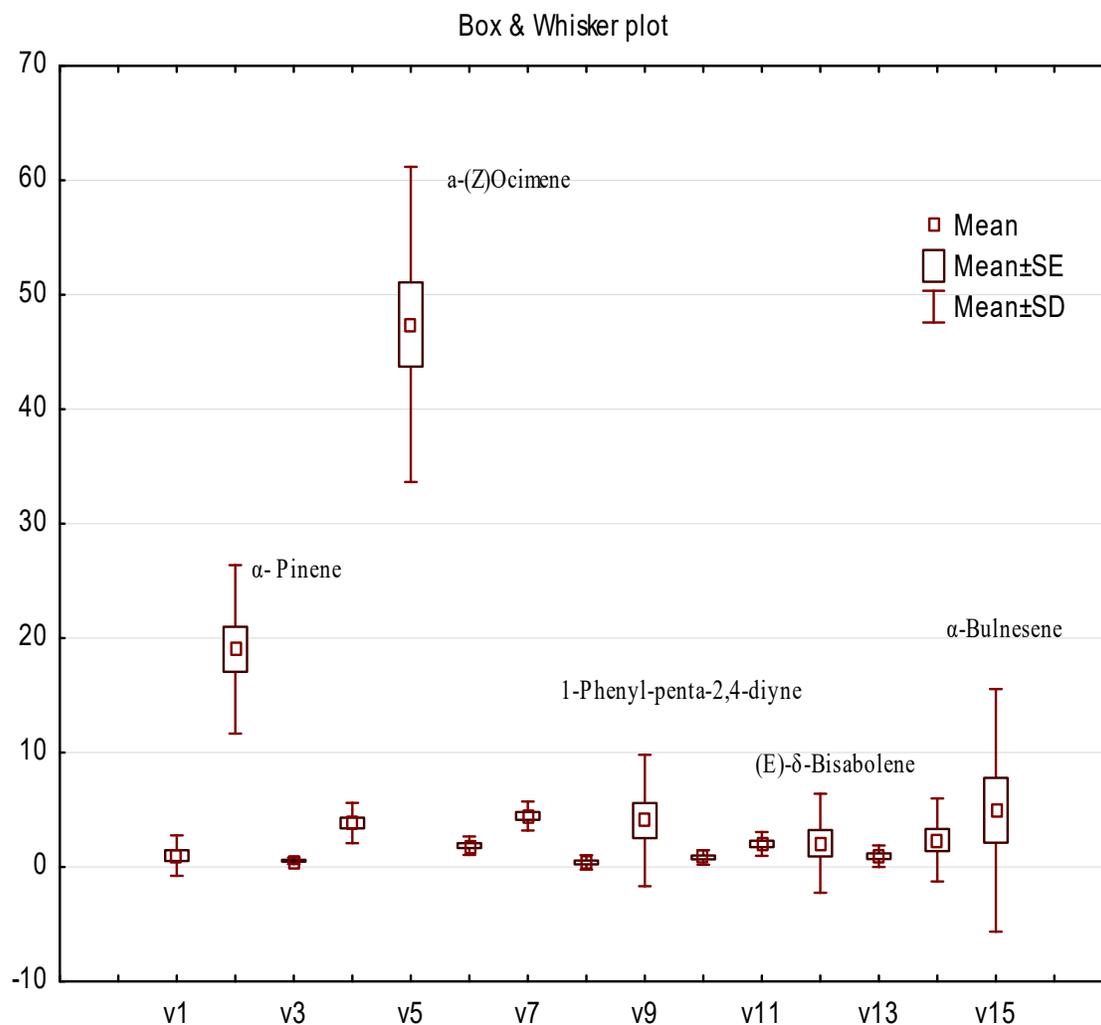


Figure 13 : Variation de la concentration des composés majoritaires chez *M. pubescens*

### 3-1 Matrice des corrélations

L'analyse de la matrice fait apparaître des coefficients de corrélation faible, seulement 31,31% des variables sont significativement corrélées (Tableau 6).

**Tableau 6:** Matrice de corrélation des composants de l'huile essentielle de *M.pubescens*

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15
V1	1,00														
V2	0,68	1,00													
V3	-0,01	0,16	1,00												
V4	0,01	0,41	0,33	1,00											
V5	-0,53	-0,39	0,19	-0,38	1,00										
V6	-0,58	-0,31	0,30	-0,12	0,80	1,00									
V7	-0,61	-0,55	0,04	-0,45	0,88	0,83	1,00								
V8	0,03	0,28	-0,59	0,32	-0,45	-0,19	-0,31	1,00							
V9	0,10	0,07	-0,15	0,10	-0,33	-0,65	-0,56	0,00	1,00						
V10	-0,21	-0,08	0,50	-0,23	0,24	0,16	0,03	-0,44	0,24	1,00					
V11	0,24	0,20	0,36	0,42	-0,24	-0,32	-0,47	-0,25	0,31	0,24	1,00				
V12	-0,15	-0,27	0,13	0,00	-0,10	-0,33	-0,30	-0,31	0,67	0,54	0,21	1,00			
V13	0,03	-0,06	0,07	0,19	0,01	0,15	0,11	-0,25	-0,42	-0,23	0,27	-0,13	1,00		
V14	0,41	0,51	-0,43	0,53	-0,65	-0,55	-0,60	0,78	0,18	-0,56	0,20	-0,26	-0,09	1,00	
V15	-0,06	-0,43	-0,27	-0,22	-0,42	-0,14	-0,02	0,15	-0,33	-0,28	-0,24	-0,20	0,19	0,00	1,00

Cor > **0,48** significative ; Cor > **0,51** hautement significative

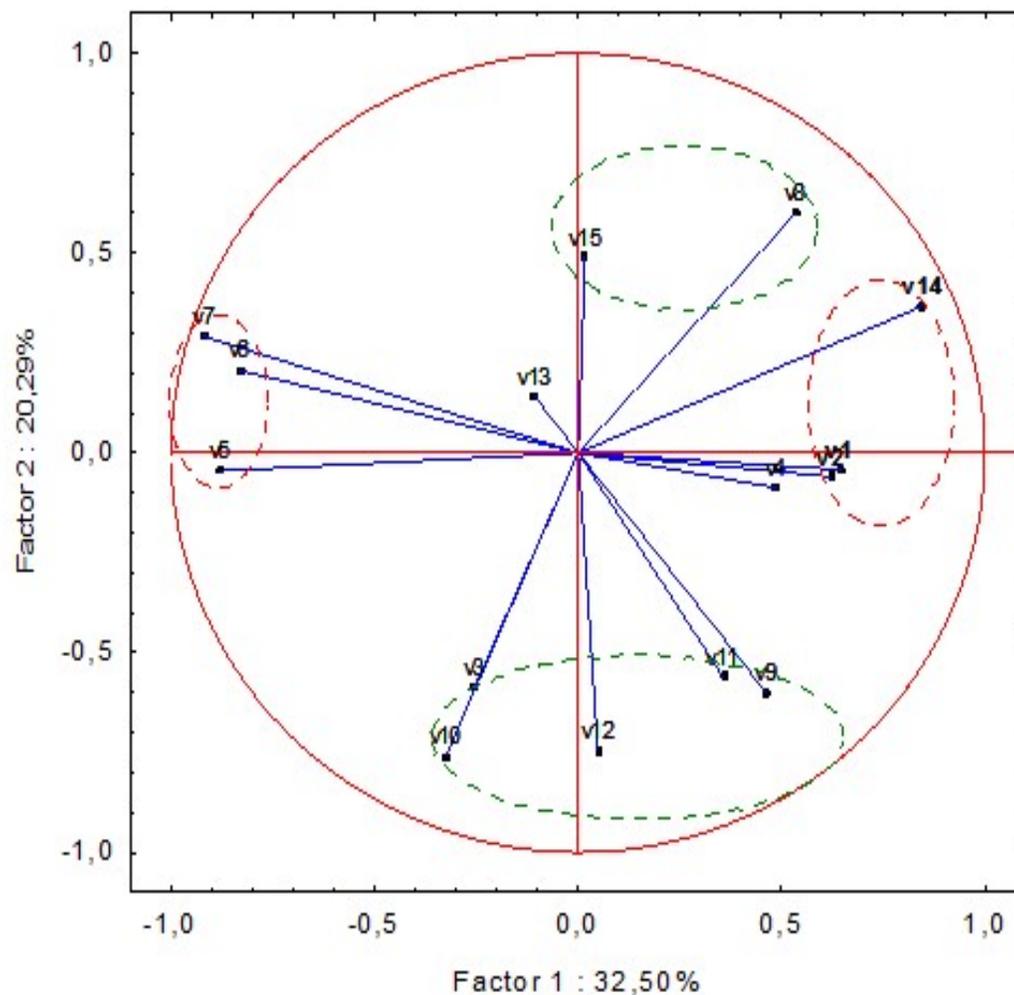
Les valeurs propres représentant la variance des composants de l'huile sur les axes sont moyennes, 32,50% pour le premier axe, 20,29% pour l'axe 2 et 14,13% pour l'axe trois, donnant ainsi une bonne contribution à la variance totale. L'ensemble de l'information expliquée par les trois premiers axes issus de l'ACP est de 66,14%.

### 3-2 Cercle des corrélations

La projection du plan formé par les deux premiers axes principaux plan 1x2 (Figure 14) montre que les composants de l'huile essentielle contribuent fortement à la formation des deux axes.

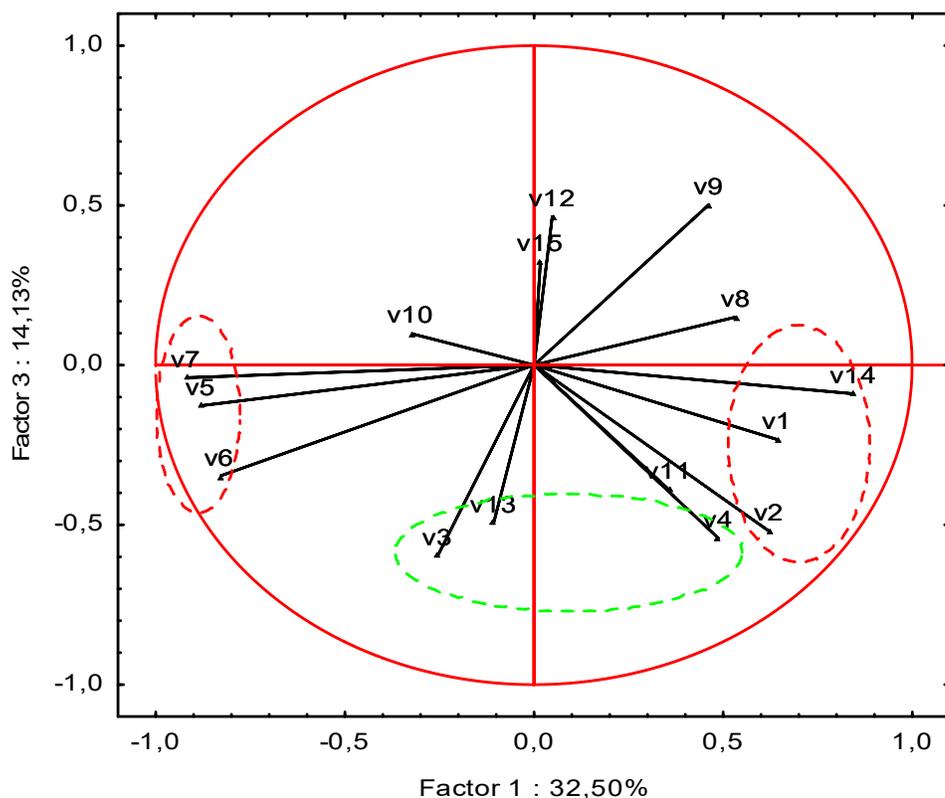
La partie positive de l'axe 1 est expliquée par les variables (V1)  $\alpha$ -thujène (cor. 0,64), (V2)  $\alpha$ -pinène (cor. 0,62) et (V14) caryophyllène oxide (cor. 0,84), tandis que sa partie négative est expliquée par les variables (V5)  $\beta$ -(Z) ocimène (cor. -0,88), (V6) (E)  $\beta$ -ocimène (cor. -0,83) et (V7) ocimène allo (cor. -0,92). La partie positive de l'axe 2 est expliquée par deux variables : (V8) endobornyl acétate (cor. 0,60) et (V15)  $\alpha$ -bulnène (cor. 0,50) par

contre la partie négative est expliquée par les composés (V9) 1-phenyl-penta-2,4-diyne (cor. 0,60), (V10) D-germacrene (cor. 0,76), (V11) (E)-caryophyllene (cor. 0,56) et (V12)(E)- $\delta$ -bisabolene (cor. 0,75).



**Figure 14:** Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x2)

La représentation du plan 1x3 montre que les variables (V3) myrcènes (cor. -0,60), (V4) limonène (cor. -0,54) et (V13)  $\beta$ -germacrene (cor. -0,49) contribue fortement à la formation de la partie négative de l'axe 3 (figure15).



**Figure 15:** Cercle des corrélations, projection des variables sur le plan (1x3)

### 3-3 Etude des populations

La projection des 14 populations de *M. pubescens* sur le plan 1x2 (Figure 16), basée sur la teneur en composés terpéniques montre que nos populations sont réparties sur les trois premiers axes.

Les populations d'In Aminaas et Dabdaab, localisées sur la partie positive de l'axe 1, sont caractérisées par l' $\alpha$ -thujène,  $\alpha$ -pinène et le caryophyllène oxyde. Par contre les populations de Boussaâda, El-Ménea, Ouled Slimane, Ras El-miaad et Djamaa sont localisées sur la partie négative de l'axe 1 et caractérisées par un taux élevé des composants  $\beta$ -ocimène-Z,  $\beta$ -ocimène-E et l'ocimène allo.

La population de Ben Naser s'isole sur la partie positive de l'axe 2. Elle est caractérisée par l'endobornyl acétate et de l' $\alpha$ -bulnésène, alors que sur la partie négative de

cette axe on retrouve les populations de Megrane et Hassi Khalifa qui sont caractérisées par le 1-phenyl-penta-2,4-diyne, le D-germacrene, le caryophyllene-E et le  $\delta$ -bisabolene-E.

Les populations de Mihouansa et Beni gacha, caractérisées par le myrcènes, le limonène et le  $\beta$ -germacrene se retrouvent sur la partie négative de l'axe 3 (Figure17).

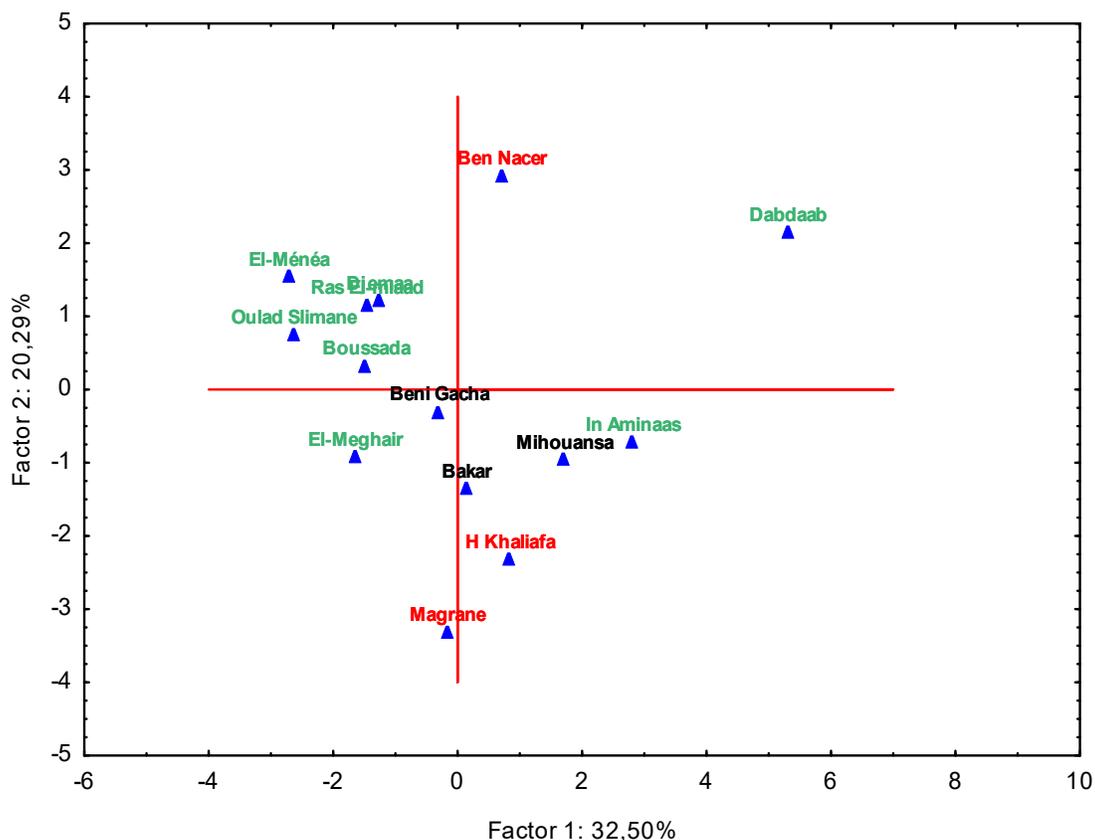
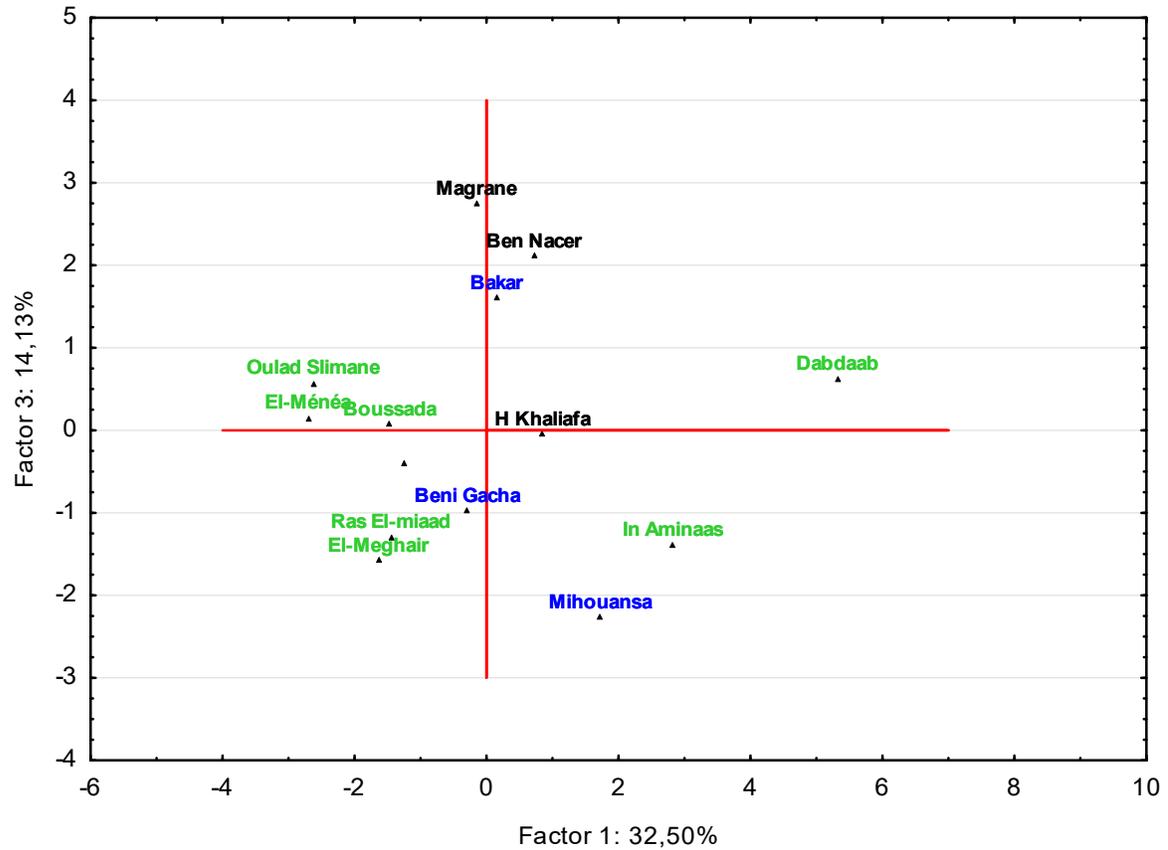
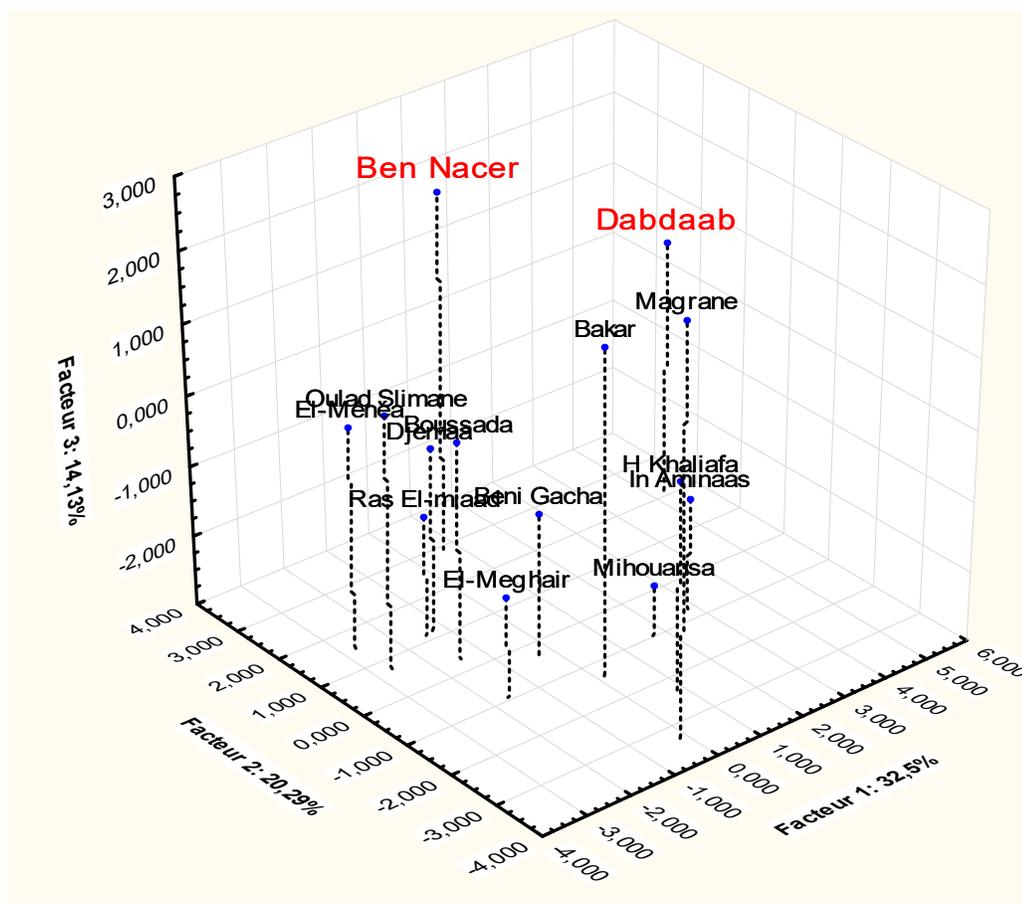


Figure 16 : Projection des populations de *M. pubescens* sur le plan 1-2



**Figure 17** : Projection des populations de *M. pubescens*, sur le plan 1-3

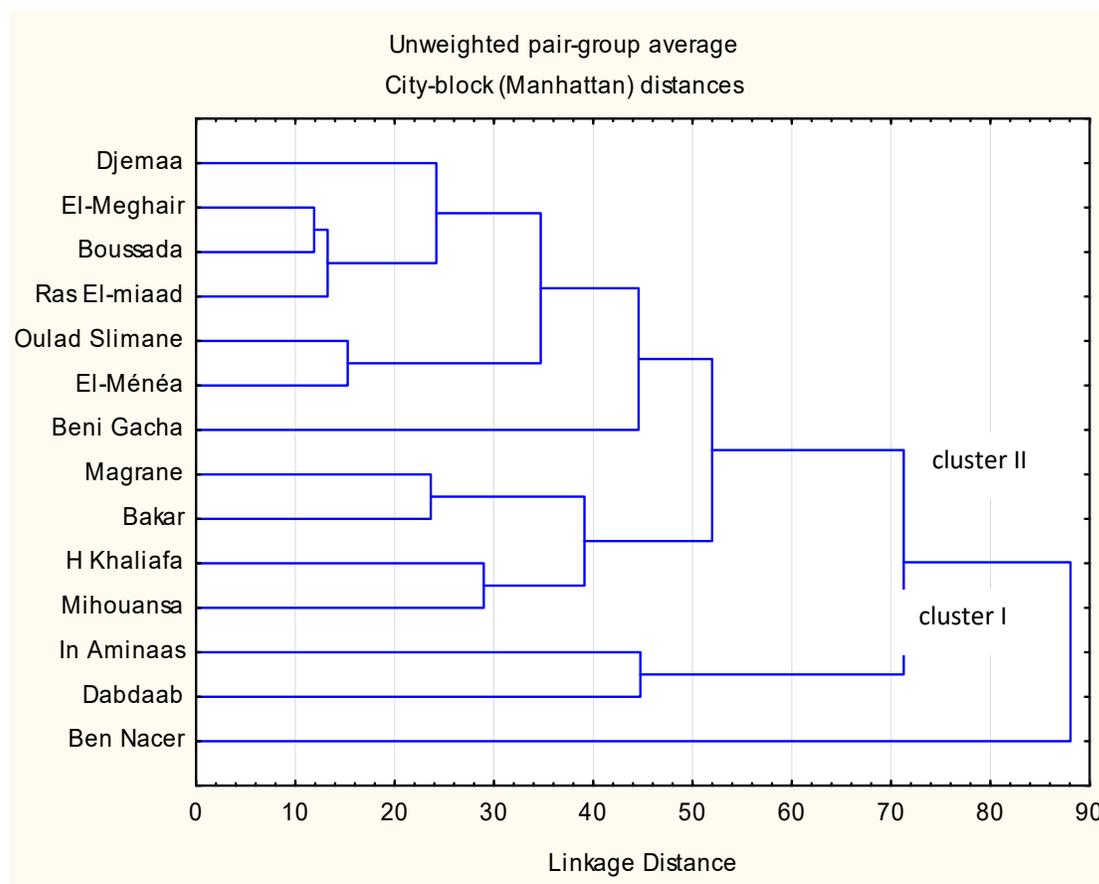
La projection spéciale tridimensionnelle, des populations, basée sur les trois axes principaux issus de l'ACP (Figure 18) montre que les populations de Dabdaab et de Ben Naser sont nettement séparées des autres populations, mais l'ensemble des populations forme un nuage et on ne distingue pas de groupe homogène.



**Figure 18 :** Projection spatiale des 14 population de *M. Pubescens*

Pour séparer les populations en groupes homogènes nous avons réalisé une analyse de cluster UPGMA. Cette analyse a permis de séparer les populations de *M. pubescens* en deux principaux clusters (Figure 19). Le premier cluster est représenté par la population cultivée de Ben Nacer, sa composition chimique est différente du reste des populations. Elle est caractérisée par un taux élevé d' $\alpha$ -bulnesène.

Le second cluster est subdivisé en deux clades lui-même subdivisé en deux branches correspondant aux deux groupes différenciés. Le premier sous-clade formé par les populations de Dabdaab et In Aminaas. Elles sont caractérisées par un taux important de caryophyllène oxyde. Le deuxième sous-clade est divisé en deux groupes, l'un caractérisé par un taux élevé d' $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -ocimane-Z, 1-phenyl-penta-2,4-diyne, l'autre contient de l' $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -ocimane (Z) et de l'ocimène.



**Figure 19 :** UPGMA cluster des populations de *M. pubescens*

Au sein d'une même espace de plante, la composition de l'huile essentielle des divers individus peut présenter des profils chimiques ou chémotypes différents. Notre étude sépare les 14 populations de *M. pubescens* en quatre chémotypes différents en se basant sur la distance de linkage.

Le premiers chémotype représenté par l'huile essentielle de la population de Ben Nacer, qui est caractérisée par l' $\alpha$ -bulnesene comme composant majoritaire (38,5%). Les autres populations naturelles sont caractérisées par le second chémotype à  $\beta$ -ocimene (Z)- $\alpha$ -pinene, avec une forte variabilité.

Certaines populations possèdent d'autres constituants majoritaires dans les huiles essentielles, ce qui nous permis de définir des chemotypes intermédiaires ou des sous chémotypes tels que le chémotype à  $\beta$ -ocimene (Z) - $\alpha$ -pinene - Caryophyllene oxide dans les populations d'In Aminaas et Dabdaab ; le chémotype à  $\beta$ -ocimane(Z)-  $\alpha$ -pinene-1-phenyl-

penta-2,4-diyne caractérise les populations de Mihouansa, Hassi Khalifa, Magrane et Bakaar. Le chémotype  $\beta$ -ocimane (Z)-  $\alpha$ -pinene- Ocimene allo, caractérise les populations de Beni Gacha, Oulad Slimane, El-Ménéa, Djemaa, El-Meghair, Boussada et Ras El-miaad (Tableau 7).

**Tableau 7** : Chemotypes de *M. pubescens* d'Algérie

Chemotypes	Populations
$\alpha$ -bulnesene – $\beta$ -ocimane (Z) – $\alpha$ -pinene	Ben Necer
$\alpha$ -pinene – $\beta$ -ocimane (Z) – Ocimene allo	Beni Gacha, Oulad Slimane, El-Ménéa, Djemaa, El-Meghair, Boussada and Ras El-miaad
$\alpha$ -pinene – $\beta$ -ocimane (Z) – 1-phenyl-penta-2,4-diyne	Mihouansa, Hassi Khalifa, Magrane et Bakaar
$\alpha$ -pinene – $\beta$ -ocimane (Z) – Caryophyllene oxide	In Aminaas et Dabdaab

La composition chimique de l'huile essentielle de *M. pubescens* a fait l'objet de nombreuses investigations. Les résultats de notre étude sont similaires à ceux obtenus par Makhloufi *et al.* (2014) des populations de Bâcher. Par contre, Une étude réalisée sur *M. pubescens* de la région de Ghardaïa, a montré que l'éthyl isochrysanthemoate (26,5%), spathulenol (19,4%),  $\alpha$ -cadinol (12,9%), et geranyl-isovalerate (8,2%) sont les composés majoritaires (Boutaghane *et al.* 2011 ; Tadrent *et al.*, 2016).

Bouziane (2015) a signalé la présence d'un grand nombre de monoterpène oxygéné dans l'huile essentielle de *Matricaria pubescens* de la région de Biskra avec une dominance de l'herniarine et spathulenol. L'huile essentielle de *M. pubescens* du sud-est du Maroc contient du carvacrol (13,9%), de l' $\alpha$ -pinene (10,3 %) et de l'anethole-E (10,1%) comme composés majoritaires (Manssouri *et al.*, 2020 a, b).

L'huile essentielle des parties aériennes de *Matricaria pubescens* du Maroc est dominée par les monoterpènes oxygénés (29,4%), les monoterpènes hydrocarbures (14%), les sesquiterpènes oxygénés (18%) et les sesquiterpènes hydrocarbonés (7,3%). Les composés anéthole-E, heptadéca-10,16-diène-7-one-E et le  $\beta$ -ocimène-Z ont été identifiés comme des constituants majeurs de l'huile de *Matricaria pubescens* (Manssouri *et al.*, 2020 c).

L'huile essentielle de *Matricaria chamomilla* du Maroc contient principalement du Chamazulene, cis- $\beta$ -farnesene et du 1,8-Cineole (Hajjaj *et al.*, 2013), alors que l'échantillon

de l'huile du sud de l'Égypte est dominée par cis- $\beta$ -farnesene et  $\alpha$ -bisabolol oxide A (Gawde et *al.*, 2014). Une autre, huile essentielle de *M. recutita* L. d'origine Tahrân (Iran) contient principalement du trans-trans-Farnesol, Guaiazulene et cis- $\beta$ -farnesene (Can et *al.*, 2012).

Généralement la variabilité observée dans la composition chimique des huiles essentielles peut être attribuée aux différents facteurs comme les localités géographiques, le climat, la partie de la plante utilisée (Moghaddam et *al.*, 2007 ; El-bali et *al.*, 2018 ; Mollaei et *al.*, 2020).

La méthode d'extraction influe, également, considérablement sur la composition de l'huile essentielle, et les procédés, qui utilisent l'eau, peuvent induire l'hydrolyse des esters et aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations, ... etc (Moghaddam et *al.*, 2007 ; Reyes-Jurado, 2015).

D'autres facteurs important peuvent influencer la composition chimique des huiles essentielles comme le patrimoine génétique de la plante, Hanover (1992) fournit la preuve que les chémotypes terpéniques sont fortement contrôlés par des facteurs génétiques (in Davis et *al.*, 2018).

## 2- Résultats microbiologiques

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *M. pubescens* a été évaluée par la méthode des disques sur huit souches bactériennes et une souche de levure. L'estimation de la sensibilité ou de la résistance des espèces bactériennes aux huiles essentielles testées est basée sur la détermination du diamètre des zones d'inhibition. La Gentamicine (GEN), la Cefazolin (CZ30), l'Amoxiciline (AMX) et la Colistine (CL25) ont été utilisées comme témoin positif, alors que le DMSO est utilisé comme témoin négative.

L'huile essentielle de *M. pubescens* montre une bonne activité sur les bactéries Gram positif et Gram négatif, les diamètres des zones d'inhibition varient selon les souches testées et les dilutions des huiles utilisées (Tableau 8).

Les 14 huiles essentielles testées montrent une activité importante, sur les bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Listeria innocua* aux dilutions 1/1 et 1/2 (v/v). Le meilleur résultat obtenu est celui observé contre la souche *Portus mirabilis* qui présente une grande sensibilité avec un diamètre d'inhibition de  $54,8 \pm 0,014$  mm, à la concentration de 1/1 (v/v), pour l'huile essentielle de la population d'Ouled Slimane. Les huiles essentielles des populations de Ben Naser, Magrene, Djemaa, et Bakaar montrent une forte activité vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus*, même plus supérieure que celui des antibiotiques testées., avec des diamètres d'inhibitions ( $47 \pm 0,25$  mm,  $44,3 \pm 0,57$  mm,  $35,5 \pm 0,86$  mm, 42 mm)

Les huiles essentielles de *M. pubscens* agissent de façon active sur les souches Gram-, *E. coli*, *Klebsiella pneumonie* et *P. aeruginosa*, aux dilutions 1/1 et 1/2 (v/v). Les huiles essentielles des populations de Djamaa, Ras Elmiad et Beni gueccha exercent une bonne activité sur la souche *E. coli* avec des zones inhibitions de 24 mm, 23 mm et 20 mm  $\pm$ , respectivement. L'activité antibactérienne des huiles essentielles des populations de Bakaar, El Ménéea et Ain Aminaas montrent une bonne inhibition contre *S. enterica*.

Les huiles essentielles des populations de Beni Guechaa et El'mghair sont inactives sur la levure *Candida albicans* et présentent une faible activité sur les bactéries à Gram négatif *S. enterica* et *K. pneumoniae*. Les huiles essentielles des populations d'El Ménéea, Bakaar, Mihouanassa, Magrane et Ouled Slimane sont plus actives sur la levure *Candida albicans*.

Tableau 8 : Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Matricaria pubescens*

Stations	Dilution	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. enterica</i>	<i>L. innocua</i>	<i>B. cereus</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>C. albicans</i>
Ben Nacer	1	14,3±0,57	13± 0	47± 0,25	11,2 ±0,23	9,1± 0,14	22,2±0,12	12,9±0,1	22± 0	12,5
	1/2	11,7±0,57	8,2± 0,76	44,7±0,57	9,2± 0,23	0	16,5± 0,5	11,7±0,3	13,8±0,3	10
	1/4	9,7±0,57	7 ± 0	30± 0	7,3± 0,47	0	13,3± 0,28	10± 0	0	/
	1/8	0	0	16,8±0,35	0	0	9,2± 0,11	0	0	/
Bakaar	1	16,6± 0,15	15,9±0,36	35,5±0,86	23± 0	25,4±0,53	21± 0	14± 0,1	47,2±0,3	26
	1/2	11± 0	14± 0,5	20,3±0,57	15,9±0,11	11± 0	14,8±0,76	12± 0	29,2±0,3	14,5
	1/4	9,7± 0,57	8± 0	8,7± 0,57	8,3± 0,57	8± 0	12± 0	10,3±0,6	20 ± 0	/
	1/8	7,8±0,76	0	0	0	0	10,2± 0,28	9± 0	10± 0	/
Magrane	1	17± 0	13,1±0,11	44,3±0,57	29,3± 0,57	17,3± 0,57	42± 0	15± 0	44,9±0,1	22,5
	1/2	14,8±0,28	10,3±0,57	26,5± 0,5	23,7± 1,15	14± 0	28± 0	11± 0	29,8±1,0	15
	1/4	13± 0	8± 0	14,93±0,11	20± 1,73	12± 0	17± 0	0	16,7±0,6	/
	1/8	8± 0	8± 0	10± 0	11± 0	0	13,5± 0,86	0	9,3± 0,23	/
Beni guecha	1	20± 0	10,5± 0,5	17,2±0,28	10,4± 0,52	9,2 ± 0,28	15,2± 2,02	21± 0	10± 0	0
	1/2	14,5± 0,86	9,5± 0	13,2±0,28	0	0	13,2± 0,28	13± 0	9,3±0,23	/
	1/4	10,8± 0,28	0	9,2± 0,28	0	0	9± 0	10,7±1,2	0	/
	1/8	9,3± 0,57	0	7,7 ± 0,57	0	0	7± 0	7± 0	0	/
Hassikhalifa	1	9,7± 1,15	29,5± 0,5	23± 0	12± 0	8,3± 0	39,3± 0,57	24± 0,1	42,7±0,6	11
	1/2	9± 0	14,7±0,25	19,5±0	10,5± 0,5	0	29,8 ±1,44	10± 0	28± 0	0
	1/4	7,8± 0,76	8± 0	16± 0	8,7± 0,57	0	14,05±0,1	0	17± 0	/
	1/8	8± 0	0	11,8 ±1,04	7,3 ± 0,57	0	10± 0	0	12± 0	/
Mihouansa	1	17,3± 0,57	13± 0	21,7± 0,57	22,5 ± 1,32	13 ± 0	33,7± 1,54	17± 0	41,7±1,2	25
	1/2	12,3± 0,57	10± 0	17,5± 0,86	14,3± 0,57	9,2 ± 1,04	16 ± 0,86	13,7 ±1,2	35± 0	18
	1/4	9,3± 0,57	7,8± 0,28	13,7± 1,15	11 ± 0	9 ± 00	102 ± 028	0	24,5± 0,9	/
	1/8	8 ± 0	7 ± 0	10,3 ± 0,57	8,3± 1,15	0	7,3 ± 0,57	0	19 ± 0	/
El m'ghair	1	13,8 ± 1,25	27,1±0,23	20,3± 0,57	10,2± 0,28	11 ± 0	33 ± 0	13± 0,5	34, 1 ±0,2	0
	1/2	10,8± 0,76	12± 0	13± 0	9± 0	8± 0	24,3± 0,57	10± 0	19± 0	/
	1/4	10,1± 0,17	0	8,7± 1,54	0	0	11± 0	0	11,1± 0,4	/
	1/8	9± 0	0	0	0	0	9,3± 0,57	0	0	/
Djamaa	1	24± 0	13,8±0,34	42 ± 0	40 ± 1	15,8± 0,76	18,3±0,57	19,8±0,3	51,3± 1,2	23
	1/2	13,3± 0,28	12± 0	23± 0	19,7± 2,3	14 ± 0	15± 0	12,8 ± 0,7	30 ± 0	12,7
	1/4	11± 0	11,3±0,28	21± 0	18± 0	11,8± 0,28	13,6± 0,51	10,3 ± 2,1	23± 0	/
	1/8	9,2 ± 0,76	9,8± 0,76	17,3±1,15	15± 0	9,3± 0,57	8 ± 1,73	7,7±1,15	19,7± 0,6	/
Rasselmiad	1	23 ± 0	16± 1,73	23± 1,73	20 ± 0	0	26 ± 0	15± 0	35,7± 1,2	10,5
	1/2	20,3± 0,57	14,2 ± 0,28	14,3±0,57	16 ± 0	0	13± 0	13± 0,8	28 ± 0	0
	1/4	12 ± 0	0	11,3±0,57	10± 0	0	12,5± 0	10 ± 0	20,3± 0,6	/
	1/8	8± 0	0	8,3± 0,47	0	0	9,3± 1,15	7,3± 0,57	11,7± 0,3	/
In Aminaas	1	16± 0,5	10 ± 0	20± 00	0	23,8± 1,04	35,3± 0,57	12± 0,5	34,3± 0,6	13,5
	1/2	11± 0	0	12,8±0,57	0	18± 0	28 ± 0,86	0	22,8± 0,6	
	1/4	9,8± 0,28	0	10 ± 0	0	0	18,2± 1,44	0	17,6± 0,6	
	1/8	9± 0	0	7,5± 0,5	0	0	10,7± 1,15	0	13± 0	
Dabdaab	1	20± 0	12,7±0,15	18,7±0,57	0	0	10,8± 0,28	14,7±1,15	29 ± 0	15,5
	1/2	15,3± 0,25	0	12± 0	0	0	7,8± 1,04	9 ± 0	20 ± 0	
	1/4	11,9± 0,17	0	0	0	0	0	0	17± 0	
	1/8	7,7± 1,15	0	0	0	0	0	0	13± 0	
Oulad Slimane	1	11,2± 0,28	0	27,2±0,28	25,3± 0,57	14,4±0,11	19,7± 1,15	20 ± 0	54,8±0,1	20

	1/2	8±0	0	17± 0	21,2± 0,28	13,8± 0,28	14 ± 0	16± 0	31± 0	
	1/4	0	0	14± 0	13± 0	0	11,7± 1,15	11 ± 0	21 ± 0	
	1/8	0	0	10± 0	0	0	10± 0	0	12± 0	
Boussaâda	1	14,2± 0,28	10 ± 0	20 ± 0	17 ± 0	0	0	21 ± 0	31,7± 2,9	15
	1/2	10,7± 0,57	9 ± 0	15,7±0,57	14,3± 0,57	0	0	13 ± 0	20 ± 0	11
	1/4	0	0	12,2 ±0,28	11 ± 0	0	0	12 ± 0	16 ± 0	/
	1/8	0	0	10,3±0,57	8,3± 0,57	0	0	10 ± 0	13 ± 0	/
EL Menea	1	19± 0	12± 0	26± 0	20± 0	23 ± 1,15	24 ± 0	19,8±0,28	51,1± 0,2	26,5
	1/2	12 ± 0	10,7± 0,57	18 ± 0	16 ± 0	14,7± 0,28	16,5± 0,86	13 ± 0	30 ± 0	17
	1/4	10 ± 0	8,3± 0,28	16 ± 0	12 ± 0	10 ± 0	14,4± 0,36	11,3±1,15	12 ± 0	/
	1/8	8,3± 1,15	0	12± 0	9± 0	0	11± 0	8± 0	10± 0	/
Antibiotiques	<b>Gen</b>	27	28,3 ±0,57	22	23	20	29	0	40	/
	<b>CZ30</b>	29,3± 0,57	0	19	0	18	0	0	34,7 ±0,6	
	<b>AMX</b>	26	0	31,3± 0,57	30,7	0	30,3 ±0,47	17,3 ±1,54	35,3 ±0,6	
	<b>CL25</b>	17,3	18,3 ± 0,58	0	0	19,7± 0,57	13	20	21	

### 2-1 Analyse statistique de l'activité antibactérienne par l'ANOVA

L'effet des huiles essentielles de *M. pubescens* au niveau des trois facteurs (stations, doses et bactéries) ainsi que les interactions entre eux est hautement significative ( $P < 0,001$ ) (Tableau 9).

**Tableau 9 :** Effets des moyennes et les interactions d'huile essentielle de *M. pubescens*

Source	df	F	P
<b>Facteurs</b>			
<b>Populations</b>	13	30,24	<b>.0000 ***</b>
<b>Doses</b>	7	731,28	<b>.0000 ***</b>
<b>Bactérie</b>	7	626,92	<b>.0000 ***</b>
<b>Interaction</b>			
<b>Populations * Doses</b>	91	5,80	<b>.0000 ***</b>
<b>Populations * Bactérie</b>	91	8,84	<b>.0000 ***</b>
<b>Doses * Bactérie</b>	49	151,87	<b>.0000 ***</b>
<b>Populations * Doses * Bactérie</b>	637	3,27	<b>.0000 ***</b>
Note: *** Très hautement significatif ( $P < 0,001$ )			

Les huiles essentielles des stations de Djamaa et Magrane sont classées dans le même groupe statistique (Tableau 10). Ces huiles présentent une forte activité antibactérienne contre les souches bactériennes testées.

Tableau 10 : Efficacité des huiles essentielles de *M. pubescens* sur les bactéries

	Station	Moyenne	n	Groupes significatifs									
1	Djamaa	18,55	192	a									
2	Magrane	17,92	192	a									
3	Bakaar	16,60	192		b								
4	EL Ménéea	16,37	192			bc							
5	Mihouansa	15,97	192				bcd						
6	Ras Elmiad	15,67	192					cd					
7	Hassikhalifa	15,56	192					cd					
8	Ben Naser	15,23	192						d				
9	Ouled Slimane	15,21	192						d				
10	In Aminaas	14,23	192							e			
11	El m'ghair	14,05	192							e			
12	Beni Guecha	13,45	192							e			
13	Boussaâda	13,44	192							e			
14	Dabdaab	12,35	192									f	

Note: LSD 0,05 = 0,87596969

Les huiles essentielles des stations In Aminaas, El m'Ghair, Beni Guecha et Boussaâda, exercent moyennement une activité sur les 08 souches. L'huile essentielle de la station de Dabdaab présente une activité modérée vis-à-vis de la majorité des souches testées.

Le meilleur pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *M. pubescens* est observé à la dilution 1/1, avec un diamètre moyen d'inhibition de  $20,85 \pm 0,662$  mm. L'action de dilution 1/2 sur les souches bactériennes testées a permis d'avoir de diamètre de zone d'inhibition de  $14,09 \pm 0,662$  mm. Les effets des dilutions (1/4 et 1/8) sont plus faibles (Tableau 11).

**Tableau 11** : Effets des dilutions d'HE sur les bactéries testées

	Doses	Moyenne	n	Groupes Significatifs
1	Gentamicine	24,07	336	a
2	Amoxicilline	21,36	336	b
3	Dilution 1/1	20,85	336	b
4	Colistine25	15,39	336	c
5	Dilution 1/2	14,09	336	d
6	Céfazoline30	12,55	336	e
7	Dilution 1/4	8,87	336	f
8	Dilution 1/8	5,45	336	g

Note: LSD 0,05 = 0,66217084683

La souche *Portus mirabilis* est la plus sensible aux huiles essentielles de *M. pubescens* avec une moyenne de diamètre d'inhibition de  $27,45 \pm 9,248$  mm. La souche *Pseudomonas aeruginosa* est la moins sensible aux huiles avec une moyenne de zone d'inhibition de  $9,44 \pm 3,660$  mm (Tableau 12).

**Tableau 12**: Groupes de sensibilité des bactéries aux huiles essentielles de *M. pubescens*

Rank	espèces bactériennes	Moyenne	n	Groupes Significatif	S*
1	<i>Protus mirabilis</i>	27,45	336	a	+++
2	<i>E. coli</i>	17,99	336	b	++
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	17,69	336	b	++
4	<i>Listeria innocua</i>	16,65	336	c	++
5	<i>Klebsiella pneumonie</i>	11,93	336	d	+
6	<i>Bacillus cereus</i>	11,31	336	d	+
7	<i>Salmonella enterica</i> ssp Arizonae	10,19	336	e	+
8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,44	336	f	+

\* S : (+) sensible ; (++) très sensible ; (+++) extrêmement sensible ; (P < 0,01); + Significant (P < 0,05)

2-2 Concentration minimale inhibitrice (mg/mL) de l'huile essentielle de *M. pubescens*

La CMI de l'huile essentielle de *Matricaria pubescens* a été déterminée par la technique de microdilution. Les CMI des huiles essentielles de *M. pubescens* varient de 0,05 à 3 mg/mL (Tableau 13). Ces CMI indiquent que les souches bactériennes testées sont sensibles aux huiles essentielles de *M. pubescens*.

Tableau 13: CMI (mg/mL) des huiles essentielles de *M. pubescens*

Populations Stains	Ben Nesar	Bakaar	Magrene	Beni guecha	H. Khalifa	Mihouasna	El m'ghair	Djemmaa	In Amounas	Dabdab	RasElmiad	O. Slimane	Boussaada	Elmenea
<i>E. coli</i>	≥ 3	1,5	1,5	1,5	nd	1,5	nd	0,7 5	0,7 5	0,3 8	1,5	nd	nd	0,75
<i>P. aeruginosa</i>	1.5	1,5	nd	nd	0,3 8	≥ 3	0,3 8	≥ 3	nd	nd	0,7 5	nd	nd	≥ 3
<i>K.pneumonie</i>	≥ 3	0,3 8	0,19	nd	nd	0,7 5	nd	0,0 5	nd	nd	1,5	0,7 5	1,5	0,75
<i>P. mirabilis</i>	nd	≤0, 05	0,09	nd	≤0, 05	≤0, 05	0,0 9	≤0, 05	0,3 8	0,3 8	nd	0,1 9	0,38	0,09
<i>L. innocua</i>	nd	≥ 3	0,05	≥ 3	00 5	0,0 9	0,0 9	1,5	1,5	nd	0,7 5	0,7 5	nd	0,38
<i>S. aureusa</i>	≤0,0 5	0,3 7	0,38	nd	0,7 5	0,3 8	0,7 5	0,0 5	1,5	1,5	1,5	0,7 5	0,75	0,75
<i>B. cereus</i>	1.5	nd	nd	nd	0,3 7	1,5	1.5	0,3 8	≥ 3	≥ 3	nd	0,3 8	0,38	0,38
<i>C.albicans</i>	nd	0,0 9	0,38	nd	nd	0,0 9	nd	0,0 5	nd	≥ 3	nd	0,0 9	≥ 3	0,09

nd : non déterminée

Les huiles essentielles des populations de *M. pubescens* ont présentés une forte activité inhibitrice vis-à-vis les souches *Protus mirabilis* ATCC35659 avec une CMI de l'ordre de (0,375 à 0,05 mg/ml) et *Staphylococcus aureus* ATCC25923 avec une CMI de l'ordre de (1,5 à 0,05 mg/ml). Ces valeurs montrent la sensibilité de *Protus mirabilis* et *S. aureus* à

l'huile essentielle de *M. pubescens*. Alors que la souche *P. aeruginosa* ATCC 27853 est la moins sensibles aux huiles essentielles de *M. pubescens* avec une CMI varient entre (3 et 0,38 mg/ml).

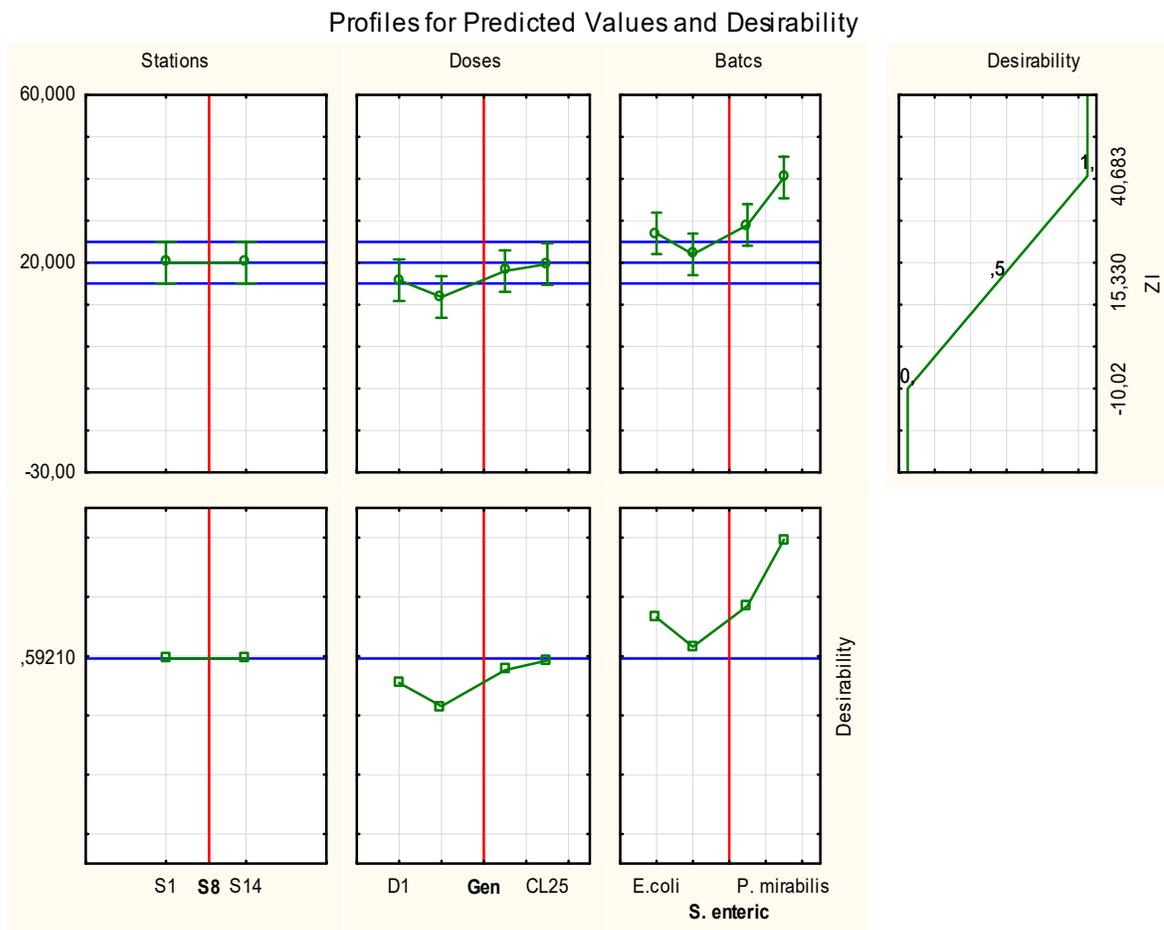
L'huile essentielle de *M. pubescens* exerce une bonne activité sur les souches *E. coli* et *K. pneumonie* (bactéries Gram négatif) et la levure *C. albicans* avec une CMI de 3 à 0,09 mg/ml).

L'huile essentielle de *M. pubescens* des populations de Djemaa et d'El Ménéa présentent une bonne activité antibactérienne sur la plupart des souches étudiées avec une CMI de (0,05-0,75 mg/ml). Par contre L'huile essentielle de la population de Beni Guecha montre une faible activité antimicrobienne sur la plupart des souches étudiées. Les huiles essentielles des populations d'El Ménéa, de Bakaar et de Djemaa ont également montré un effet antimicrobien contre *Candida albicans* avec une CMI de (0,09 et 0,05 mg/ml).

### 2-3 Test de désirabilité

Le profil de désirabilité des huiles essentielles de *M. pubescens* contre les bactéries testées avait une valeur de prédiction de 0,5921 qui pourraient être classées comme moyennement désirable (Figure 20).

Les huiles essentielles des populations de *M. pubescens* ont des valeurs égales à la valeur de prédiction. La dilution d'huile utilisée (1/1) a une activité moyenne contre les bactéries testées, avec des valeurs inférieure à la valeur prédite, alors que la Gentamicine a une valeur égale à la valeur de prédiction. Le test de désirabilité montre que les espèces bactériennes sont sensibles aux huiles de *M. pubescens*, avec des valeurs de prédiction supérieures à 0,5921.



**Figure 20:** Profil de désirabilité des huiles essentielles de *Matricaria pubescens*.

En comparant la susceptibilité des différentes souches vis-à-vis des huiles testées, nous constatons que *P. aeruginosa* est la plus résistante, cependant, *Portus mirabilis* et *S. aureus* sont les plus sensibles aux huiles testées. Ces résultats sont en accord avec les données la littérature selon les quelles les huiles essentielles de *M. pubescens* agissent de façon active sur les souches bactériennes Gram (+) et Gram (-) (Makhloufi et al., 2012 ; Mekhadmi, 2014). Bouziane et al. (2015) ont signalé la résistance des souches bactériennes Gram (+) et Gram (-) vis-à-vis de l'huile de *M. pubescens* de la région de Ghardaïa.

D'autres études montrent que les extraits aqueux, méthanolique, éthanolique et acétonique de *M. pubescens* agissent de façon active sur les souches *S. aureus* et *E. coli* (Metrouh-Amir et al., 2015). L'extrait éthanoïque de *M. pubescens* de la région d'Oued Souf donne une bonne activité antimicrobienne sur les souches *B. cereus* et *S. aureus* (Kharraz et al., 2019)

L'huile essentielle de *Matricaria chamomilla* n'a pas d'effet antibactérien sur les germes (*S. aureus*, *Salmonella typhi*, *E. coli* et *P. aeruginosa*) (Mekonnen et al., 2016). D'autres études montrent que l'huile essentielle de *Matricaria chamomilla* possède une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus sp.* et *Shigella shiga* à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* (Kazemi et al., 2014).

L'activité antibactérienne des huiles essentielles testées, peut être expliquée par la nature de la composition chimique des huiles, les groupes fonctionnels et même l'effet synergique entre les différents composés majoritaires des huiles essentielles (Abu-Darwish et al., 2000 ; Dorman et Deans, 2000; Oussalah et al., 2006).

Les huiles essentielles du même chémotype n'ont pas les mêmes effets antimicrobiens, il est probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique, additive et antagonistique (Kalemba et Kunicka, 2003 ; Lahlou, 2004 ; Wang et al., 2012 ; Felice et al., 2013). Plusieurs auteurs ont signalé l'effet synergique ou antagoniste des constituants présents en faible teneur (Burt, 2004; Ogbulie et al., 2007; Mazandarani et al., 2014; Cseke et al., 2016).

Les huiles essentielles riches en monoterpènes hydrocarbures, et les terpènes oxygénés présentent une grande activité antibactérienne contre les bactéries. Ces composants chimiques exercent leur activités sur les micro-organismes par la perturbation de l'intégrité membranaire (Razzaghi-Abyaneh et al., 2006 ; Hajji et al., 2010 ; Oyedeji et al., 2011 ; Wang et al., 2012 ; Guimaraes, 2019).

Plusieurs travaux ont signalé que les HEs contenant de l' $\alpha$ -pinène, du  $\beta$  pinène, du 4-terpinéol, de l' $\alpha$ -terpinéol et de l'oxyde de caryophyllène ont une activité antibactérienne et antifongique (Maggi et al., 2009 ; Freitas et al., 2020 ; Moo et al., 2020). En outre, des essais affirment l'importance de l'action des terpenes sur *E. coli*. Ils sont capables de détruire l'intégrité cellulaire, en inhibant la chaîne respiratoire et le processus de transport d'ions et détruisent la membrane plasmique par un processus lytique (Abi-ayad et al., 2011; Shama et al., 2011 ; Matejc et al., 2014). 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 (-). Plusieurs travaux ont décelé la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (Pintore et al., 2002; Falleh et al., 2008 ; Zomorodian et al. 2012), la grande résistance des bactéries Gram (-) est liée à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui contient une double membrane, contrairement à la structure simple de la membrane des

bactéries Gram (+) (Poole, 2001; Cimanga et al., 2002 ; Faleiro, 2011; Bouyahya et al., 2017). 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 in Guimarães et al., 2019), en accord avec nos résultats qui ont montré la grande sensibilité des souches bactériennes Gram (+) et Gram (-) aux HEs de *M.pubescens*.

La plupart des travaux montrant que la souche de *Pseudomonas aeruginosa* a toujours présenté une résistance vis-à-vis des huiles essentielles. Cette résistance en relation avec la nature de sa membrane externe composée de lipopolysaccharides, barrière imperméable aux composés hydrophobes (Mann et al., 2000 ; Delamare et al., 2007 ; Bouyahya et al., 2017). *E. coli* ATCC 25922 développe aussi une résistance vis-à-vis d'un certain nombre d'huiles essentielles (Sartoratto et al., 2004; Delamare et al., 2007; Wannissorn et al., 2005). D'autre part, cette bactérie est très sensible à d'autres huiles essentielles (Burt et Reiders, 2003 ; Bouhdid, 2005).

Les travaux de Baser et Buchbauer (2010) sur les levures, ont démontré que la formation d'un complexe entre le donneur d'électrons et l'aldéhyde des huiles essentielles induit un changement de l'état ionique de la membrane traduisant par un déséquilibre d'échange avec le milieu extérieur ce qui entraîne la mort cellulaire. Les huiles essentielles agissent sur la biomasse et la production des pseudo-mycéliums des levures alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures (Cox et al., 2000 ; Pouli, 2006 ; Bajpai et Kang, 2010). Certains Huiles essentielles peuvent inhiber la synthèse de DNA, RNA, des protéines et les polysaccharides bactériennes (Malecky, 2007).

### 3- Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles de *M. pubescens* a été évalué par le test du DPPH<sup>•</sup>. L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence. Les résultats obtenus, sont exprimés en termes de concentration inhibitrice de 50% des radicaux IC<sub>50</sub> (tableau 14 et Figure 21).

**Tableau 14 :** Activité anti-radicalaire des huiles essentielles de *M. pubescens*

Echantillons de population		IC <sub>50</sub> (mg/ml)
S1	Ben Nacer	3,323*** ± 0,052
S2	Bakaar	16,436*** ± 0,361
S3	Magrane	3,739*** ± 0,346
S4	Beni guecha	21,682*** ± 1,311
S5	Hassi khalifa	1,011 ± 0,071
S6	Mihouansa	3,790** ± 0,176
S7	El m'ghair	9,670*** ± 0,040
S8	Djamaa	1,518 ± 0,051
S9	Rasselmiad	9,050*** ± 0,665
S10	In Amounas	2,161*** ± 0,092
S11	Dabdaab	0,762 ± 0,041
S12	Oulad Slimane	36,257 *** ± 0,500
S13	Boussaâda	1,215 ± 0,354
S14	EL Menea	16,140 *** ± 0,354
as	L'acide ascorbique	3,7x10 <sup>-3</sup> ± 0,505

Les données sont fournies en tant que moyenne ± S.D. (n = 3), P≤0,05 \*\*\*

L'IC<sub>50</sub> est inversement lié à la capacité antioxydant d'une HE, il représente la concentration d'antioxydant nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH<sup>•</sup>. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante est importante.

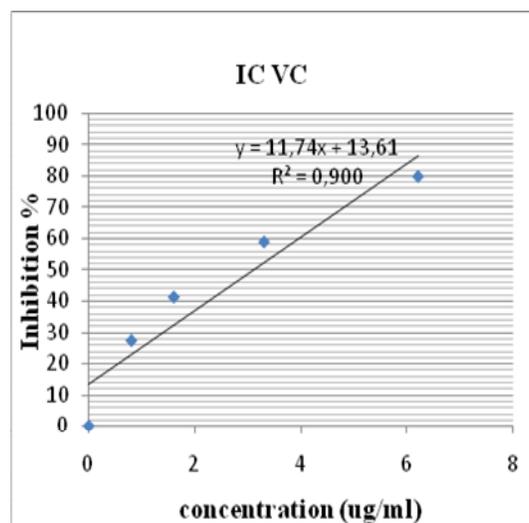
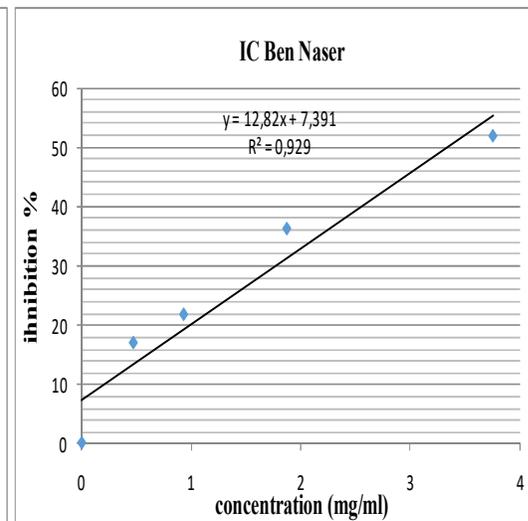
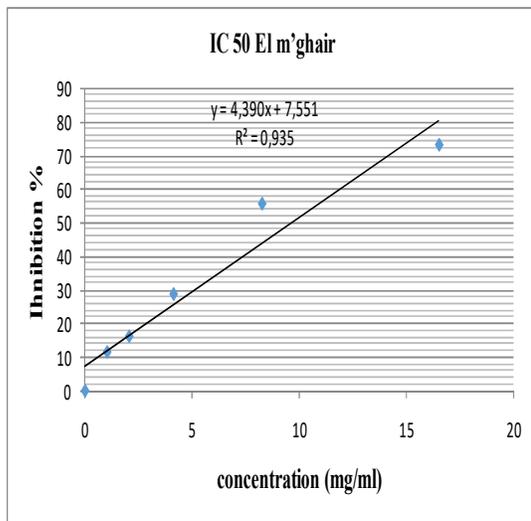
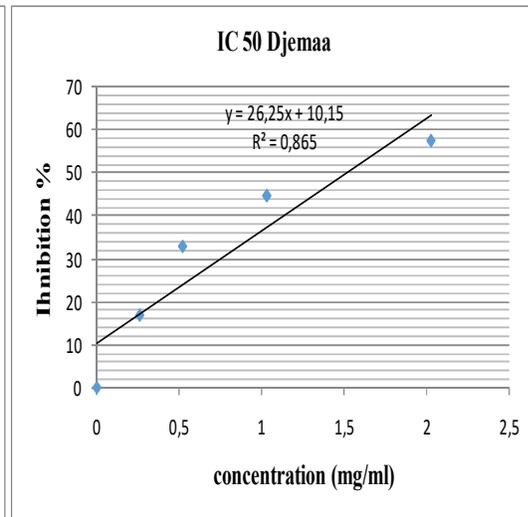
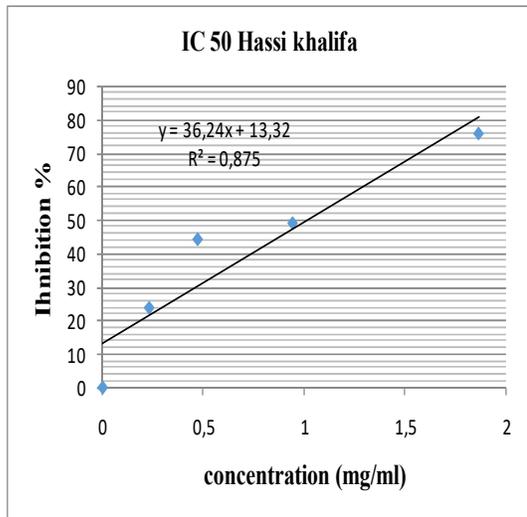
Tableau 15: Groupes d'activité anti-radicalaire aux huiles essentielles de *M. pubescens*

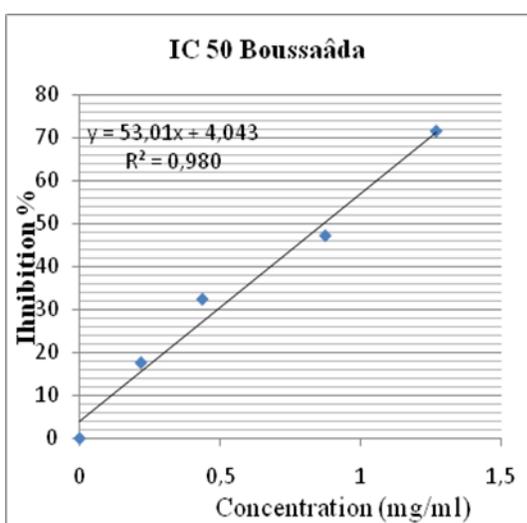
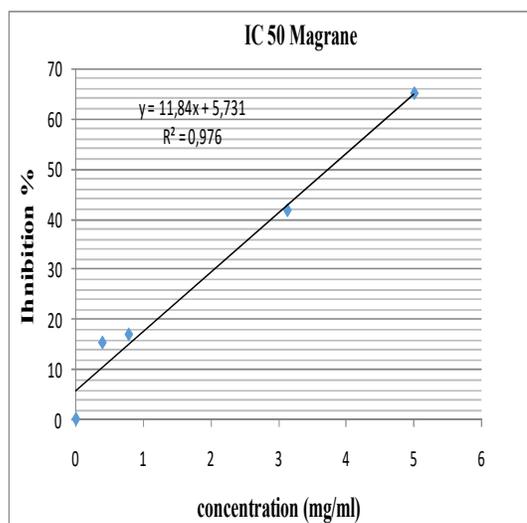
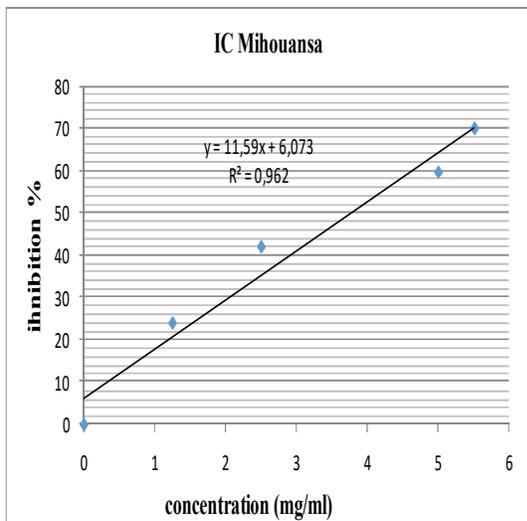
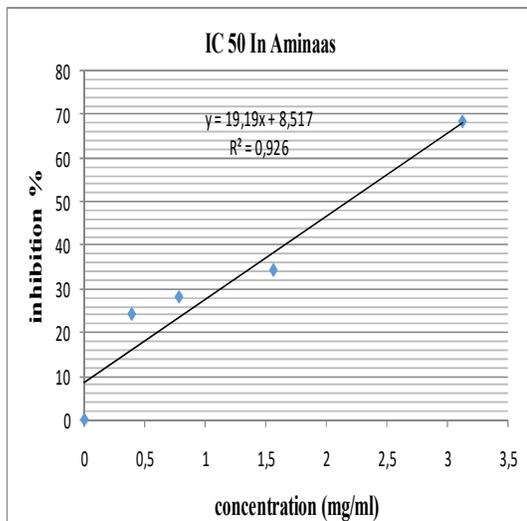
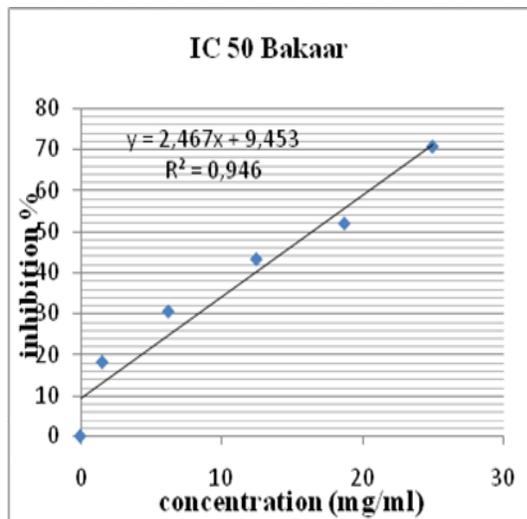
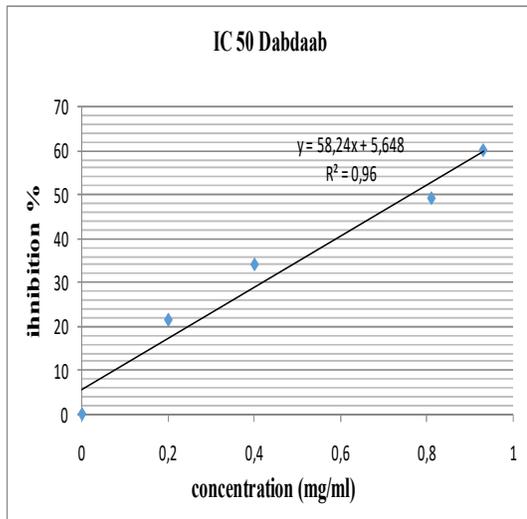
	Stations	Meynne IC <sub>50</sub>	Groupes Significatif s											
1	Oulad Slimane	36,257	A											
2	Beni guecha	21,682		B										
3	Bakaar	16,436			C									
4	EL Ménéa	16,024			C									
5	El m'ghair	12,059				D								
6	Rasselmiad	9,050					E							
7	Mihouansa	3,790						F						
8	Magrane	3,739						F						
9	Ben Nacer	3,607						F						
10	<i>In Amenas</i>	2,161							G					
12	Djamaa	1,237							G	H				
13	Boussaâda	1,215							G	H				
14	Hassi khalifa	1,011							G	H				
11	Dabdaab	0,762											H	
15	L'a.ascorbique	3,7x10 <sup>-3</sup>												H

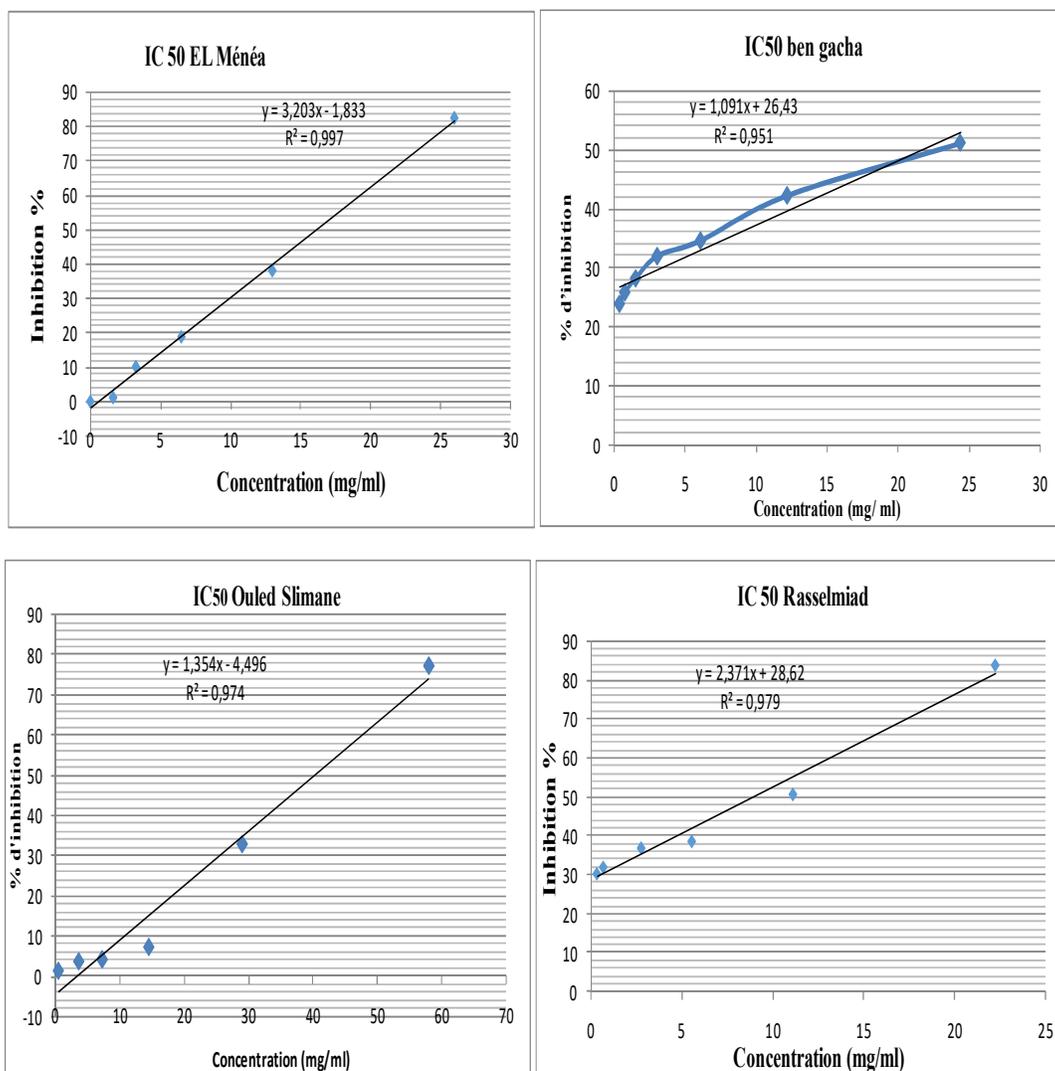
Note: LSD 0,05 = 0,452699

Les huiles essentielles de *M. pubescens* ont donné des IC<sub>50</sub> de 0,762 mg/ml à 36,26 mg/ml. Ces valeurs sont supérieures à l'acide ascorbique 0,0037 mg/ml. Ces huiles essentielles ont montré une différence significative dans leurs capacités de piégeage du radical libre (DPPH).

Les huiles essentielles des populations de Dabdaab, Hassi Khalifa, de Boussaâda, de Djamaa ont enregistré l'activité anti-radicalaire la plus élevées avec des IC<sub>50</sub> de 0,762 ± 0,042 mg/ml, 1,011 ± 0,071 mg/ml, 1,215 ± 0,354 mg/ml et de 1,237 ± 0,051 mg/ml respectivement. Ces valeurs sont statistiquement similaires à l'acide ascorbique qui exerce un IC<sub>50</sub> de 0.0037 ± 0,505 mg/ml. Cependant les HES des populations d'Oulad Slimane et de Beni guecha étaient les moins actives avec un CI<sub>50</sub> de 36,257 ± 0,500 mg/ml et de 21,682 ± 1,311 mg/ml. Ces huiles essentielles ont montré des différences significatives dans la capacité de piégeage du radical libre par rapport l'acide ascorbique.



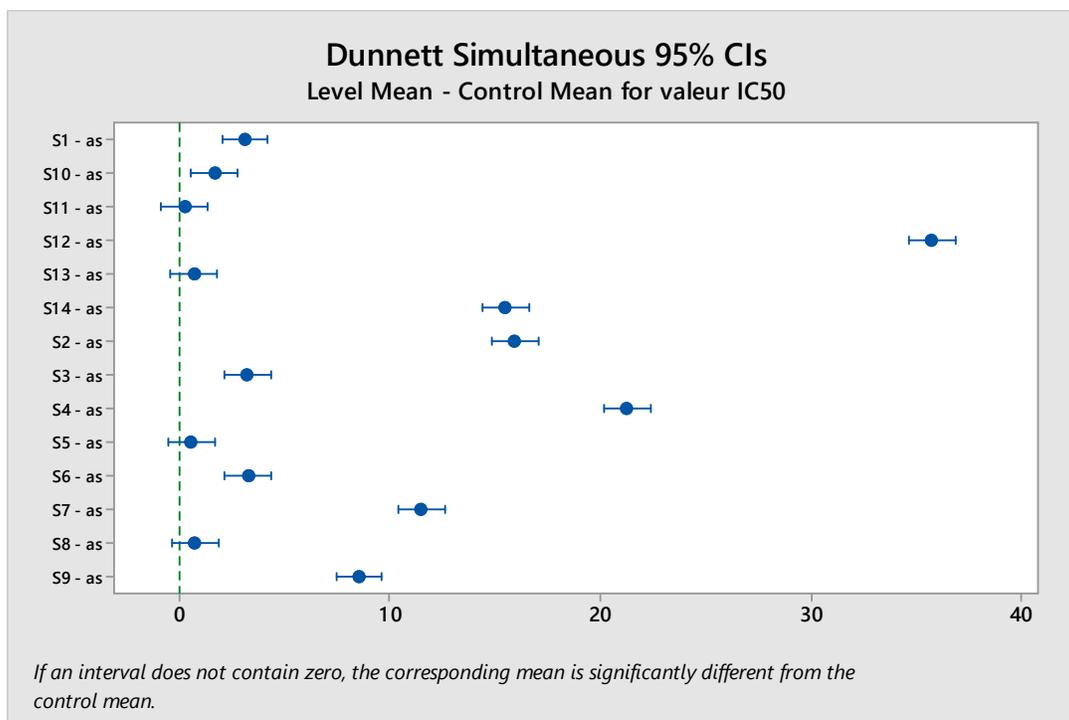




**Figure 21** : Courbes des activités antioxydants des huiles essentielles des 14 populations de *M. pubescens*

La comparaison de l'activité anti-radicalaire des huiles essentielles à celle de l'acide ascorbique (antioxydant de référence) montre que les populations de Dabdaab, Hassi Khalifa, Boussaâda, et Djamaa ont une activité presque similaire à celle de l'acide ascorbique. Alors que les huiles des populations de Mihouanssa, Ben Nacer, Magrane, In *Amenas* et Rasselmiad sont moins efficaces que l'acide ascorbique.

Les populations (El Menea, Bakaar, Beni guecha et Oulad Slimane) montrent des pouvoirs antioxydant faible en comparaison avec celle de l'antioxydant de référence (figure 22).



**Figure 22:** Activité anti radicalaire des HEs. Chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). \*\*\* $p \leq 0.05$ , comparant avec le contrôle positif (as).

Plusieurs travaux ont été réalisés sur les extraits de *M. M. pubescens* mais peu sur les huiles essentielles.

Makhloufi (2013) a montré que l'activité antioxydante des extraits aqueux et éthanoliques de *M. pubescens* est plus élevée que celle de l'huile essentielle de *M. pubescens* de Bâcher. Gherboudj (2014) a également rapporté que les extraits acétate d'éthyle et butanolique de *M. pubescens* ont des pouvoirs anti-radicalaires importants environ de  $9,79 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$  et de  $33,07 \pm 0,47 \mu\text{g/ml}$  respectivement.

L'extrait méthanolique (50%) de *M. pubescens*, récolté à Ghardaia, testé par deux méthodes DPPH et ABTS, montrent une activité antioxydante importante avec des valeurs de IC50 de 4,26 mg/ml et 14,69 mg/ml respectivement (Metrouh-Amir et al., 2015).

L'activité antioxydante, déterminée par le test DPPH, a montré que les extraits éthanoliques de *M. pubescens* ont des pouvoirs antioxydants avec un pourcentage d'inhibition de 92,2% à une concentration de 250  $\mu\text{g} / \text{ml}$  (Kherraz et al., 2019).

D'après Bouzouita et al. (2008), l'activité anti radicalaire des huiles essentielles des plantes aromatiques ont une relation directe avec leur composition chimique et notamment

avec les composées majoritaires. Cependant, l'activité antioxydante des huiles essentielles peut être due à l'activité synergique ou antagoniste des composants majoritaires et mineurs des huiles essentielles (Sing et *al.*, 2006 ; Okoh et *al.*, 2011 ; Wang et *al.*, 2014).

Les huiles essentielles riches en composés oxygénés présentent une activité antioxydante aussi forte que celles à terpènes hydrocarbonés (Demirci et *al.*, 2007; Miladi et *al.*, 2013; Hammoudi et *al.*, 2015; Toure, 2015). Les composés phénoliques jouent aussi un rôle principal dans la réduction des radicaux libres qui est attribuée à leurs groupements hydroxyles (Villano et *al.*, 2007 ; Ksouri et *al.*, 2015).

Des études antérieures ont également révélé que l'activité antioxydante des huiles essentielles peut être attribuée aux activités synergiques des composés insaturés multiformes tels que le limonène et l' $\alpha$ -pinène (Wang et *al.*, 2008 ; Wei et Shibamoto, 2007).

# CONCLUSION

## Conclusion

Ce travail s'inscrit dans le cadre des travaux de recherche du laboratoire de Valorisation des Ressources Biologiques Naturelles (Université Ferhat abbas Sétif 1), dont l'objectif d'étude est de valoriser l'activité physicochimique et biologique des huiles essentielles de *Matricaria pubescens*.

L'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne *M. pubescens* de 14 populations par hydrodistillation a fourni un rendement moyenne de  $0,4 \pm 0,27\%$  (v / w). Les résultats d'analyse des HEs, a permis d'isoler et d'identifier 34 composés. Dont les constituants majoritaires sont le  $\beta$ -ocimene (Z), l' $\alpha$ - pinene, le  $\beta$ -bulnesene, l'ocimene<allo->, le 1-Phenyl-penta-2,4-diyne, ainsi que d'autres composées présents avec de faible concentration ;

Dans cette étude 4 chimotypes sont identifiés: chimotype à  $\alpha$ -bulnesene- $\beta$ -ocimane-Z- $\alpha$ -pinene en population de Ben Nacer, chimotype riche en  $\alpha$ -pinene- $\beta$ -ocimane-Z-caryophyllene oxide qui caractérise les populations d'In Aminaas et Dabdaab. Le chemotype à  $\alpha$ -pinene- $\beta$ -ocimane-Z-1-phenyl-penta-2,4-diyne caractérise les populations de Mihouansa, Hassi Khalifa, Magrane et Bakaar et le chimotype à  $\alpha$ -pinene- $\beta$ -ocimane-Z- ocimene allo qui caractérise les populations de Beni Gacha, Oulad Slimane, El-Ménéa, Djemaa, El-Meghair, Boussada and Ras El-miaad.

Les résultats de l'activité antimicrobienne, obtenus par la méthode de diffusion des disques (aromatogramme), ont montré que la souche bactérienne *Portus mirabilis* est la plus sensible, par contre toutes les huiles testées n'ont montré aucune activité ou une faible activité contre la souche *Salmonella enterica*. Alors que ces huiles essentielles ont montré une bonne activité contre la levure *candida calbicans*. L'essai des micro-dilutions a révélé des valeurs de CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) allant de 0.093 à 3 (mg/ml). Les souches *Protus mirabilis* et *Staphylococcus aureus* sont les plus sensibles avec un CMI de l'ordre de (0.375 à 0.05mg/ml).

L'activité antioxydant des huiles essentielles est évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Le test de piégeage de radicale libre DPPH a montré que l'effet antioxydant des huiles de *M. pubescens* est moyennement faible.

**Perspectives**

Cette étude nécessite d'être complétée par un certain nombre de travaux dont on propose de:

- ❖ Faire un fractionnement de ces huiles de *M. pubescens* pour savoir les molécules responsables de ces activités biologiques.
- ❖ Évaluation de la cyto-toxicité d'HE de *M.pubescens* ainsi que l'utilisation de ces huiles comme additifs de conservation naturels dans l'industrie agro-alimentaire.
- ❖ L'étude des autres propriétés biologiques de l'HE de *M.pubescens*, à savoir les propriétés insecticides, antivirale, anti-inflammatoires et d'autres activités tant au niveau *in vitro* qu'*in vivo*.

**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

Références Bibliographiques

- Abad M J, Bedoya L M, Apaza L, Bermejo P. 2012. The *Artemisia* L. genus: a review of bioactive sesquiterpene sactones . The *Artemisia* L. genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules*, 17(3): 2542-2566.
- Abdoul-Latif F M, Mohamed N, Edou P, Ali A A, Djama SO, Obame LC, Dicko M H. 2011. Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and methanol extract of *Matricaria chamomilla* L. from Djibouti. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(9): 1512–1517.
- Abi-ayad M, Abi-ayad F Z, Lazzouni H A, Rebiahi S A. 2011. Antibacterial activity of *Pinus helepensis* essential oil from Algeria (Tlemcen), *Natural Product Research*, (1): 33-36.
- Abu-Darwish M S, Al-Ramamne E A M, Kyslychenk V S, and Karpiuk U V. 2012. The antimicrobial activity of essential oils and extracts of some medicinal plants grown in Ashshoubak region-South of Jordan Pak. *J Pharm Sci*, 25(1): 239-246.
- Adaika A, Medila I, Bouali N. 2021. Effect of the aqueous crude extract of *Matricaria pubescens*: histopathological and biochemical study on scorpion venom given rats. *Biharean Biologist*, 15(2): 1-5.
- Adams R P. 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4th Edition Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois USA.
- Ahmed A F, Shi M, Liu C, Kang W. 2019. Comparative analysis of antioxidant activities of essential oils and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Egypt and China. *Food Science and Human Wellness*, 8(1): 67-72.
- Aleksic V, Knezevic P. 2014. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, 169(4): 240-254.
- Aliyiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, and Chinou I B. 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(9) : 4168-4170.
- Amorese V, Donadu M, Usai D, Sanna A, Milia F, Pisanu F, Doria C. 2018. In vitro activity of essential oils against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from infected hip implants. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 12(11): 996-1001.
- Amssayef A, Ajebli M, Eddouks M. 2020. Antihyperglycemic Potential of *Matricaria pubescens* (Desf.) Schultz. in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Cardiovascular and Haematological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Cardiovascular and Hematological Disorders)*, 20(4): 297-304.
- Andrade M A, Cardoso M D G, Andrade J, Silva L F, Teixeira M L, Resende J M V, Figueiredo ACDS, Gonçalves BJ. 2013. Chemical composition and antioxidant activity

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- of essential oils from *Cinnamodendron dinisii* Schwacke and *Siparuna guianensis* Aublet. *Antioxidants*, 2: 384-397.
- Andre C M, Hausman J F, Guerriero G. 2016. *Cannabis sativa*: The plant of the thousand and one molecules. *Front. Plant Sci*,7:1–17.
- Aouni M, Pelen F, Soulimani R. 2013. Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie*, 11: 225-236.
- Arora D, Rani A, Sharma A. 2013. A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus *Calendula*. *Pharmacognosy Reviews*, 7(14): 179.
- Arpino P, Prévôt A, Serpinet J, Tranchant J, Vergnol A, Witier P. 1995. *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*, Masson, Paris.
- Asbahani A E, Miladi K, Badri W, Sala M, Aït Addi EH, Casabianca H, El Mousadik A, Hartmann D, Jilale A, Renaud FNR, Elaïssari A. 2015. Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483(1-2): 220-243.
- Attou A, Davenne D, Benmansour A, Lazouni H A. 2017. Chemical composition and biological activities of *Ammoides verticillata* essential oil from west Algeria. *Phytothérapie*, 15(1): 1-7.
- Bajalan I, Rouzbahani R, Ghasemi Pirbalouti A, Maggi F. 2018. Quali-quantitative variation of essential oil from Iranian rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) accessions according to environmental factors. *Journal of Essential Oil Research*, 30(1): 16-24.
- Bajpai V K, 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, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils—A review. *Food Chem. Toxicol*, 46: 446–475.
- Barba Orellana F J, Zhu Z, Koubaa M, Sant'Ana A S, Orlie V. 2016. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 49: 96-109.
- Baser K H C, Buchbauer G. 2010. *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. Ed. Taylor and Francis Group, LLC, USA, 994.
- Baser K H C, Demirci F. 2007. Chemistry of essential oils, in *Flavours and Fragrances Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*, edited by Berger RG, New York, Springer, Berlin, Germany, 43–86 p.
- Basu S. 2010. Fatty acid oxidation and isoprostanes: Oxidative strain and oxidative stress. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 82(4-6): 219-225.
- Baudoux D. 2000. *L'Aromathérapie : Se soigner par les huiles essentielles*. 1e éd. Biarritz : Atlantica, 223 p.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Beatovic D, Krstic-Milošević D, Trifunovic S, Glamoclija J, Ristic M, Jelacic S. 2015. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of twelve *Ocimum basilicum* L. cultivars grown in Serbia. *Records of Natural Products*, 9(1): 62-75.
- Benferdjallah S, Dendougui H, Garcia V P, Barrera J B, Benayache F, Benayache S. 2019. Dimeric Coumarin and Other Constituents from Flowers of *Matricaria pubescens*. *National Academy Science Letters*, 42(4): 319-321.
- Benjilali B, Zrira S, Aboukassem H. 2005. *Plantes Aromatiques et Médicinales, a tous du secteur et exigences pour une valorisation durable*. Éditions Actes, IAV Hassan II, Rabat. 346 p.
- Bentabet N, Boucherit-Otmani Z, Boucherit K. 2014. Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6): 364-371.
- Berhanu Y, Alemnesh T, Solomon T. 2016. In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *International Journal of Microbiology*, 2016: 1-8.
- Bertoncelj J, Dobersek U, Jamnik M, Golob T. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105(2): 822-828.
- Besombes C. 2008. *Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées*. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.
- Botineau M, Pelt J M. 2010. *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Ed TEC& DOC, Lavoisier, Fr, 181p.
- Bouhdid S, Idaomar M, Zhiri A, Baudoux D, Senhajiskli N, Abrini J. 2005. L'effet antibactérien in vitro de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* vis-à-vis de souches d'origines cliniques. *Nouvelles Tendances dans l'Ingénierie Biomédicale*, 11: 142-149.
- Boukhalfoun L, Kirouani A, Behidj N, Gana S. 2020. Assessment of Some Biological Activities of *Eucalyptus blakelyi* Maiden Using the Essential Oil, Methanolic and Aqueous Extracts. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(2): 266-275.
- Boukhatem M N, Ferhat A, Kameli A. 2019. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. *Revue Agrobiologia*, 9(2): 1653-1659.
- Bourkhiss M, Hnach M, Bourkhiss B, Ouhssine M, Chaouch A, Satrani B. 2009. Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters, *Productions végétales*. *Agro-solutions*, 20(1): 44-48.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boutaghane N, Kabouche A, Touzanib R, Maklad Y A, El-Azzounyb A, Bruneaud C, Kabouche Z. 2011. GC/MS Analysis and Analgesic Effect of the Essential Oil of *Matricaria pubescens* from Algeria. *Natural Product Communications*, 6(2): 251-252.
- Bouyahya A, Bakri Y, Et-Touys A, Talbaoui A, Khouchlaa A, Charfi S, Abrini J, Dakka N. 2017. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 15(6) : 1-11.
- Bouziane M, Hadj-Mahammed M, Dehak K, Oussameur N, Ksikis C, Benzaoui F, Houari A. 2016. Antioxidant and antibacterial properties of *Brocchia cinerea* (Vis.) and *Matricaria pubescens* (Desf.) ethyl acetate extracts and their fractions. *Der Pharma Chemica*, 8(17): 232-239.
- Bouziane M. 2015. Extraction et analyse de la composition chimique de plantes sahariennes d'intérêt médicinal. Thèse de Doctorat en Chimie, Université Kasdi-Merbah, Ouargla, 150- 151p.
- Bouzouita N, Kachouri F, Ben Halima M, Chaabouni MM. 2008. Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *J Soc Chim Tunis*, 10: 119-125.
- Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Goran A, Igetic R. 2008. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*, 111(4): 925–929.
- Brewer M S. 2011. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 10(4): 221-247.
- Bruneton J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> Ed. TEC et DOC, Paris, 501p.
- Bruneton J. 2016. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 5<sup>ème</sup> Ed, Tec & Doc Lavoisier, Paris, 719-776p.
- Burt S, Reinders R. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*, 36(3): 162–167.
- Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food - a review. *International journal of food microbiology*, 94(3): 223-253.
- Can O D, Ozkay U D, K1yan H T, Demirci B. 2012. Psycho-pharmacological profile of Chamomile (*Matricaria recutita* L.) essential oil in mice. *Phytomedicine*, 19(3-4): 306-310.
- Carocho M, Ferreira I. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51:15-25.
- Carson C F, Hammer K A. 2011. Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*, 25: 256- 338.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chahma A. 2006. Catalogues des plantes spontanées du Sahara septentrional algériens. Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi arides. Université D'Ouargla. Ed. Dar El Houda, 146 p.
- Chami F. 2005. Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc, 266p.
- Chatelain C, Medjahdi B, Benhouhou S S. 2018. Flore du Maghreb, une flore électronique basée sur la Nouvelle flore d'Algérie de P. Quézel et S. Santa/Flore of Magreb, an electronic flora based on the new flora of P. Quézel & S. Santa. *Ecologia mediterranea*, 44(2): 131-136.
- Cherif H S, Ferrah R, Bennacer A, Tail G, Saidi F. 2017. Traditional use of *Matricaria pubescens* (Desf.) Schultz in two regions of southern Algeria and contribution to study the antioxidant activity. *Indian journal Traditional Knowledge*, 16 (4): 562-567
- Chouikh A, Mayache B, Maazi M C, Hadeif Y, Chefrou A. 2015. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils in Xerophytic plant *Cotula cinerea* Del (Asteraceae) during two stages of development: flowering and fruiting. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(03): 29-34.
- Colak N, Inceer H, Gruz J, Strnad M, Hayirlioglu-Ayaz S, AksuKalmuk N, Ahmet Ayaz F. 2017. Antioxidant Capacity of phenolics in some representatives of the tribe anthemideae (Asteraceae) from Turkey. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(8): 3265-3277.
- Cimanga K, Kambu K, Tona, L, Apers, S, De Bruyne T, Hermans N, Vlietinck A J. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of ethnopharmacology*, 79(2) : 213-220.
- Comité français de la Pharmacopée « Plantes médicinales et huiles essentielles ».2014. [https://ansm.sante.fr/var/ansm\\_site/storage/original/application/c0085a65bb75c11555a6aa91ccc4c750.pdf](https://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/c0085a65bb75c11555a6aa91ccc4c750.pdf)
- Cosentino S, Tuberoso C I G, Pisano B, Satta M, Mascia V, Arzedi E, Palmas F. 1999. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett Appl Microbiol*, 29(2): 130-5. 116.
- Costa P, Medronho B, Gonçalves S, Romano A. 2015. Cyclodextrins enhance the antioxidant activity of essential oils from three Lamiaceae species. *Industrial Crops and Products*, 70 : 341-346.
- Couic-Marinier F, Lobstein A. 2013. Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, Elsevier, Masson, 52(525): 22-25.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Couic-Marinier F. 2018. Les huiles essentielles en pratique, administration et précautions d'emploi. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(580): 26-29.
- Cox S D, Mann C M, Markham JL, Bell H C, Gustafson J E, Warmington J R, Wyllie S G. 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1):170-175.
- Cristiani M, D'arrigo M, Mandalari G, Castelli f, Sarpietro MG, Micieli D. 2007. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 6300-6308.
- Croteau R, Kutchan T M, Lewis N G. 2000. Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24: 1250-1319.
- Cseke, L J, Kirakosyan A, Kaufman P B, Warber S, Duke J A, Briemann H L. 2016. Natural products from plants. 2<sup>ème</sup> Ed, CRC Taylor & Francis Groups, 10- 19p.
- Davis T S., Horne F B., Yetter J C, et Stewart J E. 2018. Engelmann spruce chemotypes in Colorado and their effects on symbiotic fungi associated with the North American spruce beetle. *Journal of chemical ecology*, 44(6): 601-610.
- De Billerbeck K V G, Roques C, Vanière P, Marquier P. 2002. Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiène*, 10 (3): 248-251.
- De Sousa D P. 2012. Medicinal Essential Oils: Chemical, Pharmacological and Therapeutic Aspects. Nova Science Publishers. 1<sup>ère</sup> Ed. 236p.
- Delamare A P L, Ivete A, Luciana A S, Sergio E. 2007. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in south Brazil. *Food Chemistry*, 100(2): 603-608.
- Demirci B, Kosar M, Demirci F, Dinç M, Baser KHC. 2007. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. *Food Chem*, 105(4): 1512-1517.
- Djellouli M, Moussaoui A, Benmehdi H, Ziane L, Belabbes A, Badraoui M, Slimani N, Hamidi N. 2013. Ethno pharmacological Study and Phytochemical Screening of Three Plants (*Asteraceae* Family) From The Region of South West Algeria. *Asian Journal of Natural & Applied Sciences*, 2(2): 62-64.
- Dorman H J D, Deans S G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*; 88(2): 308-316.
- Ducombs G. 2012. Lactones Sesquiterpéniques-Mix: La Vie d'un Allergène. *Progrès en dermato-allergologie*, Besançon, 18: 67.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Duraffourd C, D'Hervicourt L, Lapraz J C. 1990. Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris, 87 p.
- El Bazaoui A, Stambouli H, Bellimam M A, Soulaymani A. 2009. Détermination des alcaloïdes tropaniques des graines du *Datura stramonium* L. par CPG/SM et CL/SM. *Journal of Annales de toxicologie analytique*, 21(4): 183-188.
- Elbali W, Djouahri A, Djerrad Z, Saka B, Aberrane S, Sabaou N, Boudarene L. 2018. Chemical variability and biological activities of *Marrubium vulgare* L. essential oil, depending on geographic variation and environmental factors. *Journal of Essential Oil Research*, 30(6) : 470-487.
- Eruygur N, Koçyiğit U M, Taslimi P, Ataş, M E, Tekin, M, Gülçin İ. 2019. Screening the in vitro antioxidant, antimicrobial, anticholinesterase, antidiabetic activities of endemic *Achillea cucullata* (*Asteraceae*) ethanol extract. *South African Journal of Botany*, 120:141-145.
- Fabri, R L, Nogueira M S, Braga F G, Coimbra E S, Scio E. 2009. *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial and antioxidant effects. *Bioresource Technology*, 100(1): 428-433.
- Faleiro M L. 2011. The mode of antibacterial action of essential oils. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Méndez-Vilas A (Ed): 1143–1156.
- Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C. 2008. Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. Organs and their *Biological Activities*. *C. R. Biologies*, 331(5): 372-379.
- Fauchère J L, Avril J L. 2002. *Bactériologie générale et médicale*. Ellipses Editions Paris, 365p.
- Faucon M. 2012. *Traité d'aromathérapie scientifique et médicale*. Sang de la terre, 880p.
- Felice S, Filomena ES, Orazio TS, Graziana R, Massimo Z, Enrica DF. 2013. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of anethole-rich oil from leaves of selected varieties of fennel *Foeniculum vulgare* Mill. ssp. *vulgare* var. *azoricum* (Mill.) Thell]. *Fitoterapia*, 90: 214-219.
- Fernandez X, Chemat F. 2012. *La chimie des huiles essentielles*. Ed Vuibert, 288p.
- Franchomme P, Pénéol D. 2001. *L'aromathérapie exactement*. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois, 445p.
- Freitas P R, de- Araújo A C J, Dos Santos Barbosa, C R, Muniz, D F, Da Silva A C A, Rocha, J E, Coutinho H D M. 2020. GC-MS-FID and potentiation of the antibiotic activity of

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- the essential oil of *Baccharis reticulata* (ruiz & pav.) pers. and  $\alpha$ -pinene. *Industrial Crops and Products*, 145: 112106.
- Gaspar F, Leeke G. 2004. Essential oil from *Origanum vulgare* L. ssp. *Virens* (Hoffm. et Link) letsvaart: content, composition and distribution within the bracts. *Journal of essential oil research*, 16(2): 82-84.
- Ghafoor K, Al Juhaimi F, Özcan M M, Uslu N, Babiker E E, Ahmed, I A M. 2020. Total phenolics, total carotenoids, individual phenolics and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) rhizome as affected by drying methods. *Journal of Ethnopharmacology*, 126 : 109354.
- Ghedira K, Goetz P, Le Jeune R. 2009. *Matricaria recutita* L. Rauschert (*Asteraceae*) Camomille allemande, matricaire. *Phytothérapie*, 7(6): 316- 322.
- Gherboudj N, Benkiki E, Seguin F, Tillequin N, Kabouche Z. 2012. Components of *Matricaria pubescens* from Algerian septentrional Sahara. *Chemistry of Natural Compounds*, 48(3): 470-471.
- Gherboudj O. 2014. Étude phytochimique et activité antioxydante de *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip. et *Chrysanthemum deserticum* Batt. &Trab. (*Asteraceae*), Thèse Doctorat, chimie, Université Constantine, 215p.
- Granger R, Passet J, Lamy J. 1975. Sur les essences dites de " Marjolaine " Riv. Ital. *Essenza Profumi Plante Officinal Aromi Saponi Cosmetici. Aerosol*, 57(8): 199-208.
- Graziose R, Lila M A, Raskin I. 2010. Merging traditional Chinese medicine with modern drug discovery technologies to find novel drugs and functional foods. *Current drug discovery technologies*, 7 (1): 2-1
- Guimarães A C, Meireles L M, Lemos M F, Guimarães M C C, Endringer D C, Fronza M, Scherer R. 2019. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*, 24(13): 2471.
- Gülçin İ, Büyükkuroğlu, M E, Oktay M, Küfrevioğlu O I. 2003. Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* arn. subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe. *J. Ethnopharmacol*, 86(1): 51-58.
- Gurnani N, Gupta M, Mehta D, Mehta B K. 2016. Chemical composition, total phenolic and flavonoid contents, and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of crude extracts from red chilli seeds (*Capsicum frutescens* L.). *Journal of Taibah University for Science*, 10(4) : 462-470.
- Haddouchi F, Benmansour A. 2008. Huiles essentielles, utilisation et activités biologiques Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoires* 3(8) : 20-27.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hajji M, arraya R, Lassoued I, Masmoudi O, Damak M, Nasri M. 2010. GC/MS and LC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts from *Mirabilis jalapa* tubers. *Process Biochemistry*, 45(9): 1486-1493.
- Hammer K A, Carson C F. 2011. Antibacterial and antifungal activities of essential oils. In: Thormar, H. (Ed.), *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*. John Wiley & Sons, Ltd, UK, 255–306 pp.
- Hammoudi R, Dehak K, Hadj Mahammed M, 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.
- Hedges LM, Wilkins C L. 1991. Component analysis of Eucalyptus oil by gas chromatography-fourier transform-infrared spectrometry-mass spectrometry. *Journal of Chromatography Science*. 29(8): 345-350.
- Herent M F, De Bie V, Tilquin B. 2007. Determination of new retention indices for quick identification of essential oils compounds. *J. pharm. Biomed. Anal.* 435(3): 886-892.
- heydrova, A. 2020. Taxonomic composition and life forms of the family *Asteraceae* spreading in daridagh massif area. *Bullentin of sience and practice*, 6(6): 68-72.
- Hulin V, Mathot AG, Mafart P, Dufossé L. 1998. Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sciences des aliments*, 18(6): 563-582.
- Hyldgaard M, Mygind T, Meyer R L. 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3: 1-24.
- Ifedibalu Chukwu E I, Aparoop D, Kamaruz Z. 2020. Antidiabetic, anthelmintic and antioxidation properties of novel and new phytochemicals isolated from the methanolic stem-bark of *Vernonia amygdalina* Delile (*Asteraceae*). *Scientific African*, 10: e00578.
- Inceer H, Ozcan M. 2011. Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 18 taxa of *Matricaria* L. and *Tripleurospermum* Sch. Bip.(Anthemideae-Asteraceae) in Turkey. *Plant Systematics and Evolution*, 296(3): 205-215.
- Inceer H, Ozcan M. 2021. Taxonomic evaluations on the anatomical characters of leaf and achene in Turkish *Tripleurospermum* with its relative *Matricaria* (*Asteraceae*). *Flora*, 275: 151759.
- Jack A R, Norris P L, Storrs F J. 2013. Allergic contact dermatitis to plant extracts incosmetics. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*, 32: 140-46.
- Jamalian A, Shams-Ghahfarokhi M, Jaimand K, Pashootan N, Amani A, Razzaghi Abyaneh M. 2012. Chemical composition and antifungal activity of *Matricaria recutita* flower

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- essential oil against medically important dermatophytes and soil-borne pathogens. *Journal de Mycologie Médicale*, 22(4): 308-315.
- Jayasena D D, Jo C. 2014. Potential application of essential oils as natural antioxidants in meat and meat products: a review. *Food reviews international*, 30(1): 71-90.
- Jouault S. 2012. La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de doctorat d'état en pharmacie, Université de Lorraine, Faculté de pharmacie. France, 137p.
- Kalembe D, Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr.Med.Chem*, 10(10): 813-829.
- Kaloustian J, Hadji-Minaglou F. 2012. Contrôles chromatographiques. In: La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie. Collection Phytothérapie pratique. Springer, 39-81p.
- Kazemi M. 2014. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Matricaria chamomilla*, *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 3(2): 148–153.
- Kazemi M. 2015. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Matricaria recutita*. *International Journal of Food Properties*, 18: 1784–1792.
- Kherraz K, Chouikh A, Chefrour A, Ghemam Amara D. 2019. Estimation of total phenolic and flavonoids content and anti-free radical scavenger, antibacterial and antifungal activities of extract of *Matricaria pubescens* (desf.) Sch. Bip. collected from south east of Algeria. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie Original Paper*, 26(1): 38-42.
- KouaméBi K F P. 2012.- Valorisation de quatre plantes médicinales Ivoiriennes : étude phytochimique. Thèse de doctorat, chimie organique, Université de Nantes et de l'Université de Cocody-Abidjan, 180p.
- Koubaa M, Mhemdi H, Barba F J, Roohinejad S, Greiner R, Vorobiev E. 2016. Oil seed treatment by ultrasounds and microwaves to improve oil yield and quality: An overview. *Food Research International*, 85: 59-66.
- Ksouri A, Dob T, Belkebir A, Krimat S, 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.
- Kubeczka K H, Formáček V. 1982. Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy, 2<sup>Éd</sup>, Completely Revised, Edition, published by Wiley, 460 pp.
- Kumar S, Pandey A K. 2013. Chemistry and biological activities of Flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 2013: 1-16.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Kurkin, V. A. 2003. Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural analysis, and biological activity. *Chemistry of natural compounds*, 39(2): 123-153.
- Lahlou M. 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18(6): 435-448.
- Larbi B A M, Naima B, Elsharkawy E R, Salah N. 2018. Phytochemical Characterization, In-Vitro Cytotoxic and Antibacterial Activity of *Cotula cinerea* (Delile) Vis Essential Oil. *Journal of Natural Remedies*, 18 (3): 1741-1749.
- Latifah-Munirah B, Himratul-Aznita WH, Mohd Zain N. 2015. Eugenol, an essential oil of clove, causes disruption to the cell wall of *Candida albicans* (ATCC 14053). *Frontiers in Life Science*, 8(3): 231-240.
- Lepoittevin J P, Berl V, Giménez-Arnau E. 2012. Lactones sesquiterpéniques: une réactivité peut en cacher une autre. *Progress en dermato-allergologie: Besançon*, 18-49p.
- Li Y, Fabiano-Tixier A S, Chemat F. 2014. *Essential Oils as Reagents in Green Chemistry*. 1ère Ed, Springer Cham Heidelberg, New York, Dordrecht, London, 71p.
- Ljiljana S P, Marjanovic-Balaban Z R, Kalaba V D, Stanojevic J S, Cvetkovic D J. 2016. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of chamomile flowers essential oil (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of essential oil bearing plants*, 19(8): 2017-2028.
- Maggi F, Cecchini C, Cresci A, Coman MM, Tirillini B, Sagratini G, Papa F. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Ferula glauca* L. (*F. communis* L. subsp. *glauca*) growing in Marche (central Italy). *Fitoterapia*, 80(1): 68-72.
- Maiza K, Brac de la Perrière RA, Hammiche V. 1993. *Pharmacopée traditionnelle saharienne: Sahara septentrional. Médicaments et Aliments. L'Approche Ethno pharmacologique*, 169-171p.
- Maiza K, Hammiche V, Maiza F. 2011. Traditional medicine in north Sahara. *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines*, 16(1): 551-560.
- Makhloufi A, Ben larbi L, Moussaoui A, Lazouni H A, Romane A, Wannerd J, Schmidte E, Jirovetze L, Höferle M. 2015. Chemical composition and antifungal activity of *Aaronsohnia pubescens* essential oil from Algeria. *Journal of Natural Product Communications*, 10(1): 149-151.
- Makhloufi A, Moussaoui A, Lazouni HA. 2012. Antibacterial activities of essential oil and crude extracts from *Matricaria pubescens* (Desf.) growing wild in Bechar, Southwest of Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(16): 3124-3128.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 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.
- Malecky M. 2007. Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat en agronomie, Institut national agronomique Paris, 30-35 p.
- Malti C E W. 2019. Etude des activités biologiques et de la composition chimique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques d'Algérie: *Pituranthos scoparius* (Guezzah), *Santolina africana* (EL Djouada) et *Cymbopogon schoenanthus* (El Lemad). These de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen,34p.
- Mann C M, Cox S D and Markham J L. 2000. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributrs to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). Lett. Appl. Microbiol, 30(4): 294-297.
- Manssouri M, Znini M, El Ouadi Y, Ansari A, Costa J, Majidi L. 2020a. Essential Oil of *Aaronsohnia Pubescens* Subsp. *Pubescens* as Novel Eco-Friendly Inhibitor for Mild Steel in 1.0 M HCl. Anal Bioanal Electroche,12(6): 841-856.
- Manssouri M, Ansari A, Laghchimi A, Znini M, Majidi L, Costa J. 2020b. Phytochemical analysis and comparative study of volatile compounds of *Aaronsohnia pubescens* subsp. *pubescens* aerial parts using hydrodistillation and headspace solid-phase micro-extraction (HS-SPME). J. Mater. Environ. Sci., 11(10): 1574-1583.
- Manssouri M, Lakbaibi Z, Znini M, El Ouadi Y, Jaafar A, Majidi L. 2020c. Impact of *Aaronsohnia pubescens* Essential Oil to Prevent against the Corrosion of Mild Steel in 1.0 M HCl: Experimental and Computational Modeling Studies. J Fail. Anal. And Preven, 1-15.
- Marie D, Dejan B, Quetin-Leclercq J. 2007. GC-MS analysis of the leaf essential oil of *Ipomea pes-caprea*, a traditional herbal medicine in Mauritius. Nat. Prod. Comm., 2(12): 1225-1228.
- Marxen K, Vanselow K H, Lippemeir S, Hintze R, Ruser A, Hansen U P. 2007. Determination of DPPH Radical Oxidation caused by Methanolic Extracts of some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements, Sensors, 7(10): 2080 -2095.
- Mazandarani M, Ghafourian M, 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.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Mekonnen A, Yitayew B, Tesema A, Taddese S, Tesema A. 2016. In Vitro antimicrobial activity of essential oil of *thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. International Journal of Microbiology, 2016: 1-8.
- Metrouh-Amir H, Duarte C M, Maiza F. 2015. Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. Industrial Crops and Products, 67: 249–256.
- Miladi H, Ben Slama R, Mili D, Zouari S, Bakhrouf A, Ammar E. 2013. Chemical composition and cytotoxic and antioxidant activities of *Satureja montana* L. Essential oil and its antibacterial potential against *Salmonella* spp. Strains. Journal of Chemistry, 2013: 9-18.
- Miraj S, Alesaeidi S. 2016. A systematic review study of therapeutic effects of *Matricaria recuitta* chamomile (chamomile). J. Electronic Physician, 8(9): 3024-3031.
- Moghaddam M, Mehdizadeh L. 2017. Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents. In Soft chemistry and food fermentation, Handbook of Food Bioengineering, 3: 379-419.
- Moghaddam M, Omidbiagi R, Sefidkon F. 2007. Changes in content and chemical composition of *Tagetes minuta* oil at various harvest times. Journal of Essential Oil Research, 19(1): 18- 20.
- Mollaei S, Ebadi M, Hazrati S, Habibi B, Gholami F, Sourestani, M M. 2020. Essential oil variation and antioxidant capacity of *Mentha pulegium* populations and their relation to ecological factors. Biochemical Systematics and Ecology, 91: 104084.
- Moo C L., Yang S K, Osman M A, Yuswan M H, Loh J Y, Lim WM, Lai K S. 2020. Antibacterial Activity and Mode of Action of  $\beta$ -caryophyllene on *Bacillus cereus*. Polish journal of microbiology, 69(1): 49–54.
- Moreira-Munoz A. 2007. The Austral floristic realm revisited. Journal of Biogeography. J. Biogeogr, 34: 1649–1660.
- Najafian S. 2014. Storage conditions affect the essential oil composition of cultivated Balm Mint Herb (*Lamiaceae*) in Iran. Industrial Crops and Products, 52 : 575-581.
- Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. Pharmaceuticals, 6(12): 1451-1474.
- Nile S H, Nile A S, Keum Y S. 2017. Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods. 3 Biotech, 7(1): 1-10.
- NIST. 2002. Mass spectral search program for the NIST/EPA/NIH mass spectral library, vers. 2.0. fiveash data. USA.RP

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ogbulie JN, Ogueke C C, Okoli I C, Anyanwu B N. 2007. Antibacterial Activities and Toxicological Potentials of Crude Ethanolic Extracts of *Euphorbia hirta*. Afr J Biotechnol, 6(13): 1544-1548.
- Okoh O O, Sadimenko A P, Afolayan AJ. 2011. Antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained by hydro-distillation and solvent free microwave extraction. African Journal of Biotechnology, 10(20): 4207-4211.
- Ould El Hadj D M, Hadj-Mahammed M, Zabeirou H. 2003. Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla. Courrier du Savoir, 3: 47- 51.
- Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. 2006. Antimicrobial activity of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. Meat Science, 73(2): 236-244.
- Oussou KR, Youlou S, Kanko C, Guessennnd KN, Boti JB, Ahibo C, Casanova J. 2008. Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. European Journal of Scientific Reaserch, 1: 94-103.
- Oyedeji O, Oziegbe M, Taiwo FO. 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.
- Ozenda P. 1977. Flore du Sahara. Edition CNRS. Paris.
- Pandey MM, Rastogi S, Rawat A K S. 2013. Indian traditional ayurvedic system of medicine and nutritional supplementation. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013: 1-12.
- Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romero A, Flerlage N, Burillo J, Codina C. 2002. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled mediterranean herbs and Aromatic. Agric Food Chem, 50(23): 6882-6890.
- Pauli A. 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. International Journal of Aromatherapy, 11: 126-133
- Pauli A. 2006.  $\alpha$ -Bisabolol from Chamomile a specific ergosterol biosynthesis inhibitor. International Journal of Aromatherapy, 16(1): 21–25.
- Pearson DA, Schmitz HH, Lazarus SA, Keen CL. 2001. Inhibition of in vitro low density lipoprotein oxidation by oligomeric procyanidins present in chocolate and cocoas. Method. Enzymol, 335: 350-60
- Pintore G, Usai M, Bradesi P, Juliano C, Boatto G, Tomi F, Chessa M, Cerri R, Casanova J. 2002. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. Oils from Sardinia and Corsica. Flavour Frag J, 17(1): 15-19.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Piochon M, Legault J, Pichette A. 2010. Chemical composition of the essential oil from *Solidago puberula* Nutt. growing wild in the North of Quebec. *Journal of Essential Oil Research*, 22(3) : 228-229.
- Poole K. 2001. Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Curr. Opin. Microbiol*, 4(5): 500-508.
- Pramila R, Padmavathy K, Ramesh KV, Mahalakshmi K. 2012. *Brevibacillus parabrevis*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas citronellolis*-Potential candidates for biodegradation of low density polyethylene (LDPE). *African Journal of Bacteriology Research Abbreviation*, 4(1): 9-14.
- Quezel F, Santa S. (1962-1963). *Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Vol. 1-2. Ed. CNRS, Paris France.
- Raal A, Kaur H, Orav A, Arak E, Kailas T, Mürisepp M. 2011. Content and composition of essential oils in some *Asteraceae* species. *Proc. Estonian Acad. Sci.* 60(1): 55-63.
- Rahimmalek M, Heidari E F, Ehtemam M H, Mohammadi S. 2017. Essential oil variation in Iranian Ajowan *Trachyspermum ammi* L. Sprague populations collected from different geographical regions in relation to climatic factors. *Industrial Crops and Products*, 95: 591-598.
- Rashid C A, Qureshi M Z, Raza S A, William J, Arshad M. 2010. Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*, *Analele University București - Chimie*, 19(1): 23-30.
- Razzaghi-Abyaneh M., Shams-Ghahfarokhi M, Kawachi, M, Eslamifar A, Schmidt O J, Schmidt A, Yoshinari T. 2006. Ultra structural evidences of growth inhibitory effects of a novel biocide, Akacids(plus), on an aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus*. *Toxicon* 48(8): 1075-1082.
- Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Pharmacopée européenne : Huiles essentielles - Aetherolea (01/2008 :2098). <https://www.antafirma.fr/img/afssaps.pdf>.
- Reyes-Betancort JA, Scholz S, Arencibia MCL. 2003. About the presence of the Moroccan endemic *Aaronsohnia pubescens* subsp. maroccana in the Canary Islands (Anthemidae, Asteraceae). *Vieraea*, 31: 233-236.
- Reyes-Jurado F, Franco-Vega A, Ramírez-Corona N, Palou E, López-Malo A. 2015. Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. *Food Engineering Reviews*, 7(3): 275-297.
- Ribeiro J S, Santos M J M C, Silva L K R, Pereira L C L, Santos I A, Da Silva Lannes S C, Da Silva M V. 2019. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. *Meat Science*, 148: 181-188.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Robya M H H, Sarhana M A, Selima K A H, Khalel I K. 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Ind. Crops Prod.*, 44: 437-445
- Rojas J, Buitrago A. 2015. Essential oils and their products as antimicrobial agents: Progress and prospects. *Therapeutic Medicinal Plants From Lab to Mark*: 253-278.
- Roosta R A, Moghaddasi R, Hosseini S S. 2017. Export target markets of medicinal and aromatic plants. *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants*, 7: 84-88.
- Ruberto G, Baratta MT. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*. 69(2): 167-174.
- Rubiolo P, Sgorbini B, Liberto E, Cordero C, Bicchi C. 2010, Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. *Flavour and fragrance journal*, 25(5): 282– 290.
- Rudramurthy G R, Swamy M K, Sinniah U R, Ghasenzadeh A. 2016. Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, 21(7):7-8.
- Sagdaç O. 2003. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm.-Wiss. U-Technol*, 36(5): 467 - 473.
- Samarth R M, Samarth M, Matsumoto Y. 2017. Medicinally important aromatic plants with radioprotective activity. *Future science OA*, 3(4): 1-26.
- Sartoratto A, Machado A L M, Delarmelina C, Figueira G M, Cristina M, Duarte T and Rehder V L G. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(4): 275-280.
- Scherer R, Godoy HT. 2009. Antioxydant Activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3): 654-658.
- Serba C. 2015. Nouvelles approches vers les lactones sesquiterpéniques. Thèse de Doctorats, université de Strasbourg, 25-43p.
- Shaaban H A E, El-ghorab A H, Shibamoto T. 2012. Bioactivity of essential oil and their volatile aroma components: Review. *The journal of Essential Oil Research*, 24(2): 203-212.
- 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.
- Sharifi-Rada M, Nazarukb J, Politoc L, Morais-Bragad M F B, Rochad J E, Coutinhod H D M, Salehie B, Tabanellig G, Montanarig C, Del Mar Contrerash M, Yousafi Z, Setzerj W N, Vermak R D, Martorelll M, Suredam A, Sharifi-Rada J. 2018. *Matricaria* genus

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- as a source of antimicrobial agents: From farm to pharmacy and food applications. *Microbiological Research*, 215: 76–88.
- Shebis, Y, Iluz D, Kinel-Tahan Y, Dubinsky Z, Yehoshua Y. 2013. Natural antioxidants: function and sources. *Food and Nutrition Sciences*, 4(6): 643-649.
- Shoib A B, Shahid A M. 2015. Determination of total phenolic and flavonoid content, antimicrobial and antioxidant activity of a root extract of *Arisaema jacquemontii* Blume. *J Taibah Univ Sci*, 9: 449–454.
- Shojaee-Aliabadi S, Hosseini H, Mohammadifar M A, Mohammadi A, Ghasemlou M, Ojagh S M, Khaksar R. 2013. Characterization of antioxidant-antimicrobial κ-carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *International journal of biological macromolecules*, 52: 116-124.
- Silou T, Rocquelin G, Mouragadja I, Gallon G. 2002. Chemical composition and nutritional characteristics of safou of Cameroon, the Congo-Brazzaville, the CongoKinshasa and Osipova, EA. Anatomical and morphological peculiarities of *Helichrysum italicum* (Roth) Guss with its containing essential oils. *Botanichnyi Zhurnal*, 56: 1499- 1511.
- Silva N C C, Barbosa L, Seito L N, Fernandes Junior A. 2012. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. *Natural Product Research*, 26(16): 1510-1514.
- Sing G, Marimuthu P, de Heluani CS, Catalan CAN. 2006. Antioxidant and biocidal activities of *Carum nigrum* (Seed) essential oil, oleoresin, and their selected components. *J Agric Food Chem*, 54 (1):174-181.
- Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett Appl Microbiol*. 26(2): 118-122.
- Soilhi Z, Rhimi A, Heuskin S, Fauconnier M L, Mekki M. 2019. Essential oil chemical diversity of Tunisian *Mentha spp.* collection. *Industrial Crops and Products*, 131: 330-340.
- Soković M, Glamočlija J, Marin P D, Brkić D, Van Griensven L J. 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*, 15(11): 7532-7546
- Solórzano-Santos F, Miranda-Navales MG. 2012. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion Biotechnology*, 23(2): 136-141.
- Souza EL, Guerr NB, Stamford TLM. Lima EO, 2006. Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm*, 87(1): 22-25.
- Stanojevic L P, Marjanovic-Balaban Z R, Kalaba V D, Stanojevic J S, Cvetkovic D J. 2016. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of chamomile flowers

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- essential oil (*Matricaria chamomilla* L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants, 19(8): 2017-2028.
- Stefanakis MK, Touloupakis E, Anastasopoulos E, Ghanotakis D, Katerinopoulos HE, Makridis P. 2013. Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum*. Food Control, 34(2): 539-546.
- Swamy M K, Akhtar M S, Sinniah U R. 2016. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: An updated review. Evid. Based Complementary Alternative Medicine, 2016: 1-21.
- Tadrent W, Kabouche A, Touzani R, Kabouche Z. 2016. Chemotypes investigation of essential oils of Chamomile herb, J. Mater. Environ. Sci. 7(4): 1229-1235.
- Talbaoui A, Jamaly N, Aneb M. 2012. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. Journal of Medicinal Plants Research, 6: 4593-4600.
- Teixeira B, Marques A, Ramos C. 2013. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. Industrial Crops and Products. 43: 587-595.
- Tisserand R, Young R. 2013. Essential oil safety -book: A guide for health care professionals. 2eme Ed. Elsevier, 5- 7p.
- Tolouee M, Alinezhad S, Saberi R, Eslamifar A, Zad SJ, Jaimand K, Razzaghi-Abyaneh M. 2010. Effect of *Matricaria chamomilla* L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* van Tieghem. International Journal of Food Microbiology, 139(3): 127–133.
- Tomi F, Bradesi P, Bighelli A, Casanova J. 1995. Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. J. Magn. Reson. Anal, 1: 25-34.
- 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 Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire, French. 154p.
- Valles, J, Garnatje, T, Garcia S, Sanz M, Korobkov A A. 2005. Chromosome numbers in the tribes Anthemideae and Inuleae (Asteraceae). Botanical Journal of the Linnean Society, 148(1): 77-85.
- Vigan M, 2010. Essential oils: renewal of interest and toxicity. Eur. J. Derm, 20 (6): 685–692.
- Villano D, Fernandez-Pachon M S, Moya M L, Troncoso A M, Garcia-Parrilla M C. 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. Talanta, 71(1): 230-235.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, & Pérez-Álvarez J A. 2010. Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf life of mortadella. *Meat science*, 85(3): 568-576.
- Wang G W, Qin J J, Cheng X R, Shen Y H, Shan L, Jin H Z, et Zhang W D. 2014. *Inula* sesquiterpenoids: structural diversity, cytotoxicity and anti-tumor activity. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 23 (3): 317-45.
- Wang W, Li N, Luo M, Zu Y, Efferth T. 2012. Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil Compared to that of its main component. *Molecules*, 17(3): 2704-271.
- Wang W, Wu N, Zu YG, Fu YJ. 2008. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chem*, 108(3): 1019–1022.
- Wannissorn B, Jarikassam S, Siviwangchai T, Thubthimthed S. 2005. Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*, 76(2): 233-236.
- Wei A, Shibamoto T. 2007. Antioxidant activities and volatile constituents of essential oils. *J. Agric. Food Chem*, 55(5): 1737–1742.
- Zomorodian K, Saharkhiz MJ, Shariati S, Pakshir K, Rahimi MJ, Khashei R. 2012. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils from *Nepeta cataria* L. against common causes of food-borne infections. *International Scholarly Research Notices*, 2012: 1-6.

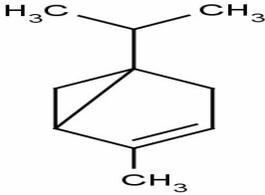
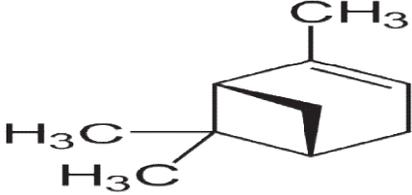
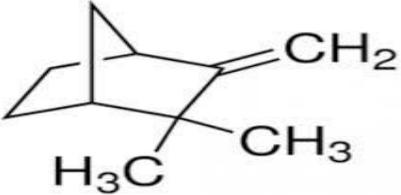
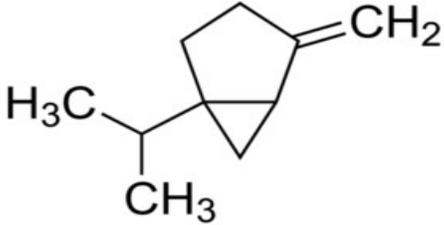
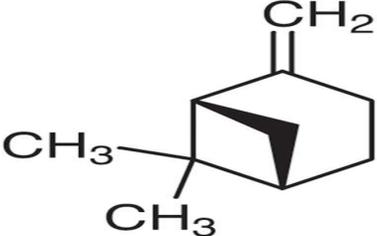
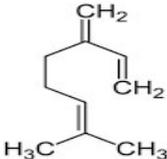
## مراجع بالعربية

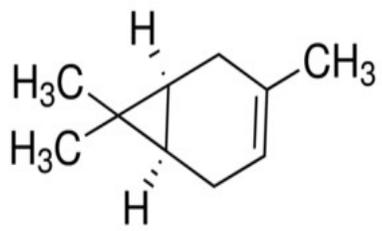
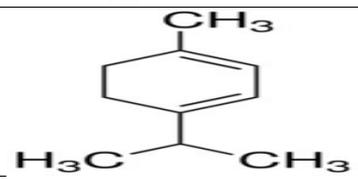
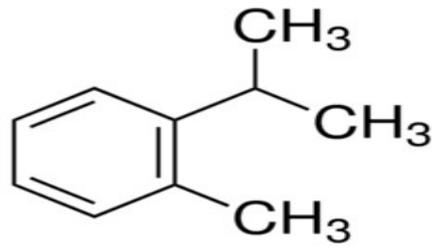
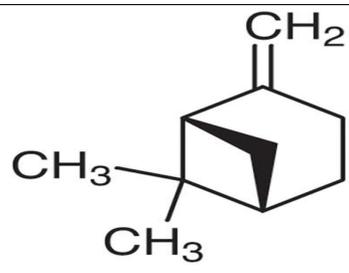
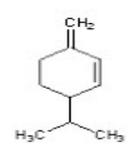
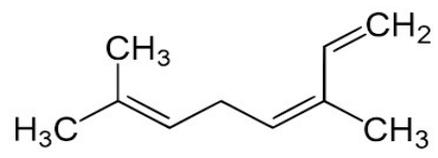
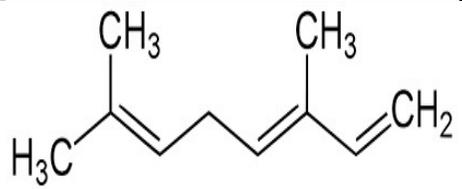
ابو زيد ن. ح. 2000. الزيوت الطيارة الدار العربية للنشر والتوزيع القاهرة ص 256.

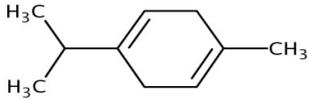
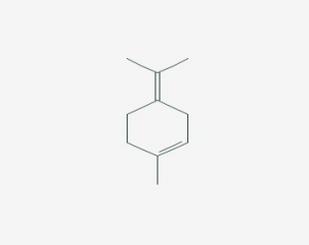
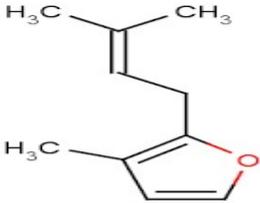
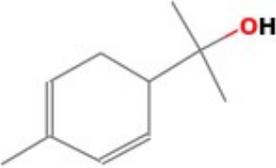
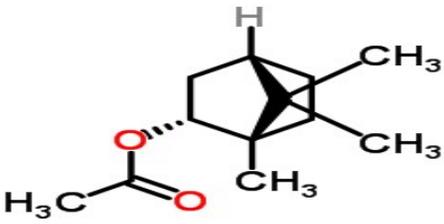
مخدي ن. ه. 2014 استعمال المستخلصات المائية لنبتي *Matricaria pubescens* و *Pituranthos chloranthos* كمعطرات طبيعية للجبن أمير ودراسة النشاطية ضد بكتيرية لزيوتها العطرية. مذكرة ماجستير، جامعة فرحات عباس سطيف-1. ص 74.

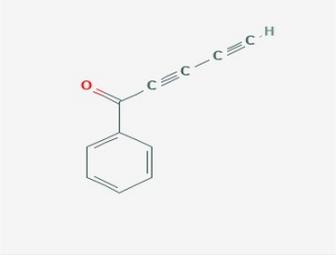
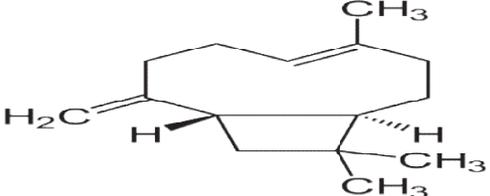
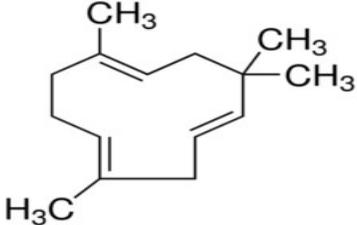
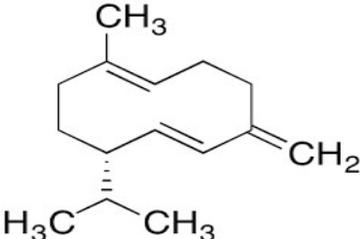
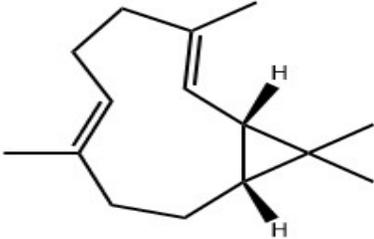
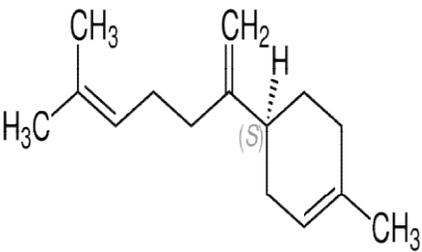
# ANNEXE

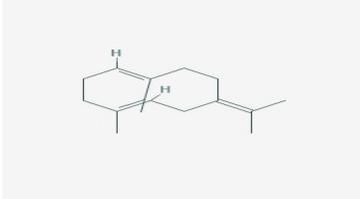
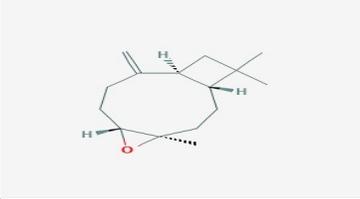
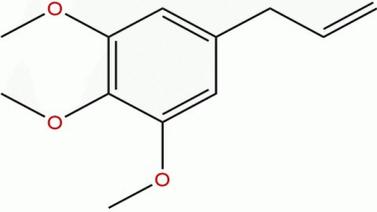
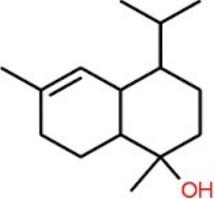
Annexe 1 : Liste des structures des constituants identifiés dans l'huile de *M. pubescens*

Composants	Formule empirique	Structure chimique
$\alpha$ -thujene	$C_{10}H_{16}$	
$\alpha$ -pinene	$C_{10}H_{16}$	
Camphene	$C_{10}H_{16}$	
Sabinene	$C_{10}H_{16}$	
$\beta$ -pinene	$C_{10}H_{16}$	
Myrcene	$C_{10}H_{16}$	

$\Delta^3$ -carene	$C_{10}H_{16}$	
$\alpha$ -Terpinene	$C_{10}H_{16}$	
Cymene-ortho	$C_{10}H_{14}$	
Limonene	$C_{10}H_{16}$	
$\beta$ -phellandrene	$C_{10}H_{16}$	
$\beta$ -ocimene (Z) ->	$C_{10}H_{16}$	
$\beta$ -ocimene (E)	$C_{10}H_{16}$	

$\gamma$ -terpinene	$C_{10}H_{16}$	
Terpinolene	$C_{10}H_{16}$	
3-methyl-2(2-methyl butenyl) furane	$C_{10}H_{14}O$	
Mentha-1,5,diene-8-ol	$C_{10}H_{16}O$	
Camphor	$C_{10}H_{16}O$	
Endobornyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	

1-Phenyl-penta-2,4-diyne	$C_{11}H_6O$	
Limonen-10-ol	$C_{10}H_{16}O$	
Caryophyllene (E)	$C_{15}H_{24}$	
$\alpha$ -humulene	$C_{15}H_{24}$	
Germacrene D	$C_{15}H_{24}$	
Bicyclogermacrene	$C_{15}H_{24}$	
$\gamma$ -bisabolene (E)	$C_{15}H_{24}$	

<p><b>Germacrene B</b></p>	<p><b><u>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub></u></b></p>	
<p><b>Caryophyllene oxide</b></p>	<p><b><u>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O</u></b></p>	
<p><b>Elemicin</b></p>	<p><b><u>C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub></u></b></p>	
<p><b><math>\alpha</math>-cadinol-epi</b></p>	<p><b><u>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O</u></b></p>	
<p><b><math>\gamma</math>-muurolene</b></p>	<p><b><u>C<sub>15</sub>H<sub>24</sub></u></b></p>	