

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEURE ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة امحمد بوقرة بومرداس

UNIVERSITÉ M'HAMED BOUGARA BOUMERDÈS



Faculté des Sciences

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Spécialité: Biotechnologie Microbienne

Thème :

Evaluation du pouvoir antimicrobien de plusieurs extraits

Polyphénolique de deux espèces végétales

Chamaemelum nobile L. et Matricaria chamomilla L.

Présenté par :

M^{elle} Djoubani Kenza

M^{elle} Hamadouche Naima

M^{me} Boudraa Ouarda

Suivi par :

M^{me} Bahidj N.

Prof (U.M.B.B)

Présidente

M^{me} Ait kaki S.

(M.C.A) (U.M.B.B)

Promotrice

M^{me} Mohand Kaci H.

(M.C.A) (U.M.B.B)

Examinatrice

Année Universitaire : 2016/ 2017

Remerciement

*Nous remercions tout d'abord **DIEU** le tout puissant pour nous avoir données la force et la patience, la Santé, la volonté et les moyens pour réaliser ce modeste travail.*

Nous exprimons nos profonds remerciements et nos vifs connaissances à :

*Notre promotrice Madame **Ait Kaki S.** Maître de conférences à la faculté des sciences, Université M'Hamed Bougara, Boumerdès pour avoir encadré et dirigé notre travail, sa disponibilité, ses conseils, ses orientations, et sa gentillesse au bon déroulement de ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Madame **Behidj N.** Professeur à la faculté des sciences, Université M'Hamed Bougara, Boumerdès, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous exprimons vifs remerciements à Madame **Mohand Kaci H.** Maître de conférences à la faculté des sciences, Université M'Hamed Bougara, Boumerdès L'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

*Nos remerciements vont également à tous nos collègues **Biotechnologie Microbienne** pour leur aide, leur soutien pendant les moments difficiles, leur gentillesse et pour leur franche camaraderie et surtout la technicienne de laboratoire.*

Nous leur exprimons notre respect et notre profonde sympathie À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je remercie ALLAH le tout puissant qui m'a donné la santé, la volonté, et l'aide dans les moments difficiles afin de mener ce travail à terminer.

Je dédie ce travail

A mes chers parents, ma mère Houria et mon père Mohamed pour leurs sacrifices et leurs soutiens tout au long de mes études.

A mes très chères sœurs

Amel, Hafida, Nouara, Wassila, Hassiba

A mon très cher frère Houcin

A mon oncle Oumar

A ma chère cousine Lydia

Aux enfants de mes sœurs: Aya, Adem, Rayan, Noufel et Saïd

Que DIEU vous protège toujours

A mes très chères amies

Sali, Soni, Katia, Faïza, Miassa, Ouardia, Fahima, Naima,

Ouahiba, Celia

Que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de ma vie.

A mes trinômes : Naima et Ouarda

A mes amies de la promotion de Master en Biotechnologie Microbienne

Sara, Neïssrine, Ghania, Lila, Yamina, Dahbia, Karima,

Amira et Linda

A tous ce qui m'ont aidé et encouragé dans ce mémoire.

Kenza

Dédicace

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

*C'est avec un infiniment plaisir que je dédie ce modeste travail :
A la mémoire de mon très cher père dont je regrette son absence en ce jour si important pour moi*

A ma très chère mère Saliha en témoignage de l'amour, de respect et de la gratitude que je lui porte, je la remercierai assez pour son soutien, son dévouement, sa compréhension et pour l'attention dont elle fait toujours preuve.

Elle a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A mes très chers frères Mohamed Rezki, Sadek, Hocine, Abdel Malek et Boualem et ma très chère sœur Hassina.

Que Dieu les bénisses

A toute ma famille Hamadouche

A mes trinômes : Kenga et Ouarda

A toutes mes amies ainsi mes camarades de la promotion de Master en Biotechnologie Microbienne d'Université de Boumerdes

A tous ceux qui ont participé pour faire ce travail.

Naima

Dédicace

À l'aide du dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, Je dédie humblement ce travail avec une grande fierté et comme geste de gratitude :

Je tiens à dédier ce travail

À ma très chère mère Bahia

Tu es L'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi puisse

À mon très chère père Saïd

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma Formation

À mon très cher mari Hakim qui m'a motivé et soutenue tout à la longue de travail. Sans Ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

À mes sœur Lamia, Abba

À mes adorables Frères : Mouhamed, Abdhafid, khalad

À mes trinôme : Kenza, Naïma

Quarda

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	5
02	<i>Chamaemelum nobile</i> L.	8
03	Plantes médicinales étudiées.	13
04	Diagramme résumant les différentes étapes du travail.	15
05	Poudre végétale des deux plantes.	16
06	Protocole résumé les étapes de la préparation de l'infusé à 20%.	17
07	Représentation schématique de l'extraction aqueuse.	19
08	Protocole d'extraction par solvant (chloroforme).	20
09	Protocole d'extraction des polyphénols.	21
10	Ensemencement par écouvillonnage.	25
11	L'antibiogramme pad disques.	26
12	Analyse d'un antibiogramme.	27
13	Photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de <i>Chamaemelum nobile</i> L.	35
14	Photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux <i>Matricaria chamomilla</i> L.	35
15	Photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de <i>Chamaemelum nobile</i> L.	37
16	Photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de <i>Matricaria chamomilla</i> L.	37
17	Photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique de <i>Chamaemelum nobile</i> L.	39
18	Photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique de <i>Matricaria chamomilla</i> L.	39

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Position taxonomique de <i>Matricaria chamomilla</i> L.	4
02	Position taxonomique de <i>Chamaemelum nobile</i> L.	7
03	Les souches microbiennes testées.	14
04	Différents tests effectués pour le screening phytochimique.	18
05	Estimation de la sensibilité des souches aux extraits.	27
06	Résultats des tests phytochimiques de la partie aérienne (fleurs et feuilles) de deux plantes médicinales (<i>Chamaemelum nobile</i> L. et <i>Matricaria chamomilla</i> L.)	28
07	Le rendement d'extraction des différents extraits.	32
08	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (grande camomille) et <i>Matricaria chamomilla</i> L. (petite camomille).	34
09	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (grande camomille) et <i>Matricaria chamomilla</i> L. (petite camomille).	36
10	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (grande camomille) et <i>Matricaria chamomilla</i> L.	38

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 01

Chapitre I: Synthèse Bibliographique

I.1. Généralité sur la famille des Astéracées.....	03
I.1.1. La petite camomille : <i>Matricaria chamomilla</i> L.....	03
I.1.1.1. Etymologie.....	03
I.1.1.2. Noms vernaculaire.....	04
I.1.1.3. Classification.....	04
I.1.1.4. Description botaniques.....	04
I.1.1.5. Répartition géographique.....	05
I.1.1.6. Utilisation traductionnel	05
I.1.1.7. Composition chimique.....	06
I.1.2. La grande camomille: <i>Chamaemelum nobile</i> L.....	07
I.1.2.1. Dénomination.....	07
I.1.2.2. Classification.....	07
I.1.2.3. Description botaniques.....	08
I.1.2.4. Répartition géographie.....	08
I.1.2.5. Utilisation traditionnel.....	08
I.1.2.6. Composition chimique.....	09
I.2. Les principes actifs.....	09
I.2.1. Les composés phénoliques (polyphénols).....	09
I.2.1.1. Les principales classes de composés phénoliques.....	10
I.2.1.2. Propriétés biologiques des polyphénols.....	11
I.2.2. Les saponosides	12
I.2.3. Les alcaloïdes.....	12

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel	13
II.1.1. Matériel biologique	13
II.1.2. Matériel non biologique	14
II.2. Méthodes d'analyses	15
II.2.1. Choix des plantes	16
II.2.2. Méthodes de récolte, séchage et broyage	16
II.2.3. Etude phytochimique	17
II.2.4. Extraction par macération	19
II.2.4.1. Extraction aqueuse	19
II.2.4.2. Extraction par solvant.....	20
II.2.4.3. Extraction et dosage des polyphénols.....	21
II.2.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne	24

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Résultats du screening phytochimique	28
III.2. Extraction et caractérisation des polyphénols totaux	32
III.2.1. Rendement en polyphénols totaux	32
III.2.2. Caractérisation spectrale des polyphénols toux	33
III.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne	34
Conclusion générale	42
Références bibliographiques	44

Annexes

Introduction

Introduction

Introduction

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents, malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles. Environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres **(EL Rhaffari et Zaid, 2004)**.

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques **(Billing et Sherman, 1998)**. Depuis la découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1929, jusqu'à nos jours les antibiotiques sont utilisés massivement contre les infections bactériennes. En raison de cette utilisation excessive, une résistance bactérienne s'est développée contre la majorité des antibiotiques **(Gopal Rao, 1999)**.

A cet effet, il est nécessaire d'orienter les recherches vers de nouvelles voies thérapeutiques et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments à partir de produits du métabolisme secondaire **(Hammer et al., 1999; Cassella et al., 2002)**.

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales **(Macheix et al., 2005)**. Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobiennes des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales **(Ulanowska et al., 2007)**.

Cependant, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydant et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs **(Teixeira da Silva, 2004)**.

La camomille est l'une des plantes médicinales les plus documentées dans le monde entier. Ses utilisations primaires sont en tant qu'un sédatif, un anxiolytique, antispasmodique, antimicrobienne, et anti-inflammation **(Gardiner, 1999)**.

Introduction

L'objectif de ce travail est de tester plusieurs extraits polyphénoliques de deux espèces de camomille (*Chamaemelum nobile* L. et *Chamomilla recutita* L.) sur les agents microbiens responsables de certaines maladies dans le but de valoriser l'espèce végétale dans des préparations pharmaceutiques.

Notre manuscrit est scindé en trois chapitres:

Le premier est consacré à une étude bibliographique dans laquelle sont exposés les généralités sur les deux plantes étudiées et les principes actifs.

Le deuxième chapitre illustre respectivement les matériels et les méthodes adoptées pour la réalisation de cette étude. Le dernier chapitre expose les résultats obtenus et des discussions apportées. Et enfin, une conclusion résumant l'essentiel du travail.

Synthèse

bibliographique

I.1. Généralité sur la famille des Astéracées

Le mot « aster » du grec signifie « l'étoile » en référence à la forme des fleurs (**Gaussen et Leroy, 1982**). La famille des Astéracées ou Composées est la famille la plus large des plantes à fleurs, famille de plantes dicotylédones, elle comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres formant approximativement 10% de la flore du monde (**Pottier, 1981**).

Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée « Pappus » qui favorise la dispersion des graines par le vent (**Messai, 2011**). Les racines des Astéracées sont d'habitude pivotantes et fibreuses. Les tiges sont généralement droites, mais tombent quelque fois au fait de s'élever. Les feuilles sont souvent alternes, et parfois en face, ou verticillées (**Gherboudj, 2014**).

Les principes amers, les corps insaturés, les flavonoïdes, les coumarines, les polyphénols, les terpènes., principaux constituants chimiques des Astéracées expliquent la diversité de leurs activités pharmacologique (**Mezache, 2010**).

Plusieurs espèces sont utilisées en pharmacie : le Semen-contra (*Artemisiacina Berge*), l'Arnica (*Arnica montana* L.), et la Camomille (*matricaria chamomilla* L. et *Anthemis nobilis* L.) (**Guignard, 1994**).

I.1.1. La petite camomille : *Matricaria chamomilla* L.

I.1.1.1. Etymologie

Matricaria vient de *matrix*, « Femelle », « matrice », la plante facilite et soulage les douleurs des règles ; le nom « *chamomilla* » vient du grec « *chamaimelon* », « *chamai* » signifiant « à terre », et « *melon* », signifiant « pomme » (**Pierre et Lys, 2007**).

La petite camomille est cependant plus connue par ses synonymes suivants: *Chamomilla chamomilla* L. ; *Chamomilla recutita* L. ; *Matricaria chamomilla* L. (**Goetz et Ghedira, 2012**).

I.1.1.2. Noms vernaculaires

Français : camomille allemande, petite camomille, camomille sauvage, œil du soleil.

Anglais : german chamomille.

Italie : camomilla vulgare.

Arabe: bâbûnaj (**Pierre et Lys, 2007**).

I.1.1.3. Classification

La classification botanique de la petite camomille est présentée dans le tableau 1 selon **Quezel et Santa (1963)**.

Tableau 1: position taxonomique de *Matricaria chamomilla* L.

Taxonomie	Description
Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Dicotyledones
Classe	Dicotyledoneae
Ordre	Asteralae
Famille	Astéraceae
Genre	<i>Matricaria</i>
Espèce	<i>Matricaria chamomilla</i> L

I.1.1.4. Description botaniques

La Matricaire est une plante herbacée annuelle, aromatique, à odeur prononcée de camomille et à saveur amère (**Fourasté, 2007**) ; mesurant de 50 centimètres de hauteur, à tige dressée, rameuse. Les feuilles, alternes, épaisses, sont très divisées (bi ou tri pennées), en lanières (**Bellakhdar, 2006**). Les fleurs libres en capitules, c'est-à-dire serrées les unes contre les autres, sans pédoncule, sont placées sur l'extrémité d'une tige, entourée d'une collerette de bractées simulant un calice (**Bruneton, 1999**).

Les capitules sont insères sur un réceptacle conique, présentant un grand nombre de fleurs tubulées jaunes synanthérées : les fleurs du milieu en tube cylindrique sont jaunes à 5 lobes, les fleurs du pourtour en languettes blanches souvent réfléchies, radiées (**Wichtl, 2003**). Les fruits, tous semblables, sont des akènes jaune blanchâtre, en cône renversé, ne dépassant pas 1mm de longueur. La graine est sans albumen et l'embryon est petit (**Fourasté, 2007**).



Figure n°1: photo de *Matricaria chamomilla* L.
(Personale)

I.1.1.5. Répartition géographique

Originnaire des régions méditerranéennes, la Matricaire est ubiquitaire en Europe. Hors d'Europe, on peut la rencontrer en Asie centrale, en Asie tempérée et du Sud-ouest, en Afrique du Nord. Elle est même naturalisée dans l'Amérique du Nord. Cette plante peut s'élever à une assez grande altitude dans les champs des montagnes ou au voisinage des habitations des villages situés à environ 1000 m (**Fourasté, 2007**).

Elle s'accommode de tous les sols, mêmes calcaires, et croît essentiellement dans les jardins ou le long des murs, et dans les décombres humides (**Boutaoui, 2012**).

I.1.1.6. Utilisation traditionnelle

La médecine traditionnelle a attribué de nombreuses propriétés thérapeutiques à la matricaire (camomille allemande) qui a été souvent discutés. Parmi les principales propriétés, il y avait l'usage en tant qu'antispasmodique, fébrifuge, antispastique des organes de la digestion, emménagogue, antinévralgique, antiallergique et bactéricide. En usage externe, la Matricaire est un anti-inflammatoire, un cicatrisant de la peau et des muqueuses.

Elle est prescrite contre les inflammations de la bouche, des oreilles, des yeux et contre diverses affections cutanées (**Guignard et al., 1988**).

La matricaire est couramment employée dans les préparations capillaires des tinées à éclaircir la nuance des cheveux dont elle stimulerait aussi la croissance. C'est la plante la plus utilisée cosmétologie où elle se montrerait émolliente, protectrice (**Parek et Kim, 1998**).

Les propriétés antimicrobiennes ont été évaluées sur les extraits aqueux de la matricaire en raison de leur teneur en acides-phénols de type acide rosmarinique (**Mimica-Dukic et al., 2004**). Aussi l'activité de l'huile essentielle a été déterminée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella poona* et *Escherichia coli*. Les plus faibles concentrations minimales inhibitrices ont été enregistrées avec *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis* (**Hussain et al., 2011**).

I.1.1.7. Composition chimique

Plus de 120 composants ont été identifiés dans les fleurs de la petite camomille (**Pino, 2002**). Les capitules secs renferment 0.3 à 1.5 % d'une huile essentielle bleue foncée. On y trouve aussi des flavonoïdes (un glucoside de l'apigénine, de l'apigénine libre, des glucosides du quercétol et de la lutéoline) ; des polyienescyclinée; un mucilage uronique ; des principes amer ; de la choline ; des acides gras ; un phytostérole et des matières minérales (**Bellakhdar, 2006**).

Les polyphénols sont les constituants le plus abondant dans cette plante, représentés par des coumarines et les flavonoïdes. Coumarines : hernairine et l'esculetine couvrent 0,1 des composants totaux. Les flavonoïdes majeurs sont l'apigénine, le lutéoline et la quercétine représentant 16.8%, 1.9% et 9.9% respectivement de flavonoïdes totaux (**Kato et al., 2008**).

I.1.2. La grande camomille: *Chamaemelum nobile* L.

I.1.2.1. Dénomination

On l'appelle "romaine" pour avoir été identifiée à Rome au XVe siècle, d'où elle nous est parvenue, via Londres, en tant que mauvaise herbe (Mourice, 2013). L'ancien nom latin de la camomille romaine était *Anthemis nobile* (Nelly, 2013). Anthemis vient du grec anthos, qui signifie « fleur » ; nobilis, « noble ». Elle est aussi connue sous les noms communs suivants : camomille odorante, Anthémis noble ou odorant, Camomèle, Camomille noble (Pierre et Lys, 2007).

I.1.2.2. Classification

D'après Quezel et Santa (1963), la systématique de la grande camomille est la suivante :

Tableau 2 : position taxonomique de *Chamaemelum nobile* L.

Taxonomie	Description
Règne	Plantea
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédoneae
Sous-classe	Astériidées
Ordre	Asteralae
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Chamaemelum</i>
Espèce	<i>Chamaemelum nobile</i> L.

I.1.2.3. Description botaniques

La camomille romaine est une plante herbacée, vivace, de 10 à 30 cm de haut, vert blanchâtre, à tige ramifiée et velues, étalées sur le sol puis redressées. Les feuilles alternes sont divisées (bi ou tri pennées) en linéaires **(Bellakhdar, 2007)**.

Les fleurs sont des capitules, tubulées au centre, hermaphrodite, blanc à blanc jaunâtre de 2 à 2,5 cm de diamètre. Les fruits sont des akènes, jaunâtres et côtelés **(Nelly, 2013)**.



Figure n°2 : photo de *Chamaemelum nobile* L.
(Original)

I.1.2.4. Répartition géographique

C'est l'espèce la plus fréquemment cultivée. Elle se développe sur un sol sec et riche en silice jusqu'à 1000 mètres d'altitude **(Nelly, 2013)**. Originaires d'Europe du Sud-Ouest (France, Espagne et Portugal), elle est présente en Afrique du Nord en Asie du Sud-Ouest et en Moyen Orient (Egypte) **(Dezso, 2011)**.

I.1.2.5. Utilisation traditionnelle

La Camomille romaine est connue comme plante médicinale depuis le moyen-âge. Elle est classée par le Conseil de l'Europe une source naturelle d'aliments aromatiques. Cette catégorie indique que la camomille romaine peut être ajoutée aux denrées alimentaires en petites quantités **(Dezso, 2011)**.

Elle est utilisée comme tonique de l'appétit avant les repas pour faciliter la digestion après le repas. Elle est également utile pour calmer les maux de tête, les douleurs diverses, les maux de dents, et adoucit les yeux et les paupières (**Pierre et Lys, 2007**). La camomille romaine possède des propriétés anti- inflammatoire, antimicrobien, antiseptique et antispasmodique. Elle est très utile pour les sujets hypersensibles, ayant du mal à s'adapter aux réalités existentielles et qui expriment leurs difficultés émotionnelles par des problèmes de peau (**Mourice, 2013**).

I.1.2.6. Composition chimique

La camomille romaine contient 0,4 à 1,5% d'huile essentielle contenant 85% d'esters, surtout de l'angélate d'isobuyle, accompagné des esters des acides méthylacrylique. Elle renferme aussi un alcool (l'anthémole), de la pinocarvone, du pinocarvéol. On y trouve aussi 0,6% de lactone sesquiterpéniques ; des flavonoïdes ; des acides caféique et ses esters glucosés ; des coumarines ; des acides gras, de mucilage et des minéraux (**Bellakhdar, 2007**).

I.2. Les principes actifs

I.2.1. Les composés phénoliques (polyphénols)

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes d'où la dénomination de métabolites secondaires. Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (**Urquiaga et Leighton, 2000**). En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (**Lugasi et al, 2003**).

I.2.1.1. Les principales classes de composés phénoliques

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes : les acides phénoliques, les flavonoïdes, Les tanins, et les coumarines (**Hopkins, 2003**).

a) Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées et liées à des sucres sous forme d'hétéroside (**wichtl et Anton., 2009**). On distingue deux classes appartenant à cette sous-famille. Les dérivés d'acide benzoïque et les dérivés d'acide cinnamique (**Manach et al., 2004**).

b) Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (**Seyoum et al., 2006**), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (**Bruneton, 1999 ; Ghestem et al., 2001**). Ces substances naturelles sont très répandues dans la famille des Astéracées où beaucoup de travaux ont été réalisés chez le genre *Matricaria* (**Babenko et Shakhovo, 2006**). Les flavonoïdes sont généralement des antibactériennes (**Wichtl et Anton, 2009**).

Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire et de l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (**Iserin et al., 2001**).

c) Coumarines

La coumarine est une substance naturelle organique aromatique. Ces composés possèdent des hydroxyles phénoliques qui peuvent être méthyles ou être engagés dans des liaisons hétérosides. Plus d'un millier de coumarines naturelles ont été décrites. Elles sont très largement distribuées dans le règne végétal. Elles ont des propriétés antibiotiques, spasmolytiques, antifongiques et anticancéreuses (**Mirunalini et krishnaveni, 2011**).

d) Tannins

Les tanins sont des substances poly phénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est lié à leur propriété de se combiner aux protéines (**Paris et Hurabielle, 1981**). Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (**Khanbabae et Ree, 2001**).

I.2.1.2. Propriétés biologiques des polyphénols

Les polyphénols suscitent beaucoup d'intérêts dans plusieurs domaines, celui de la nutrition par leur caractère préventif à l'égard de diverses maladies, en cosmétologie et surtout dans les industries agroalimentaires par leurs implications, en particulier, sur la flaveur des aliments et leur incidence sur la conservation des produits alimentaires (**Hynes, 2001**).

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (**Middleton et al., 2000 ; Ksouri et al., 2007**).

- **Activité antimicrobienne**

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésives microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (**Cowan, 1999**) Ces composés jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (**Xia et al., 2011**). Grâce aux propriétés antimicrobiennes de certains polyphénols comme les flavan-3-ols, les flavanols et les tanins, il est désormais possible de développer des conservateurs alimentaires et de nouvelles thérapies dans de nombreuses maladies infectieuses en considérant la résistance microbienne face à certains traitements antibiotiques (**Daglia, 2012**).

- **Activité antioxydant**

L'activité antioxydant des polyphénols assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique et ainsi permettre une meilleure stabilisation des denrées alimentaires. Ils sont également préconisés pour améliorer la stabilité de pigments de jus colorés, d'arômes alimentaires, et rentrent dans la composition de produits pharmaceutiques pour des utilisations par voie orale et des cosmétiques pour des applications locales (**Moure *et al.*, 2001**).

- **Activité anti- inflammatoire**

Les études sur les flavonoïdes issus de plantes utilisées traditionnellement restent encore très répandues car, bien que l'inflammation soit un phénomène normal d'autodéfense de l'organisme contre des blessures, elle est parfois incontrôlée dans les maladies auto-immunes (arthrite rhumatoïde) ou lorsqu'elle est liée aux réponses allergiques (asthme) (**Benavente-Garcia et Castillo, 2008; Conforti *et al.*, 2008**).

I.2.2. Les saponosides

Le terme saponoside est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycolyses comme ils peuvent aussi se trouve sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre (**Hopkins, 2003**). Les travaux de **Steinmetz *et al.* (1993)** ont mis en évidence l'activité antifongique de saponosides tri terpéniques extraits du lierre sur les levures et les dermatophytes. Dans un même ordre d'idée, les saponosides l'hédérine ont montré une activité anti-tumorale et antibactérienne.

I.2.3. Les alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un gout amer et certains sont fortement toxiques (**Wichtl et Anton, 2009**). Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine) (**Hopkins, 2003**).

Matériel et Méthodes

Cette étude à portée sur la phytochimie et l'évaluation du pouvoir antimicrobien de plusieurs extraits polyphénoliques de deux espèces végétaux appartenant à la famille des *Astéracées* *Matricaria chamomilla* L. et *Chamaemelum nobile* L. Les travaux d'expérimentation de cette étude ont été réalisés au laboratoire de Biotechnologie Microbienne de la Faculté des Sciences de l'Université M'Hamed Bougara de Boumerdès. Ils se sont étalés sur une période de trois mois, soit du mois de Mars au mois du Mai de l'année universitaire 2016-2017.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

- **Le matériel végétal**

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne (les feuilles et les fleurs) de deux plantes médicinales : *Matricaria chamomilla* L. et *Chamaemelum nobile* L. (Figure n°3) qui ont été récoltés au niveau de la région de boudouaou, wilaya de Boumerdès.



Chamaemelum nobile L.



Matricaria Chamomilla L.

Figure n°3 : les plantes médicinales étudiées

- **Les souches microbiennes utilisées**

Les microorganismes retenus pour le présent travail proviennent du laboratoire de **Biotechnologie Microbienne**, il s'agit de bactéries, de levures et d'un champignon (**Annexe 1**).

Tableau 3 : les souches microbiennes testées.

Les souches microbiennes	Gram	Référence
<i>Escherichia coli</i>	-	Cb38
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Spp4330
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC2853
<i>Bacillus thuringiensis</i>	+	/
<i>Candida albicans</i>	/	/
<i>Fusarium sp</i>	/	/

II.1.2. Matériel non biologique

La réalisation des expériences de notre étude a fait appel à un matériel classique composé de verreries, d'équipement et d'appareillages. Il comprend aussi un ensemble de réactifs et produits chimiques (**Annexe 2**).

II.2. Méthodes d'analyses

Le protocole expérimental de ce travail est résumé dans la figure suivante :

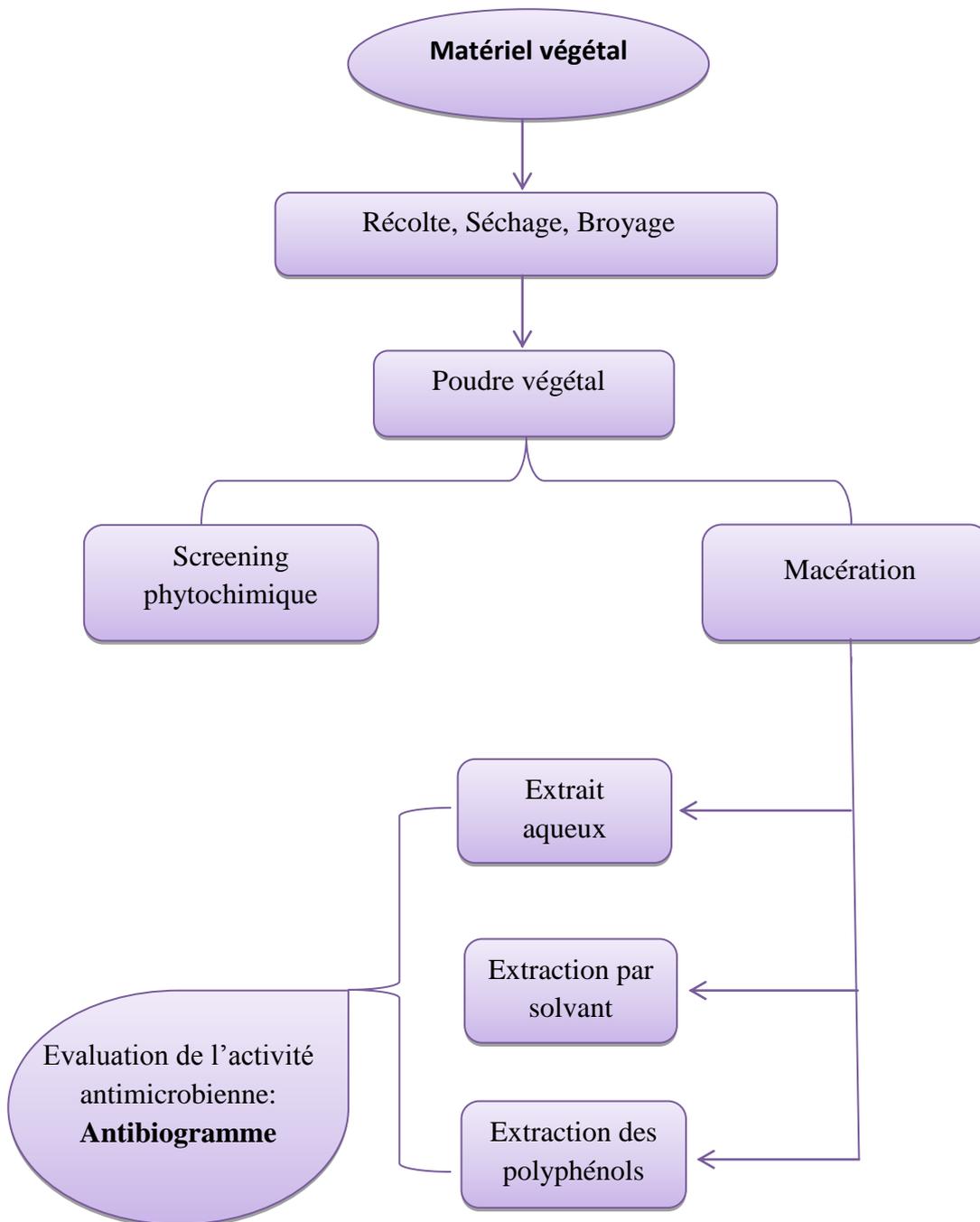


Figure n°4 : diagramme résumant les différentes étapes du travail.

II.2.1. Choix des plantes

Le choix de deux espèces de la camomille est basé sur leurs intérêts thérapeutiques qui ont fait leurs preuves en médecine alternative (traditionnelle).

II.2.2. Méthodes de récolte, séchage et broyage

La récolte de la partie aérienne (les fleurs et les feuilles) de deux plantes a été faite au mois de Mars et d'Avril (2017) au niveau de la région de Boudouaou, wilaya de Boumerdès. Les parties récoltées sont séchées à l'aire libre et à l'abri de la lumière pendant trois semaines pour abaisser la teneur en eau, afin d'éviter toute altération des micro-organismes. Les parties séchées sont réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue est conservée à l'abri de l'air et de l'humidité des flacons en verre hermétiquement fermés. Le broyat va constituer la matière qui va servir à l'extraction des polyphénols (**Figure n°5**).



Figure n°5 : poudre végétale des deux plantes.

II.2.3. Etude phytochimique

Le screening phytochimique effectué sur les deux espèces de la camomille a pour objectif de déterminer ou d'identifier les biomolécules existantes chez cette plante afin d'avoir une appréciation global sur les types de polyphénols existant dans celle-ci. Les tests sont effectués soit sur la poudre de la plante, soit sur leur infuser à 20%. Les méthodes de caractérisation utilisées dérivent de celles décrites par **Paris et Nothis (1978)**.

➤ Préparation de l'infusé à 20 %

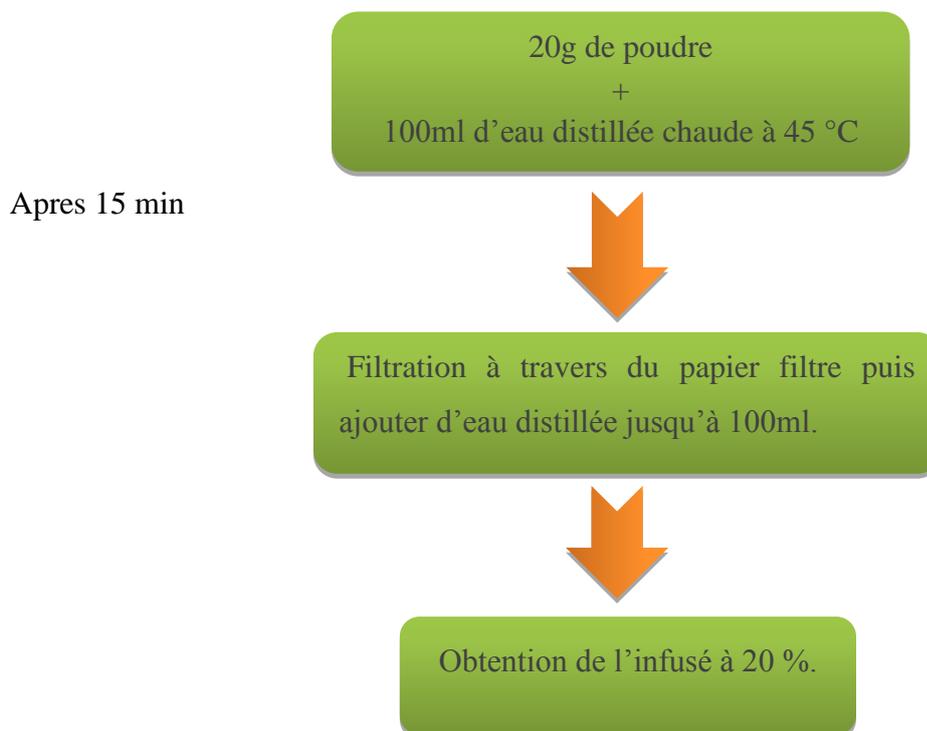


Figure n°6 : protocole résumant les étapes de la préparation de l'infusé à 20%.

➤ Teste d'identification

Le tableau qui suit résume les différents tests effectués pour le screening phytochimique (**Annexe 3**).

Tableau 4 : différents tests effectués pour le screening phytochimique.

Constituant		Réaction	Révélation
Composé Phénoliques	Tanins	Totaux 5ml de l'infusé + quelques gouttes de FeCl ₃ à 5 %	Coloration Blue noire
		Galliques 5ml de l'infusé + 2 g d'acétate de sodium + quelques gouttes de FeCl ₃	Coloration Blue foncé
		Catéchiques 15 ml d'infusé + 10 ml du formol à 40 % + 5 ml d'HCl concentré	Coloration Rouge
	Flavonoïde 5 ml d'infusé + 5 ml d' HCl + coupeau de Mg + 1ml isoamylique	Coloration Rouge- rangée	
	Anthocyanes 5 ml d'infusé + quelques gouttes d'HCl	Coloration rouge	
Composés réductes	Mucilages 1ml d'infusé + 5ml d'éthanol absolu et laissés 10 à 15 minutes	Un précipité floconneux	
	Glucosides 2g de poudre + quelques gouttes de H ₂ SO ₄	Coloration Rouge brique en suite violette	
Composés terpéniques	Saponosides 2 ml d'infusé + Quelques gouttes d'acétate de plomb	Formation d'un précipité blanc	
Composés azotés	Alcaloïdes 5 g de poudre végétale humecté avec l'ammoniaque ½ + macérés dans 50 ml du mélange éther chloroforme pendant 24 h + filtration le filtrat est épuisé par l'acide chlorhydrique 2N + quelques gouttes de Dragendroff	Coloration Rouge	
Amidon		Quelques gouttes d'iode sont ajoutées à 2 g de poudre végétale	Coloration Violette

II.2.4. Extraction par macération

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple, et qui consiste à maintenir en contact la drogue avec le solvant d'extraction à température ambiante pendant une durée de temps en relation avec la substance recherchée (**Wichlt *et al.*, 2003**).

L'extraction solide-liquide des principes actifs de matériel végétale implique le transfert d'un ou plusieurs solutés du solide vers un solvant tel que l'eau, l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyle, l'acétone, et le chloroforme. Le plus souvent la nature de solutés récupérés est inconnue et la totalité de solutés constitue ce qu'on appelle « un extrait » (**Priday *et al.*, 1999**).

➤ Principe

Le principe consiste à dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion (**Lapornik *et al.*, 2005**).

II.2.4.1 Extraction aqueuse

L'extraction aqueuse est représentée par la figure n°7.

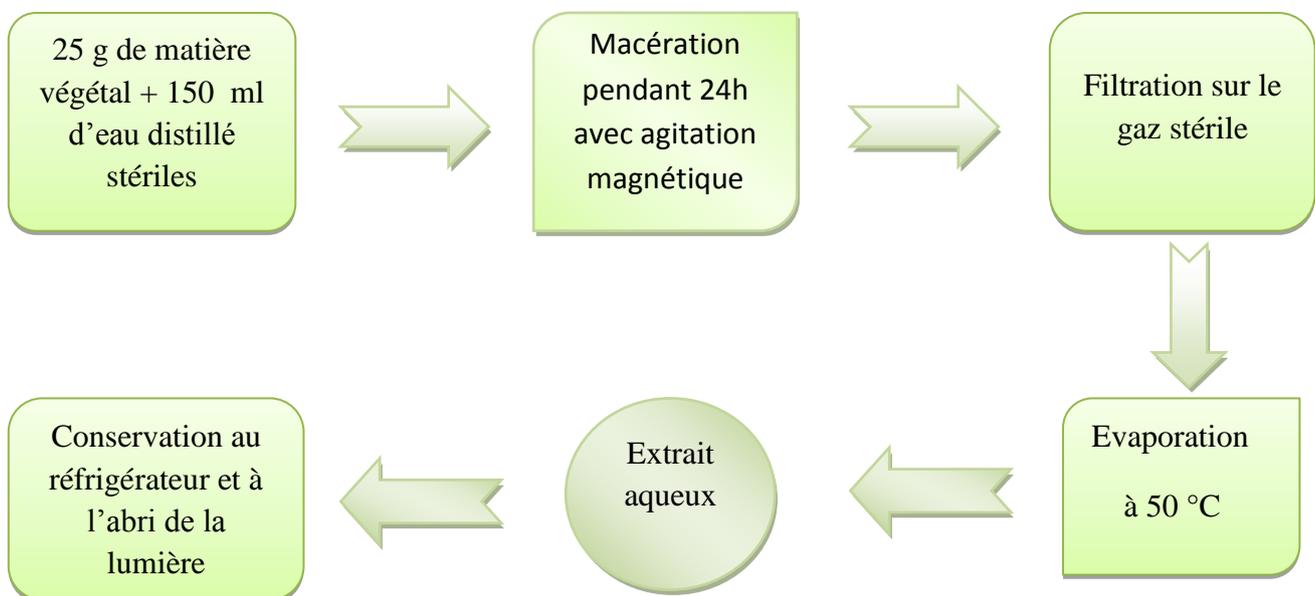


Figure n °7 : représentation schématique de l'extraction aqueuse (**Belhattab *et al.*, 2007**).

II.2.4.2. Extraction par solvant

La méthode d'extraction par solvant est résumée dans la figure au-dessous :

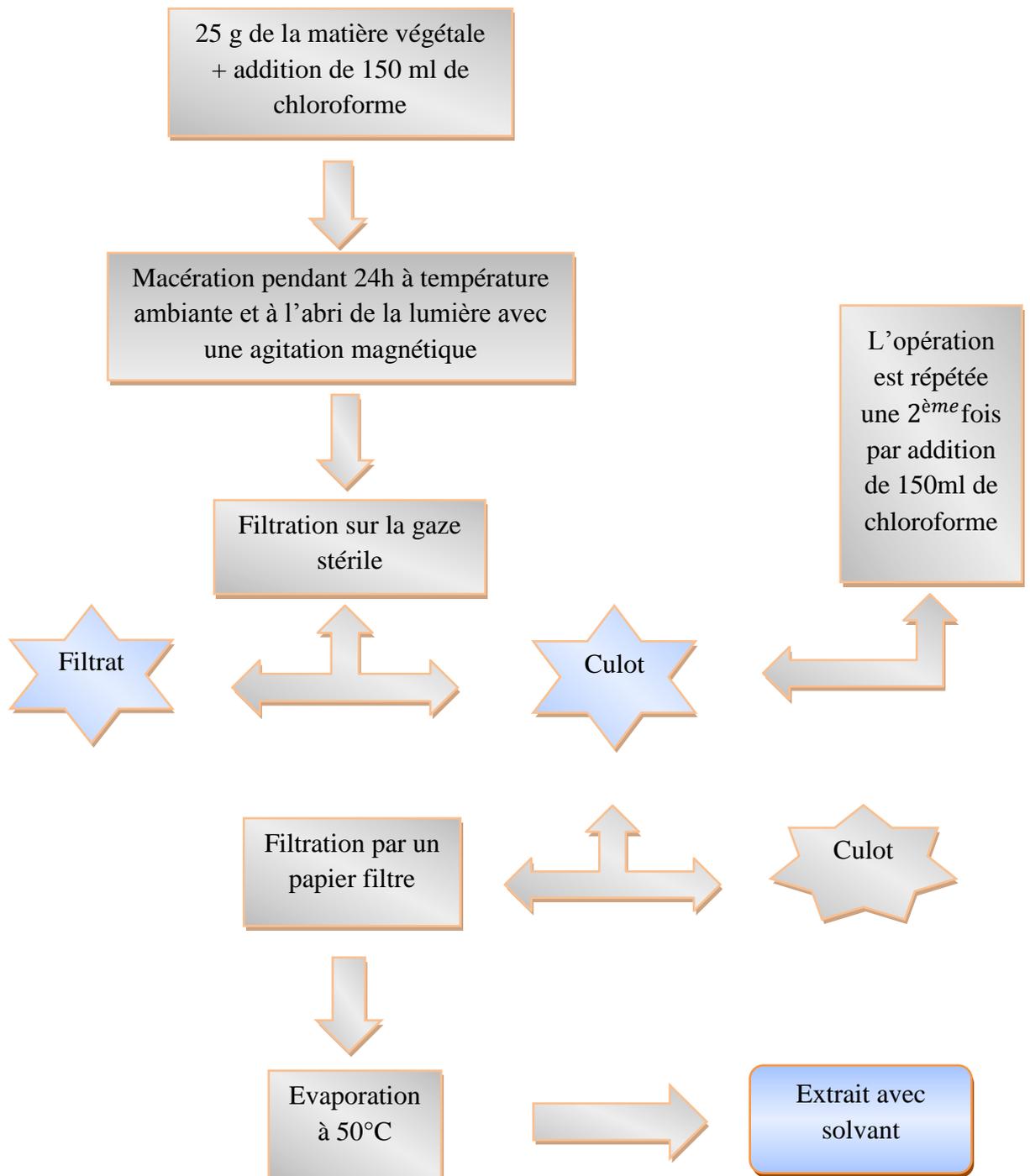


Figure n°8 : protocole d'extraction par solvant (chloroforme) (Belhattab *et al.*, 2007).

II.2.4.3. Extraction et dosage des polyphénols

1. Mode opératoire de l'extraction

D'après **Falleh *et al.*, (2008)**, le méthanol est fréquemment employé pour l'extraction des composés phénoliques. L'extraction des polyphénols à partir des feuilles et des fleurs des deux espèces de la camomille utilisées dans notre étude passe par les étapes suivantes (Figure n°9) (**Revilla *et al.*, 2001 ; Ojeil *et al.*, 2010**).

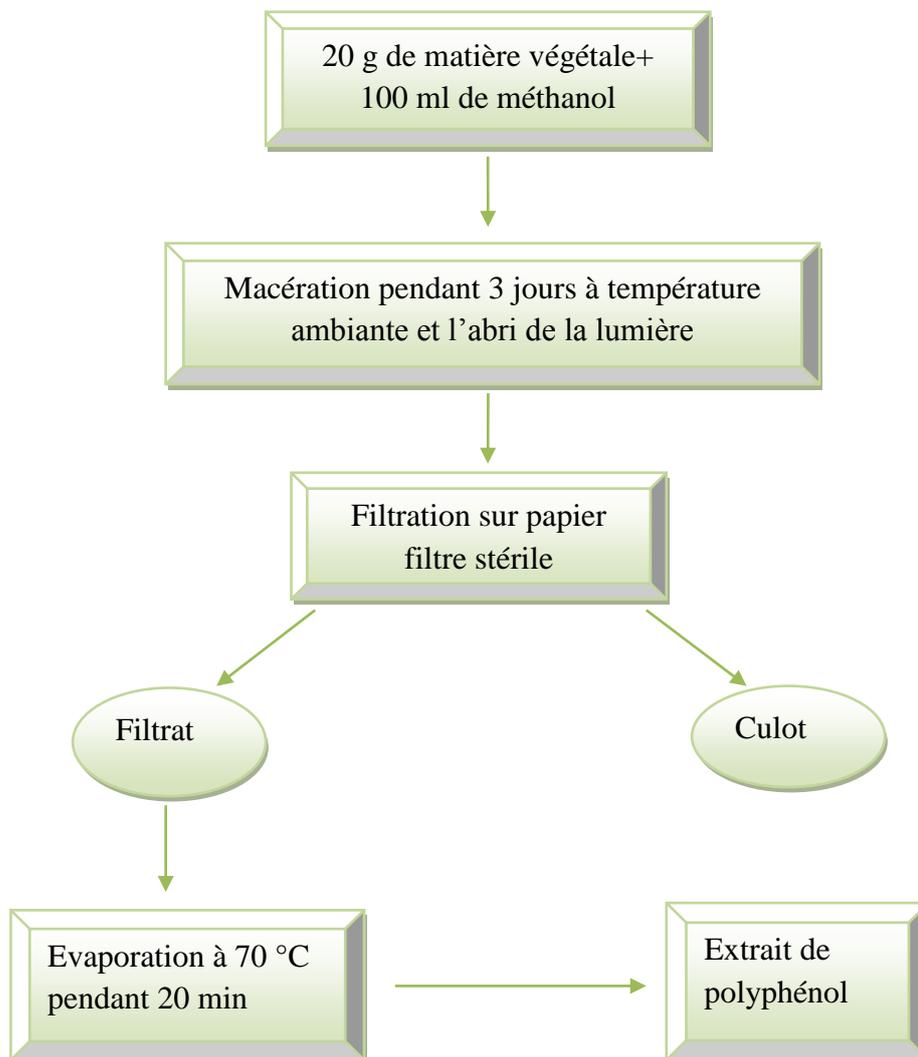


Figure n°9 : protocole d'extraction des polyphénols.

2. Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement d'extraction est calculé en pourcentage du rapport de la masse de l'extrait obtenu sur la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction selon la formule donnée par **Falleh *et al.*, 2008**.

$$R(\%) = (M/M_t) \times 100$$

R(%) : Rendement exprimé en %.

- ✓ **M** : masse de l'extrait brut (**m₁-m₀**) (en g).
- ✓ **m₁** : masse du ballon+ extrait après évaporation (en g).
- ✓ **m₀** : masse du ballon vide (g).
- ✓ **M_t** : masse du matériel végétal à traiter (en g).

3. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par un spectrophotomètre « Optizen 2120 /UV ». La méthode adoptée est celle décrite par **Wong *et al.*, (2006)**, utilisant le réactif colorimétrique de Folin-Ciocalteu.

- **Principe**

Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, qui est un mélange de l'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₁₄) de couleur jaune. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène.

L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (**Boizot et Charpentier, 2006**).

- **Mode opératoire**

a) Préparation de la solution d'extrait

0,5 ml de l'extrait à différentes concentration a été introduit dans des tubes à essai, ajouter 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois). Après 3 à 5 min d'incubation, 1ml de carbonate de sodium à 20% a été ajoutées.

Les tubes sont agités et incubés durant 1h à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS contre un blanc.

Le blanc est représenté par 0,5ml d'éthanol additionné de 1ml de Folin-Ciocalteu et 1ml de carbonate de sodium à 20%.

b) Expression des résultats

La quantification des polyphénols a été déterminée en fonction d'une courbe d'étalonnage en l'acide gallique comme standard, ayant l'équation suivante:

$$Y = 10.341 X + 0.068 \quad R^2 = 0.9977$$

Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique par 20g de poudre végétale.

II.2.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de deux plantes consiste à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes testés. Cette activité est évaluée par la méthode de l'antibiogramme ou la méthode de diffusion en milieu gélose par l'utilisation de disques stériles (**Cavallo et al., 2006**).

A. Test de l'antibiogramme

➤ Principe

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie est l'antibiogramme, qui repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans la technique de diffusion il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit à tester (**Broadsky et al., 1976**).

➤ Revivification des souches

Les souches fournies sur des milieux gélosés de conservation sont revivifiées par la méthode des stries sur le milieu gélose nutritif pour les bactéries et Sabouraud pour les levures. Il est à noter que les bactéries sont incubées à 37°C pendant 24h. Par contre, les levures sont incubées à 28°C pendant 72h, afin d'obtenir des cultures jeunes qui vont servir à préparer l'inoculum (**Meena et Sethiv, 2007**).

➤ Préparation de l'inoculum

La préparation de l'inoculum consiste à introduire quelques colonies de chaque culture étudiée dans des tubes stériles contenant 9ml d'eau physiologique stérile. Les colonies sont prélevées à l'aide d'une anse de platine et homogénéisées dans de l'eau physiologique. Les tubes sont agités pendant quelques secondes à l'aide d'un vortex et on réalise une lecture de densité de chacune des suspensions préparées. Il faut noter que l'obtention de la suspension à 10^8 germes/ml, l'absorbance à 625nm doit être comprise entre 0.2 et 0.3 pour les bactéries et entre 2 et 3 pour les levures (**Billerbec, 2007**).

➤ **Ensemencement**

Les milieux de culture Mueller-Hinton et Sabouraud liquéfiés et en surfusion à 45 °C, ont été coulés dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 2mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min devant un bec Bunsen (**Billerbeck, 2007**). Après refroidissement et solidification du milieu de culture sur la paillasse, chaque boîte estensemencée par écouvillonnage de la suspension bactérienne à tester.

Les mêmes opérations sont effectuées avec les souches de champignons. Ces dernières sont activées pendant 7 jours dans des boîtes de Pétri à une température de 28°C avant le test, après incubation l'inoculum des champignons est préparé et l'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîte Pétri (**Sokemen et al., 2004**).

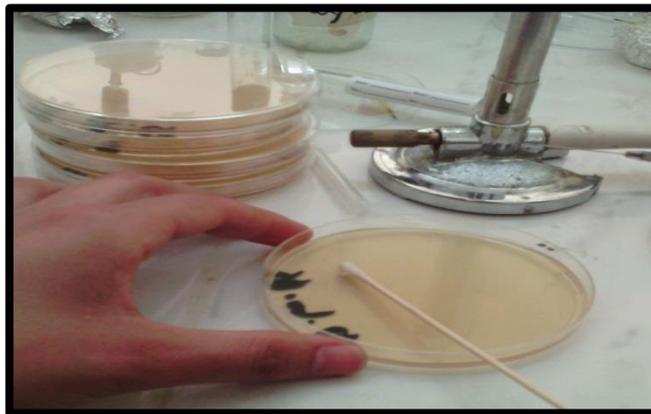


Figure n°10 : ensemencement par écouvillonnage
(Personale)

➤ **Dépôt des disques**

Dans les conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de 6 mm de diamètre précédemment stérilisés sont imbibés avec 30µl d'extrait à tester et déposés au centre de la surface gélosée. Les boîtes sont laissées au moins 8h au réfrigérateur pour une bonne diffusion de l'extrait (**Rozman et Jersek., 2009**) pour chaque souche, une culture témoin est réalisée en imbibant les disques avec le solvant d'extraction.

Après la diffusion, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries et 25°C pendant 48h pour les levures.

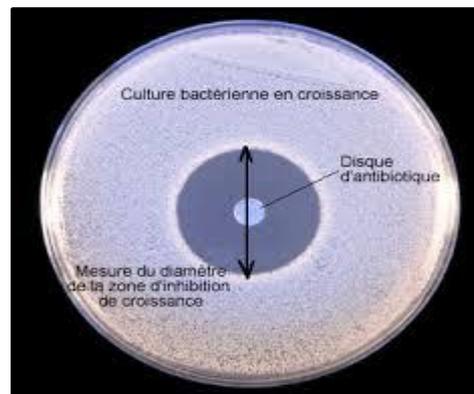


Figure n° 11: l'antibiogramme par les disques (www.ac-grennoble.fr).

➤ **Lecture**

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait végétal (**Ponce et al., 2003**).

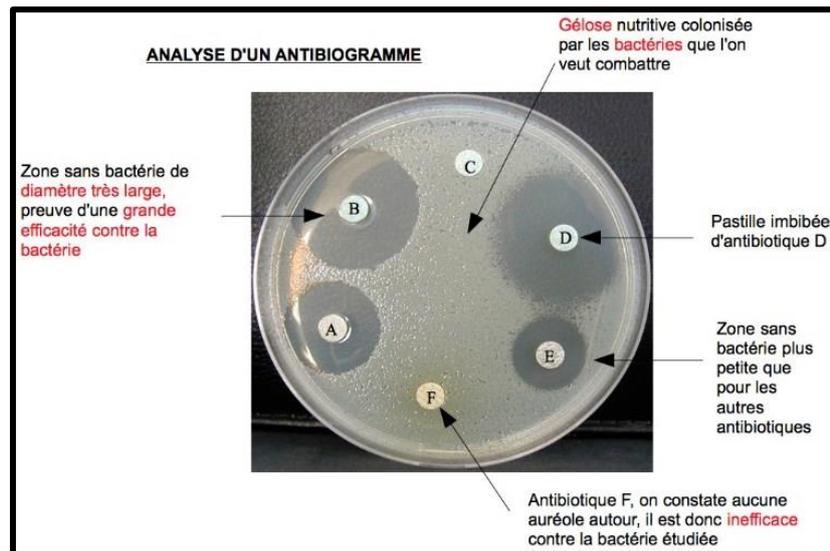


Figure n°12 : analyse d'un antibiogramme (www.education-numerique.org).

Tableau 5 : estimation de la sensibilité des souches aux extrait (Ponce *et al.*, 2003).

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Sensibilité des souches
$D \leq 6$	Résistantes
$D \leq 8$	Légèrement inhibitrice
$9 \leq d \leq 14$	Modérément inhibitrice
$15 \leq d \leq 19$	Fortement inhibitrice
$D \geq 20$	Très fortement inhibitrice

Résultats et Discussion

Dans cette partie nous avons exposé les résultats concernant le screening phytochimique, la caractérisation spectrale et enfin, l'évaluation de l'activité antimicrobienne de plusieurs extraits polyphénoliques de *Matricaria chamomilla* L. et *Chamaemelum nobile* L.

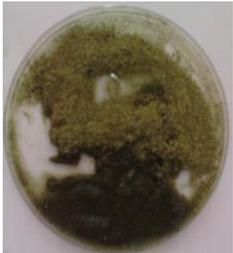
III.1. Screening phytochimique

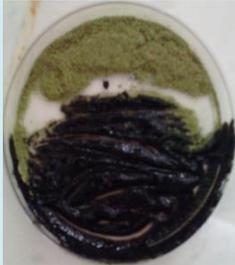
Le screening phytochimique a permis de nous renseigner sur les différentes classes des métabolites secondaires constituant les deux plantes. Ce qui facilite le choix des substances bioactives à étudier.

L'ensemble des résultats du screening phytochimique effectué sur la poudre et l'infusé de la *Matricaria chamomilla* L. et *Chamaemelum nobile* L. sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : résultats des tests phytochimique de la partie aérienne (les fleurs et les feuilles) de deux plantes médicinales *Matricaria chamomilla* L. et *Chamaemelum nobile* L.

Composés mis en évidence	Résultat positive	Source végétale	
		<i>Matricaria chamomilla</i> L.	<i>Chamaemelum nobile</i> L.
Tanins totaux	Coloration bleu noire		
		+++	+++
Tanins galliques	Coloration bleu foncé		
		+++	+++

<p>Tanins Catéchiqes</p>	<p>Coloration rouge</p>	 +++	 +++
<p>Anthocyanes</p>	<p>Coloration rouge</p>	 -	 -
<p>Saponosides</p>	<p>Précipité blanc</p>	 +++	 +++
<p>Alcaloïdes</p>	<p>Coloration rouge</p>	 ++	 ++
<p>Amidon</p>	<p>Coloration bleu violette</p>	 -	 -

Flavonoïdes	Coloration rouge- orange		
		+++	+++
Mucilage	Précipité floconneux		
		+++	+++
Glucosides	Coloration rouge brique		
		+++	+++

Avec :

(-) : Absence de substance.

(+) : Faible teneur en substance.

(++) : Moyenne teneur en substance.

(+++): Forte teneur en substance.

D'après les résultats regroupés dans le (tableau 6), il s'avère que la poudre des feuilles et des fleurs de deux espèces étudiées, est très riche en glucosides, mucilages, flavonoïdes, tanins totaux, saponosides, tanins catéchiques, tanins galliques, et en alcaloïdes. Cependant on note une absence totale des anthocyanes et de l'amidon. A partir de ces résultats, on constate la caractérisation chimique de deux plantes a démontré qu'elles possèdent les mêmes compositions chimiques.

Nos résultats sont relativement différents avec ceux obtenus par **Mezhoudi et Moulla (2015)**, ces derniers ont trouvés chez les mêmes espèces un faible taux en flavonoïdes, mucilages et une absence des tanins, par contre ils sont en accord avec nos données concernant l'absence d'amidon, d'anthocyane, et la présence des tanins galliques et glucosides.

En comparaison avec d'autres études réalisées sur d'autres plantes de la famille des *Astéracées*, nos résultats sont dans le même sens que ceux d'**Alilou, (2012)** sur l'abondance des alcaloïdes, des tanins catéchiques, et des saponosides dans les fleurs d'*Asteriscus graveolens* et *Asteriscusim bricatus*.

Par ailleurs, à travers l'étude de **Saihi, (2002)** on constate la présence des tanins totaux dans la plante *Artemiciacam pestrus*. Ce résultat cité précédemment, nous renseigne sur certains composés polyphénoliques existant chez la famille des *Astéracées*.

Il est bien établi que le profil phytochimique d'une plante est directement lié aux conditions de l'environnement telles que le climat, la localisation géographique, la température, la photopériode, le stade végétatif, etc. Ces facteurs influent sur les voies de synthèse des composés actifs de la plante (**Tsai et al., 2008**).

Selon **Harrar (2012)**, les polyphénols peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les micro-organismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique.

III.2. Extraction et caractérisation des polyphénols totaux

III.2.1. Le rendement d'extraction

Les parties aériennes (les feuillettes et les fleurs) de deux plantes *Chamaemelum nobile* L. et *Matricaria chamomilla* L. ont été soumises à trois types d'extractions des composés phénoliques, ces méthodes sont basées sur la macération de la poudre avec des solvants : méthanol et chloroforme et afin de se rapprocher plus aux préparations traditionnelles, nous avons utilisé seulement de l'eau chaude pour l'obtention de l'extrait aqueux.

Le rendement d'extraction de chaque échantillon nous permet non seulement d'apprécier les extraits totaux issus de chaque espèce, mais également d'envisager la quantité d'organe à prélever en cas de besoin.

Le tableau ci-dessous présente les rendements des différents extraits.

Tableau 7 : rendement d'extraction des différents extraits.

	Extraction des polyphénols		
	Méthanolique	Chloroformique	Aqueux
<i>Chamaemelum nobile</i> L.	8.5%	0.84 %	10%
<i>Matricaria chamomilla</i> L.	6%	0.64%	9.92%

A travers l'analyse des rendements d'extraction, il ressort que l'extrait aqueux donne le meilleur rendement pour les deux espèces de camomille suivi du méthanol et enfin le chloroforme (**Annexe 4**).

A partir des résultats obtenus on note que les polyphénols sont plus abondants dans les extraits de poudre de *Chamaemelum nobile* L. que chez *Matricaria chamomilla* L. La richesse de ces deux plantes en polyphénols est confirmée préalablement lors de screening phytochimique.

D'autre part, nos résultats montrent des rendements d'extraction légèrement différents entre ces deux espèces ; qui peuvent s'expliquer par différents facteurs y compris le diamètre de la poudre et la température.

Comparant aux travaux de **Benchikh, (2012)**, il ressort que *Matricaria chamomilla* L. présente un taux fort en polyphénols soit 17.18 % pour extraction par méthanol, 0.54 % pour l'extraction par chloroforme et 18.56 % pour extrait aqueux pour 100g de poudre. Ces résultats sont comparables à celle rapportés dans notre étude.

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction des conditions du développement et de croissance, la maturité, le conditionnement, les conditions de stockage et par les méthodes d'extraction (**Zang et Hamauru, 2003**).

Par ailleurs, la méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement du solvant à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

III.2.2. Caractérisation spectrale des polyphénols totaux

Concernant le dosage des polyphénols réalisé selon la méthode de Folin Ciocalteu. Cette dernière nécessite l'établissement d'une courbe d'étalonnage en l'acide gallique comme standard (**Annexe 5**).

Le dosage est effectué uniquement sur l'extrait méthanolique, les résultats obtenus sont de l'ordre de 0.016 mg / ml à 0.017 mg/ ml pour *Matricaria chamomilla* L. et *Chamaemelum nobile* L. respectivement. Ce résultat minimise confirme bien que le méthanol n'est pas le meilleur solvant d'extraction.

Concernant les deux autres extraits (aqueux et chloroformique), faute de quantité, ce dosage n'a pas pu être effectué.

III.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Lors du test antimicrobien, on a noté que les différents extraits polyphénoliques obtenus à partir de la *Matricaria chamomilla* L et *Chamaemelum nobile* L agissent différemment vis-à-vis des souches testées.

Les résultats relatifs aux diamètres des zones d'inhibition de l'effet des différents extraits polyphénoliques sont représentés dans les tableaux allant de 8 à 10 et les figures 13 à 18.

Tableau 8 : résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile* L. (grande camomille) et *Matricaria chamomilla* L. (petite camomille).

Les souches		Essais		Moyenne de diamètre d'inhibition (mm)		Témoins	
		Ech.I	Ech.II	Ech.I	Ech.II	Ech.I	Ech.II
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10	10±1	10±1	6±0	6±0
		8	8	Sensible	Sensible	Résistante	Résistante
		12	12				
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	13	12	11.33±0.83	11.66±0.83	6±0	6±0
		11	10	Sensible	Sensible	Résistante	Résistante
		10	13				
Gram négatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	12	12.66±0.38	9±2	6±0	6±0
		13	8	Sensible	Sensible	Résistante	Résistante
		11	7				
	<i>Escherichia coli</i>	11	10	12.66±1.16	10.66±0.66	6±0	6±0
		12	12	Sensible	Sensible	Résistante	Résistante
		15	10				
Champignon	<i>Fusarium sp.</i>	6	6	6±0	6±0	6±0	6±0
		6	6	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
		6	6				
Levure	<i>Candida albicans</i>	6	6	6±0	6±0	6±0	6±0
		6	6	Résistante	Résistant	Résistante	Résistante
		6	6				

Avec : **Ech.I** : *Chamaemelum nobile* L. **Ech.II** : *Matricaria chamomilla* L.

Figure n°13 : photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile* L.

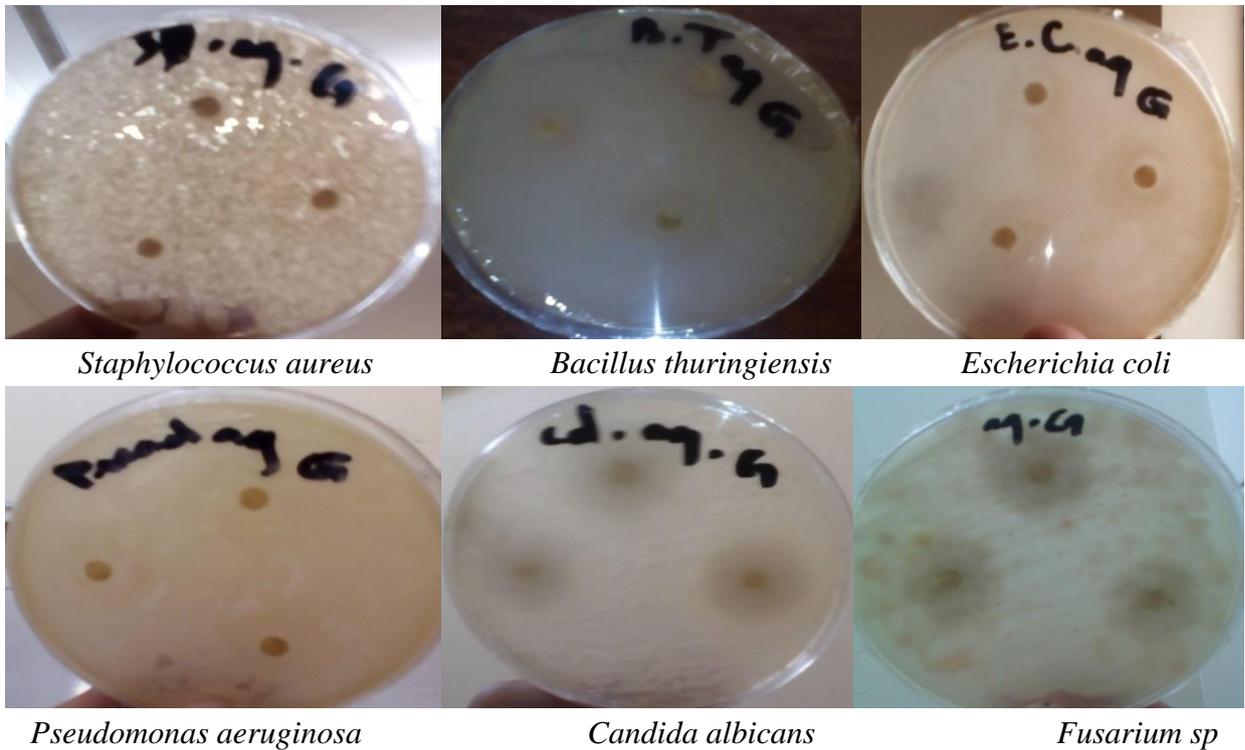
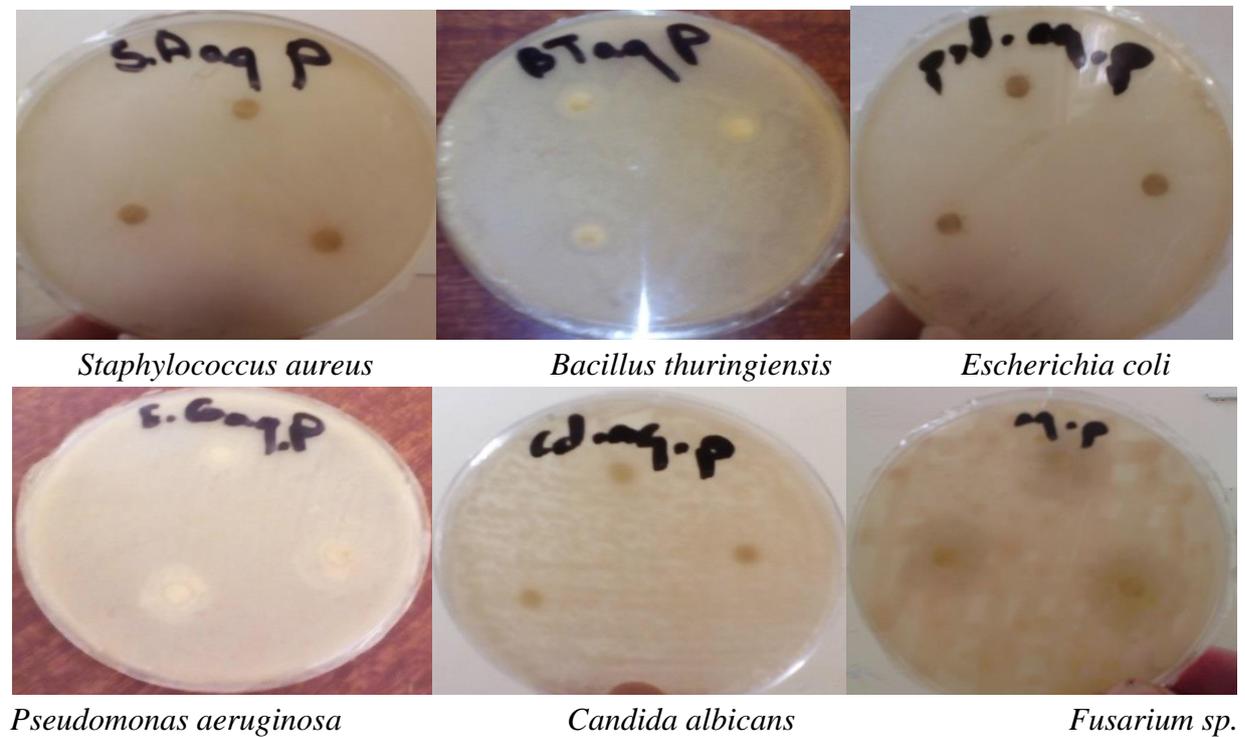


Figure n° 14: photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Matricaria chamomilla* L.



D'après l'antibiogramme réalisé, on note que l'extrait aqueux de deux plantes ayant une activité modérément inhibitrice vis-à-vis à toutes les souches bactériennes a caractères Gram positif et Gram négatif, dont la moyenne de diamètre d'inhibition variant entre 9-11 mm pour *Matricaria chamomilla* L. et entre 10-12 mm pour *Chamaemelum nobile* L.

En ce qui concerne les flores fongique, *Candida albicans* et *Fusarium sp* ont montré une résistance à l'extrait aqueux.

Tableau 9 : résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Chamaemelum nobile* L. (grande camomille) et *Matricaria chamomilla* L. (petite camomille).

Les souches		Essais		Moyenne de diamètre d'inhibition (mm)		Témoins	
		Ech.I	Ech.II	Ech.I	Ech.II	Ech.I	Ech.II
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	6	6	6±0	6±0	6±0	6±0
		6	6	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
		6	6				
	<i>Bacillus Thuringiensis</i>	11	11	10±1.5	9.66±1.33	6±0	6±0
		12	11	Sensible	Sensible	Résistante	Résistante
		7	7				
Gram négatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	20	8.66±0.83	22.5±1.66	6±0	6±0
		9	25	Sensible	Sensible	Résistante	Résistante
		7					
	<i>Escherichia coli</i>	6	6	6±0	6±0	6±0	6±0
		6	6	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
		6	6				
Champignon	<i>Fusarium sp.</i>	6	6	6±0	6±0	6±0	6±0
		6	6	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
		6	6				
Levure	<i>Candida albicans</i>	6	6	6±0	6±0	6±0	6±0
		6	6	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
		6	6				

Avec : **Ech.I** : *Chamaemelum nobile* L. **Ech.II** : *Matricaria chamomilla* L.

Figure n°15 : photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Chamaemelum nobile* L.

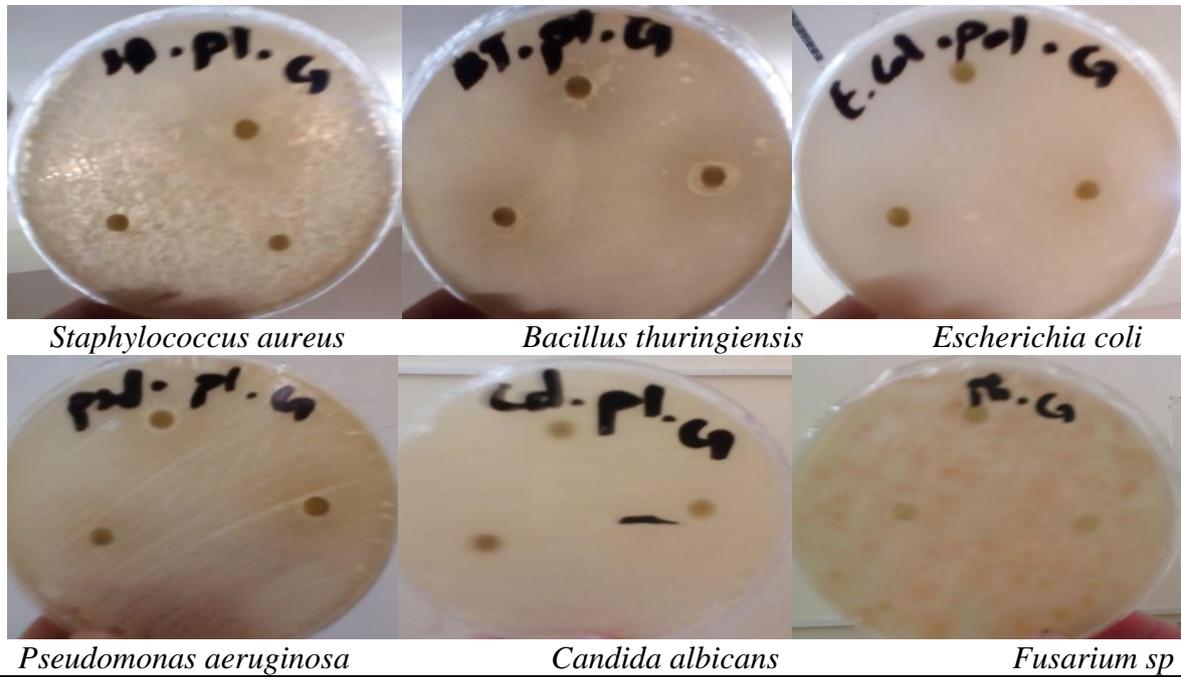
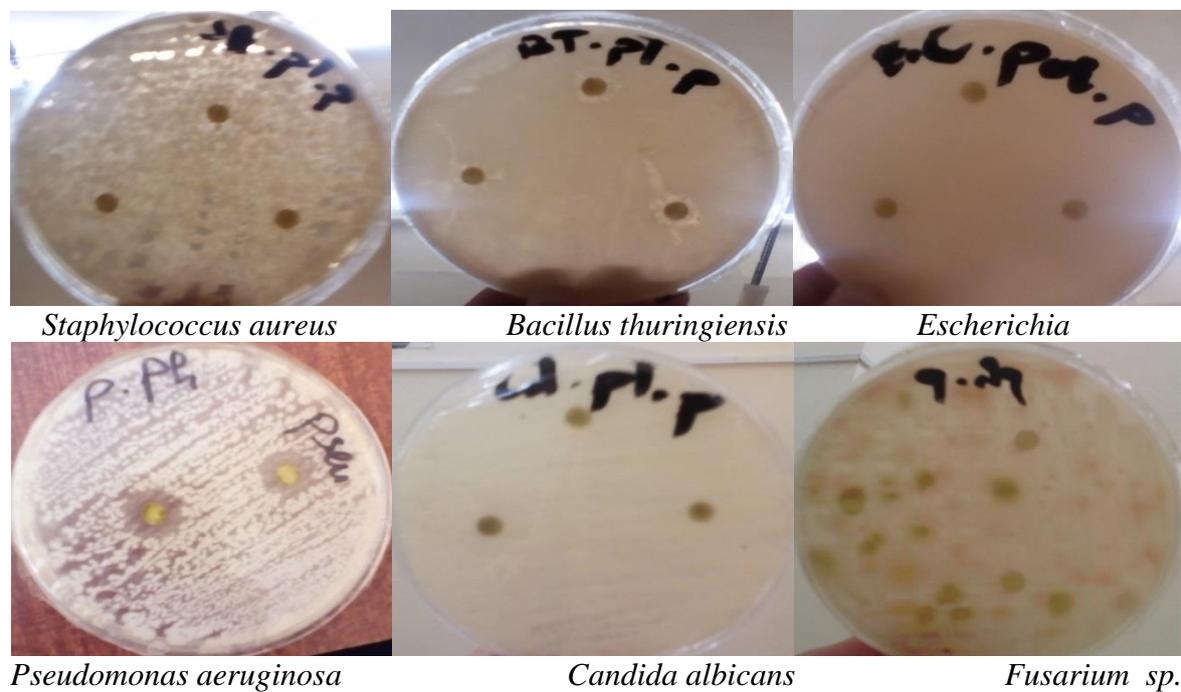


Figure n°16: photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Matricaria chamomilla* L.



Les résultats ci-dessus montrent que l'extrait méthanolique à une activité modérément inhibitrice sur *Bacillus thuringiensis* avec une moyenne de diamètre d'inhibition de 10 mm et 9.66 respectivement pour *Chamaemelum nobile* L. et *Matricaria chamomilla* L.

Par ailleurs, on note que *Matricaria chamomilla* L. possède une forte activité inhibitrice avec une valeur élevée de 22.5 mm contre *Pseudomonas aeruginosa*, par contre pour *Chamaemelum nobile* L., on observe une moyenne sensibilité sur celle-ci avec un diamètre de 8.66 mm.

Pour le reste des souches microbiennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Fusarium sp.* et *Candida albicans*), elles se sont révélées résistantes pour les deux espèces végétales.

Tableau 10 : résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait par chloroformique de *Chamaemelum nobile* L. (grande camomille) et *Matricaria chamomilla* L. (petite camomille).

Les souches		Essais		Moyenne de diamètre d'inhibition		Témoins	
		Ech.I	Ech.II	Ech.I	Ech.II	Ech.I	Ech.II
Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	6	6	6±0	6±0	6±0	6±0
		6	6	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
		6	6				
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	9	10	8.66±.033	9.33±0.66	6±0	6±0
		9	8	Sensible	Sensible	Résistante	Résistante
		8	10				
Gram négatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	10	10±1.5	10.33±0.83	6±0	6±0
		7	12	Sensible	Sensible	Résistante	Résistante
		12	9				
	<i>Escherichia coli</i>	6	6	6±0	6±0	6±0	6±0
		6	6	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
		6	6				
Champignon	<i>Fusarium sp.</i>	6	6	6±0	6±0	6±0	6±0
		6	6	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
		6	6				
Levure	<i>Candida albicans</i>	6	6	6±0	6±0	6±0	6±0
		6	6	Résistante	Résistante	Résistante	Résistante
		6	6				

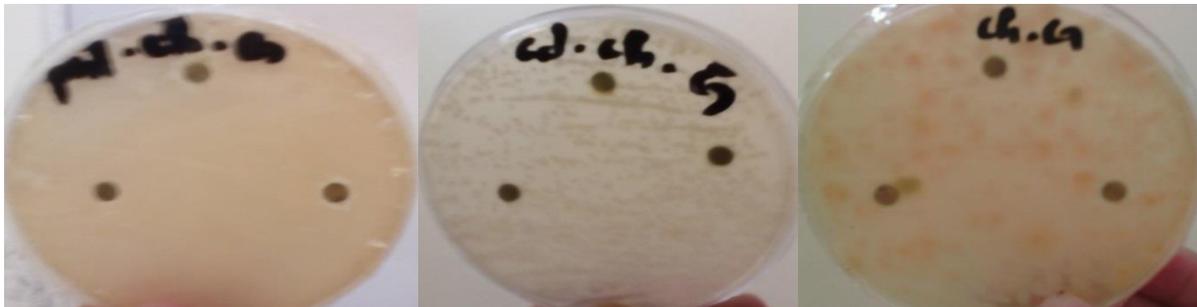
Figure n°17 : photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique de *Chamaemelum nobile* L.



Staphylococcus aureus

Bacillus thuringiensis

Escherichia coli



Pseudomonas aeruginosa

Candida albicans

Fusarium sp.

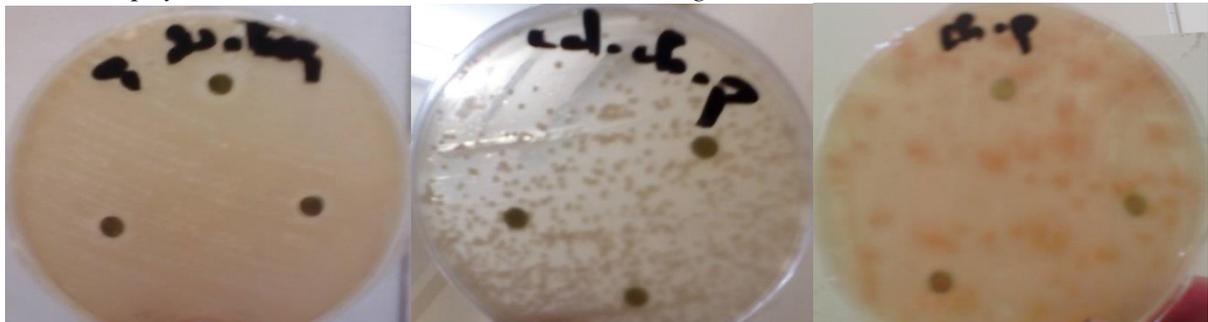
Figure n°18 : photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique de la *Matricaria chamomilla* L.



Staphylococcus aureus

Bacillus thuringiensis

Escherichia coli



Pseudomonas aeruginosa

Candida albicans

Fusarium sp.

L'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique a montré un effet moyennement inhibiteur contre *Bacillus thuringiensis* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres qui oscillent entre 8.66 mm à 9.33 mm respectivement pour *Chamaemelum nobile* L. et *Matricaria chamomilla* L., à l'encontre de *Bacillus thuringiensis* et des diamètres de 10-10.33 mm respectivement pour *Chamaemelum nobile* L. et *Matricaria chamomilla* L. vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*.

Cependant les autres souches microbiennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Fusarium sp* et *Candida albicans*) sont révélées résistantes.

On ce qui concerne les témoins (eau, chloroforme, méthanol), ils n'ont aucun effet sur les souches microbiennes testées.

Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (Falleh *et al.*, 2008), ceci peut être attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Ces travaux ne sont pas en accord avec nos résultats qui ont émergé une résistance de *Staphylococcus aureus* et une sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des extraits méthanolique et chloroformique.

En comparaison avec d'autre étude réalisée sur ces plantes, obtenue par Mezhoudi et Moulla (2015), il ressort que l'activité antimicrobienne des huiles essentielle de *Chamaemelum nobile* L. et *Matricaria chamomilla* L. présentent une moyenne activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans* avec des diamètres limités entre 8-10 mm.

Par ailleurs, l'étude de Naili *et al.*, (2010), sur l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris*, une plante de la famille des *Astéracées*, montre que cet extrait possède un effet inhibiteur sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* contrairement à notre travail où aucune activité a été marquée par l'extrait méthanolique de deux espèces de camomille vis-à-vis à ces souches bactériennes.

D'après les résultats obtenus on note que l'extrait aqueux possède un effet inhibiteur sur toutes les souches bactériennes testées, soit Gram positif ou bien Gram négatif, contrairement aux les deux extraits chloroformique et méthanolique, sachant que ces trois extraits n'ont aucun effet inhibiteur sur la flore fongique étudiée.

Le chloroforme et le méthanol ne sont pas les dans le cas de notre expérimentation les meilleurs solvants d'extraction des polyphénols pour *Chamaemelum nobile* L. et *Matricaria chamomilla* L. mais l'eau est considérée comme un bon extracteur des polyphénols pour ces deux plantes. On note aussi que les polyphénols de deux espèces sont beaucoup plus solubles dans l'eau que dans les deux autres solvants.

L'inactivité des extraits méthanoliques et chloroformiques peut être due aussi à la méthode d'extraction utilisées. En effet, **Hayouni et al., (2007)** ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antimicrobienne des composés phénoliques. D'autre part la charge du disque influe aussi sur l'activité antimicrobienne.

Si l'on se réfère aux études de **Moussaid et al., (2012)**, l'activité des principes actifs serait liée aux conditions de séchage et de broyage de la plante. Car le broyage est aussi à l'origine de la génération de chaleur responsable de la perte des molécules volatiles ainsi que la décomposition et l'oxydation des molécules thermolabiles (**Jones et Kinghorn, 2005**).

L'absence d'inhibition totale de la part des trois extraits contre les souches fongiques est expliquée par le fait que la concentration fongicide est supérieure aux concentrations effectuées dans cette étude.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments. Parmi ces plantes, on cite *Chamaemelum nobile* L. et *Matricaria chamomilla* L. de la famille d'*Asteraceae*.

Le présent travail a été consacré à l'étude phytochimique et l'évaluation de la activité antimicrobienne de différents extraits polyphénoliques de ces deux espèces végétales.

En premier lieu, les tests phytochimiques effectués montrent la richesse de ces deux espèces en tannins totaux, tannins galliques, tannins catéchiques, saponosides, alcaloïdes, flavonoïdes, mucilages et glucosides, et l'absence total d'amidon et les anthocyanes.

D'autre part, la macération a montré que les polyphénols de *Chamaemelum nobile* L. présente des rendements estimés de 10%, 8,5% et 0.84% respectivement pour l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique et l'extrait chloroformique ; ces rendements sont relativement important que les polyphénols de *Matricaria chamomilla* L., soit 9.92%,6% et 0.64% respectivement pour l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique et l'extrait chloroformique. Cette variation dans les taux de rendements est liée aux facteurs climatiques, à la nature de sol et la méthode d'extraction elle-même.

Quantitativement, l'évolution du contenu polyphénolique d'un extrait méthanolique en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des petites quantités en polyphénols dans les deux plantes étudiées, soit 0.016 mg/ml pour *Matricaria chamomilla* L, soit 0.017 mg/ml pour *Chamaemelum nobile* L. Ce résultat confirme bien que le méthanol n'est pas le meilleur solvant d'extraction.

Au cours de cette étude, les résultats de l'activité antimicrobienne ont montré que les trois extraits polyphénoliques ont une activité moyennement inhibitrice, et ils ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées sauf la flore fongique. Sachant que l'extrait méthanolique de *Matricaria chamomilla* L. a une forte activité vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* par une zone d'inhibition estimé de 22.5mm.

Enfin, la présente étude montre la richesse de ces deux plantes en composés phénoliques, ce qui montre l'importance de leurs utilisations en médecine locale comme agents antimicrobiens.

En perspective, il serait souhaitable de :

- Tester l'effet des autres molécules bioactives associées à ces plantes comme les alcaloïdes.
- Evaluer l'activité antimicrobienne sur une large gamme d'agents pathogènes.
- Valoriser d'autres activités biologique comme l'anti-inflammatoire, anti-cicatrisante et antiallergique.

Références bibliographiques

A

- **Alilou H., 2012.** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens subsp. Odorus (Schousb.) Greuter* et *Asteriscus imbricatus (Cav.) DC.* Thèse de doctorat. Université Ibn Zohir. Faculté des sciences. Agadir.171p.

B

- **Bellakhdar J., 2006.** Plantes médicinales au Maghreb et soins de base, Précis de Phytothérapie Moderne. Editions Le Fennec. Casablanca, Maroc. 385p .Pp : 32-210.
- **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Ed. Tec & Doc/Lavoisier, Paris. Pp : 521-4.
- **Boutaoui N., 2012.** Recherche et détermination structurale de métabolites secondaires de *Matricaria Chamomilla* (Asteraceae), Etude de la phase acétate d'éthyle. Magister en Chimie Organique. Université Constantine, Faculté des Science Exactes.154p.
- **Babenko N.A. et Shakhova E.G., 2006.** Effects of *Chamomilla recutita* flavonoids on age-related liver sphingolipid turnover in rats. *Experimental Gerontology*. 41(1): 32- 39.
- **Boizot N., and Charpentier J.P., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra. Pp : 79-82.
- **Broadasky T.F., Lewis C. and Eble T.E., 1976.** Bio autographic thin layer chromatophic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. Clindamycin in the rat. 123: 33-44.
- **Biller Beck., 2007.** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*. 5 :249-253.
- **Belhattab R., 2007.** Composition chimique et activité antioxydante, antifongique et antiaflatoxinogene d'extraits d'*Origanum glandulosum* Desf. et *Marrubium vulgare* L (famille des Lamiaceae). Thèse de doctorat d'état. Dépt Biologie, UFA Sétif.
- **Benchikh D., 2012.** Polyphenols and antioxidant properties of extracts from *Mentha pulegium* L. and *Matricaria camomilla* L. Magister en biochimie, UFA Sétif.62p.
- **Billing J. and Sherman P. W., 1998.** Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. *Q. Rev. Biol.*73: 3-49.

C

- **Cherboudj O., 2014.** Etude phytochimique et activité antioxydante de *Matricaria pubescens* (Desf.) Sch. Bip. et *Chrysanthemum deserticum* Batt. & Trab. (Asteraceae). Thèse de Doctorat. Université Constantine, Faculté des Science Exactes.
- **Cowan M., 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 564-582.
- **Conforti F., Sosa S., Marrelli M., Menichini F., Statti G.F., Uzunov D., Tubaro A. et Loggia R.D., 2008.** In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *Journal of Ethnopharmacology* .116(1): 144-151.
- **Catier O. et Roux O., 2007.** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3^{ème} Ed. Wolthers Kluner, p112.
- **Cavallo J.D., Chardon H., Chidias C., Choutel P. et Courvalin P., 2006.** Communiqué du comité français de l'antibiogramme. Société française de microbiologie. 2^{ème} Ed. 65-145.
- **Cassella S., Cassella J.P. and Smith I., 2002.** Synergistic antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils against dermatophyte infection. *The International Journal of Aromatherapy*. 12: 2-15.

D

- **Daglia M., 2012.** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. 23(2): 174-181.
- **Dezso C., 2011.** Assessment report on *Chamaemelum nobile* L. All., flos, Committee on Herbal Medicinal Products. 19p.

E

- **El-Rhaffari L., Zaid A., 2004.** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes, 293-318.

F

- **Fourasté I., 2007.** Etude botanique "La camomille, *Matricaria recutita* L, Asteraceae". Art & Caractère Lavour, Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Toulouse. *Art & Caractère Lavour*.15p.
- **Falleh H., Kousri R., Chaieb K., Karray- Boutaoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. Organs, and their biological activities .C.R.Biologies. 331:372-379.

G

- **Gaussen H. et Leroy H. F., 1982.** Précis de Botanique (végétaux supérieurs). 2^{ème} Ed. 426p.
- **Guignard J.L., 1994.** Abrégé Botanique. 9^{ème} Ed. 204p.
- **Goetz P. et Ghidira DJ., 2012.** Phytothérapie anti-infectieuse. Springer-Verlag France, Paris.382p.
- **Guignard J. L., Cossen L. et Llenry M., 1985.** Abrégé de phytochimie.121p.
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M., 2001.** Le préparateur en pharmacie dossier. 2^{ème}Ed, TEC & DOC. Paris. 275p.
- **Gopal Rao G., 1999.** Risk Factors for the Spread of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Drugs*. 55: 323-330.
- **Gardiner P., 1999.** Chamomile (*Matricaria recutita*, *Anthemis nobilis*). *The Longwood Herbal Task Force*.21p.
- **Gherboudj O., 2014.** étude phytochimique et activité antioxydante de *matricaria pubescens* (desf.) sch. bip. et *chrysanthemum deserticum* batt. & Trab. (Asteraceae).Thèse de Doctorat en Chimie pharmaceutique. Université Constantine .219p

H

- **Hussain A.I., Anwar F., Nigam P.S. and Sarker S.D., 2010.** Antibacterial activity of some Lamiaceae essential oils using reassuring as an indicator of cell growth, LWT – Food Science and Technology. 44: 1199-206.

- **Hopkins W.G., 2003.** Physiologie végétale. 2^{ème} Ed américaine, de Boeck et Lancier SA, Paris.514p.
- **Hammer K.A., Carson CF. and Riley T.V., 1999.** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86: 985–986.
- **Harrar A.E.N., 2012.** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Magister en Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbas, Sétif.67p.

I

- **Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E et al., 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins.2^{ème} Ed de VUEF, Hong Kong. 335p.

J

- **Jürgen R., Paul S., Ulrike S., and Reinhard S., 2009.** Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties an Overview: *Forsch Komplementmed.*16: 79–90.
- **Jones G.A., MacAllister, T.A., Muir, A.D. and Cheng, K.J., 1994.** Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop). Condensed tannins on the growth and proteolysis by four strains of ruminal bacterial. *Applied Environmental Microbiology.* 60(4): 1374-1378.
- **Jones W.P., Kinghorn A.D., 2005.** Extraction of plant secondary metabolites. *Natural Product Isolation.* Humana Press (Totowa). 323- 411.

K

- **Kato A., Minoshima Y., Yamamoto J., Adachi I., Awatson A. and Nash R.J., 2008.** Protective Effects of Dietary Chamomile Tea on Diabetic Complications. *J. Agric. Food Chemistry.* 56 : 8206-8211.
- **Khanbabae K. and Ree T.R., 2001.** Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry.* 18: 641-649.

- **Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., Abdely C., 2008.** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *C.R. Biol.* 331: 865- 873.

L

- **Lugasi A., Hovari J., Sagi K. and Biro L., 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J.Acta.biologica. Szegediensis.* 47 (14):119-125.
- **Lapornik B., Prosek M. and Wondar A.G., 2005.** Comparison of extracts prepared from plant by-product using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering.* 71:214-222.

M

- **Mezache N., 2010.** Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille Asteraceae: *Senecio giganteus Desf, et Chrysantemum myconis* L. Thèse doctorat, Université Mentouri Constantine.
- **Mimica-Dukic N., Bozin B., Sokovic M. and Simin N., 2006.** Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J Agric Food Chem.* 54(5): 1822-8.
- **Mourice N., 2013.** *Chamaemelum nobile* (camomille romain). Bulletin d'information, Hunzaroma Inc.
- **Mirunalini S. and krishnaveni M., 2011.** Coumarin: A Plant derived Polyphenol with wide Biomedical Applications. *International Journal of Pharm Tech Research.* 3(3): 1693-1696.
- **Moure A., Cruz J.M., Franco D., Manuel Dominguez J., Sineiro J., Dominguez H., Nunez M.J. and Carlos Parajo J., 2001.** Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry.* 72(2): 145-171.
- **Meena M.R. and Sethi V., 1994.** Antimicrobial activity of essential oils from species. *J of foodSci.Tech.Mysore.* 31(1):68-70.
- **Manach, C., A. Scalbert, C. Morand, C. Remesy and L. Jimenez (2004).** "Polyphenols: Food sources and bioavailability." *American Journal of Clinical Nutrition.* 79 (5): 727-747.

- **Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides T.C., 2000.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-839.
- **Macheix J.J., Fleuriet A and Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne. Pp : 4-5.
- **Moussaid M., Elamrani A.A., Berhal C., Moussaid H., Bourhim1 N., Benaissa M., 2012.** Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two plants from the *Lamiaceae* family: *Marrubium vulgare* L. and *Origanum majorana* L. *International Journal of Natural Products Research*. 1 (1): 11-13.
- **Mezhoudi S et Moulla A., 2015.** Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et l'activité antioxydant des polyphénols de deux espèces de Camomille de la région de Boumerdès. Master Académique en biologie. Université M'Hamed Bougara Boumerdès. Faculté des Sciences.68p.
- **Messai A., 2011.** Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est Algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse de Doctorat des sciences en Chimie Organique. Université Mentouri Constantine.96p.

N

- **Nelly C.B., 2013.** Price en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie. Thèse d'Etat de docteur en pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier. Faculté des sciences pharmaceutiques.192p.
- **Naili M.B., Alghazeer O.A., Saleh N.A. and Al-Najjar A.Y., 2010.** Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Asteraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem.* 3: 79–84.

O

- **Ojeil A., El Darra N., El Hajj Y., Bou Mouncef P., Rizk T.J., et Maroun R.G., 2010.** Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin château Ksara. *Libanaise Science Journal*.11 :117-131.

P

- **Pierre M. et Lys M., 2007.** Secrets des plantes pour se soigner naturellement. Editions Artémis, Slovaquie. Pp : 89-198.
- **Pottier G., 1981.** Artemisia herba-alba. Flore de la Tunisie: angiospermes dicotylédones–gamopétales. 1012p.
- **Park E.J. et Kim J., 1998.** Planta Medica. 752p.
- **Paris R. et Nothis A., 1978.** Plante médicinales, phytothérapie. Tome I. Ed Masson, Paris. Pp : 102-107.
- **Friday G., Silverblatt C.E., Slottee J.S., Smith J.C. and Todd D.B., 1999.** Liquid-solid operations and equipment, in Perry's chemical engineers 'handbook'- 7th Ed, Perry R.H., Green w., Maloney J.O. The McGraw-Hill Companies, Inc., Etats Unis d'Amérique.
- **Paris M et Hurabielle., 1981.** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris. 102p.
- **Ponce A.G., Fritz R., Del valle C. and Roura S.I., 2003.** Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology (Elsevier)*. 36:679-684.
- **Pino J., Martí M.P., Mestres M., Pérez J., Busto O., and Guasch J., 2002.** Headspace solid-phase microextraction of higher fatty acid ethyl esters in white rum aroma. *Journal of Chromatography A. n°1. Ed Elsevier*. 954p. Pp: 51-57.

Q

- **Quezel P. & Santa S., 1963.** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Edition du centre national de la Recherche scientifique. Paris. 788 p.

R

- **Revilla E., Garcia-Beneytez E., Gabello F., Martin-ortega M. et Ryan J. M., 2001.** Value of high performance liquid chromatography analysis of anthocyanin's in then differentiation of red group cultivars and red wines made from them. *Journal of chromatography*. 915:53-60.

- **Rozman T., Jersek B., 2009.** Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus Officinalis* L.) Against different species of *Listeria*. *Actaagricultura Slovenica*. 1:51-58.

S

- **Steinmetz M.D., Elias R., Maillard C., Boudon G., Régli P., Balansard G. et Ghastin C., 1993.** Recherche d'une activité antitumorale de saponosides triterpéniques. 2^{ème} Colloque Européen d'ethnopharmacologie et 11^{ème} conférence internationale d'ethnomédecine. Heidelberg, 24-27. *Médicaments et Aliments : L'Approche Ethnopharmacologique*. 331-332.
- **Seyoum A., Asres K., and El-Fiky F.K., 2006.** Structure- radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. 67: 2058-2070.
- **Sokmen A., Gulluce M., Akpulat H.A., Tepe B., Sokmen M., Ahini F., 2004.** The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extract of *Thymus eigu* M. Zogary and P.H.Davis. *J. Agric Food. Chem.* 52:1132-1137.
- **Saihi R., 2011.** Etude phytochimique, Extraction des produits actifs de la plante *Astermisia campestris* de la région de Djelfa. Mis en évidence de l'activité biologique. Magister en chimie. Université d'Oran.

T

- **Tsai P.J., Wua S.C. and ET Cheng Y.K., 2008.** Role of polyphenols in antioxidant capacity of Napier grass from different growing seasons. *Food Chemistry*. 106: 27–32.
- **Teixeira da Silva J. A., 2004.** Mining the essential oils of the *Anthemideae*. *Afr. J. Biotechnol.* 3: 706-720.

U

- **Urquiaga I. and Leighton F., 2000.** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res.*33: 55-64.
- **Ulanowska K., Majchrzyk A., Moskot M., Jak-bkiewicz-Banecka J. and W-Âgrzyn G., 2007.** Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologic.* 62: 132-135.

W

- **Wichtl M. et Anton R., 2003.** Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2^{ème} Ed, EMInter/Tec & Doc, Paris. Pp: 369-73.
- **Wong C.C., Li H.B., Cheng k.w. and Chen F., 2006.** Systematic survey of Antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem.* 97:705-711.
- **Wichtl M. et Robert A., 2003.** Plant thérapeutique. Ed. TEC et DOC, Paris. 689p.

X

- **Xia E.Q., Deng G.F., Guo Y.J. and Li H.B., 2011.** Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences.* 11 (2): 622-646.

Z

- **Zang D., Hamauru Y., 2003.** Phenolic compound, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant properties of grebe, red and yellow bell peppers, *J. Food, Agric. Environ.* 1 :22-2.

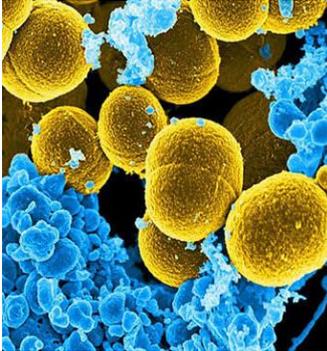
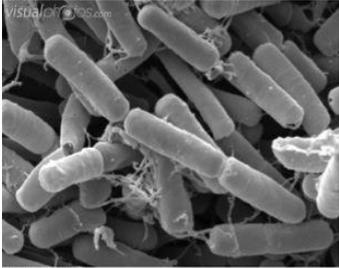
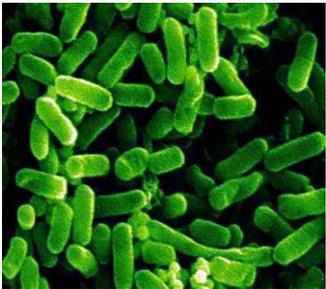
Les sites web:

- www.ac-grenoble.fr.
- www.education-et-numerique.org.

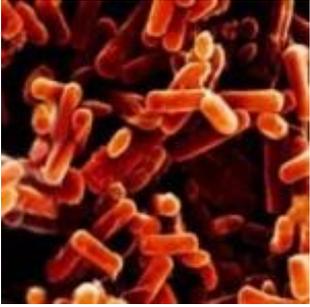
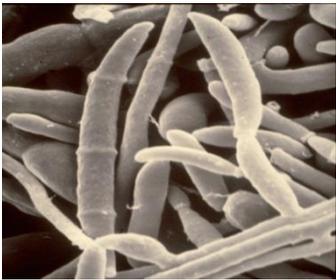
Annexes

Annexes

Annexe 1 : classification et description des microorganismes étudiées.

Espèce microbienne	Classification	Caractères biologiques
<p><i>Staphylococcus aureus</i></p> 	<p>D : Bacteria E : Firmicutes C : Bacilli O : Bacillales F : Staphylococcaceae G : Staphylococcus Espèce : <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Gram positif. - Coque en amon, immobile. - Aérobie facultatif. - Catalase⁺, oxydase⁻. - Colonisé les Muqueuses et peau. - Responsable d'infection pyogène grave.
<p><i>Bacillus thuringiensis</i></p> 	<p>D : Bacteria E : Firmicutes C : Bacilli O : Bacilles F : Bacillaceae G : <i>Bacillus</i> Espèce : <i>Bacillus thuringiensis</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Gram positif. - Bacille. - Anaérobie facultative. - spoulée.
<p><i>Escherichia coli</i></p> 	<p>D : Bacteria E : proteobacteria C : Gammaproteobacteria O : Enterobacterieles F : Enterobacteriaceae G : Escherichia Espèce : <i>Escherichia coli</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Gram négatif. - Bacille mobile. - Aérobie facultatif. - Lactase⁺, oxydase⁻. - Colonisée tube digestif. - provoquer infections des urinaires et gastro-entérites infantiles.

Annexes

<p style="text-align: center;"><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p> 	<p>D : Bacteria E : Proteobacteria C : Gammaproteobacteria O : Pseudomonadales F : Pseudomonadaceae G : Pseudomonas Espèce : <i>pseudomonas aeruginosa</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Gram négatif. - Bacille mobile. - Aérobie - Non sporulé - Responsable des infections nosocomiales.
<p style="text-align: center;"><i>Candida albicans</i></p> 	<p>D : Fungi E : Ascomycota C : Saccharomycetes O : Saccharomycetales F : Saccharomycetaceae G : <i>Candida</i> Espèce : <i>Candida albicans</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Levures ovoïdes ou rondes. - Champignons levuriformes. - Aérobie. - Un germe cutané saprophyte de la peau saine. - Un saprophyte exclusif des muqueuses- pseudo – mycélium. - Provoque des infections fongiques (Candidose).
<p style="text-align: center;"><i>Fusarium sp</i></p> 	<p>D : Fungi E : Ascomycota C : Sordariomycetes O : Hypocreales F : Nectriaceae G : <i>Fusarium</i> Espèce : <i>Fusarium sp</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> - Phytopathogène. - Mycélium aérien. - L'origine infection opportuniste chez l'homme et l'animal. - Produit des mycotoxines. - Ubiquiste. - Producteur des spores. - Saprophytes.

D : Domaine, **E** : Embranchement, **C** : Classe, **O** : Ordre, **F** : Famille, **G** : Genre

Annexes

Annexe 2 : verreries et appareillages utilisés.

Verrerie et petite matériels	Equipements et appareils
Tubes à essai + portoir tube	Bec Benzène
Boîtes de pétrie	Autoclave
Flacons stériles	Balance électronique
Béchers	Micropipette
Eprouvettes graduées	Réfrigérateur
Entonnoirs	Incubateur
Fioles	Agitateur magnétique
Pipettes graduée	Rotavapeur
Erlenmeyers	Etuve
Pipette Pasteur	Vortex
Cuvette de spectrophotomètre	Bain-Marie
Ecouvillon	Broyeur
Anse de platine	Spectrophotomètre ultraviolet-visible.
Pince stérile	Pompe à vide
Disques d'antibiotiques	
Papier filtre	
Parafilm	

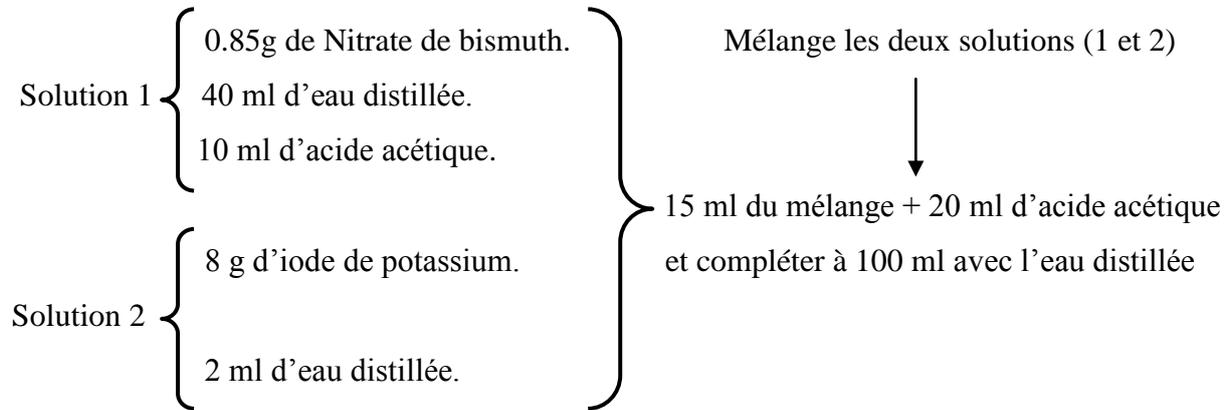
Annexes

Annexe 2 : produits utilisés.

Produits chimiques		Formule chimique
Solvants organiques	Méthanol	CH ₃ OH
	Chloroforme	ClCl ₃
	Ethanol	C ₂ H ₅ OH
	Ether	C ₄ H ₁₀ O
Réactifs	Iode	I ₂
	Réactif de Folin-Ciocalteu	/
	acétate de sodium	(CH ₃ OOH)Na
	Acétate de plomb	Pb
Acides	Acide acétique	CH ₃ COOH
	Acide chlorhydrique	HCl
	Acide sulfurique	H ₂ SO ₄
	Acide citrique	C ₆ H ₈ O ₇
Etalon	Acide gallique	C ₇ H ₆ O ₅
Sels	Carbonate de sodium	Na ₂ CO ₃
	Chlorure de fer	FeCl ₃
Autres produits	coupeau de Mg	Mg ⁺
	Formol	C ₇ H ₈
	Ammoniaque	NH ₄ OH
	Alcool iso-amylque	C ₅ H ₁₂ O

Annexe 3 : fiche techniques de réactifs.

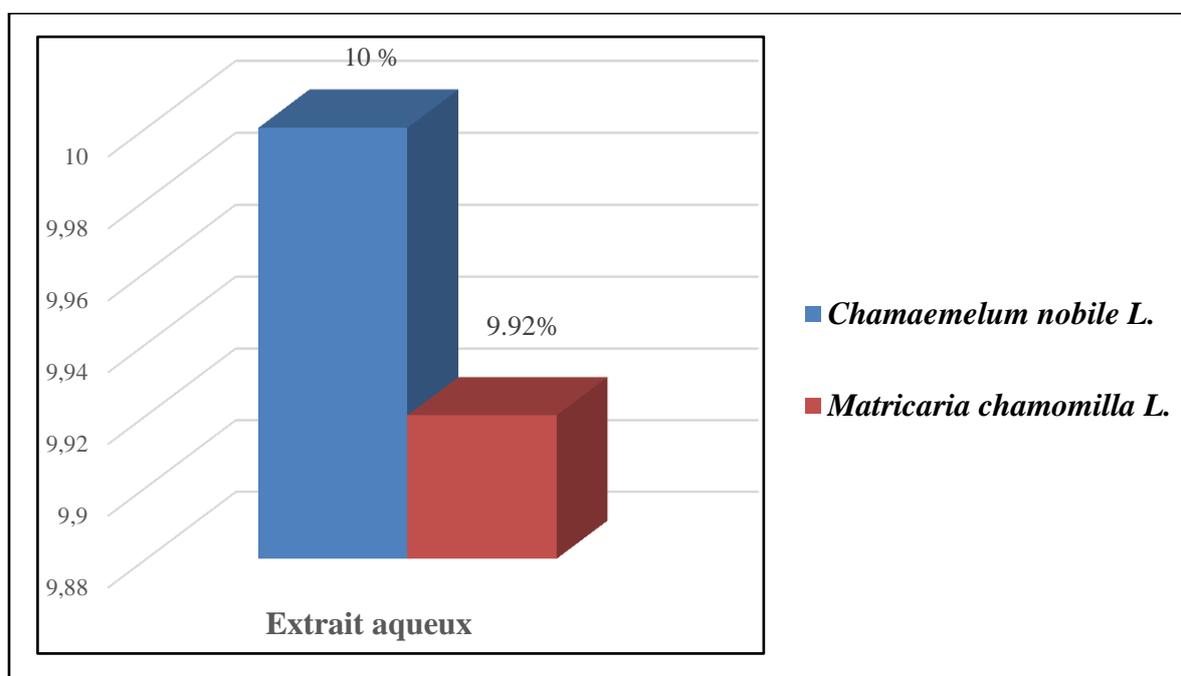
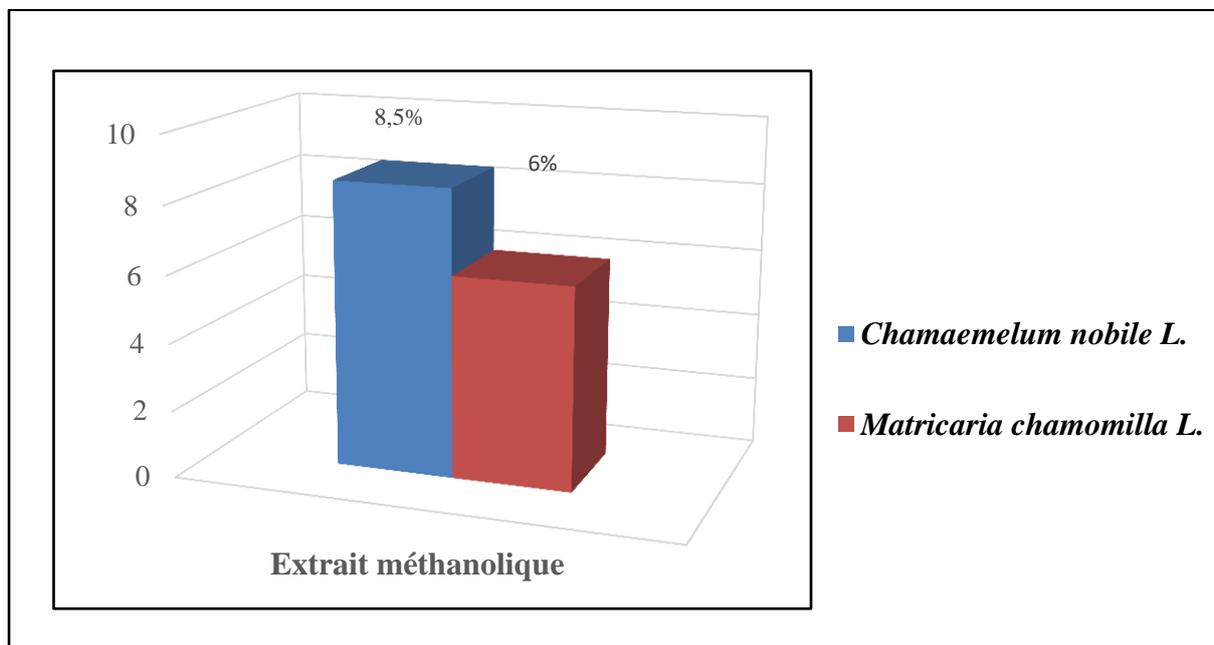
➤ **Réactif de Dragendorff :**



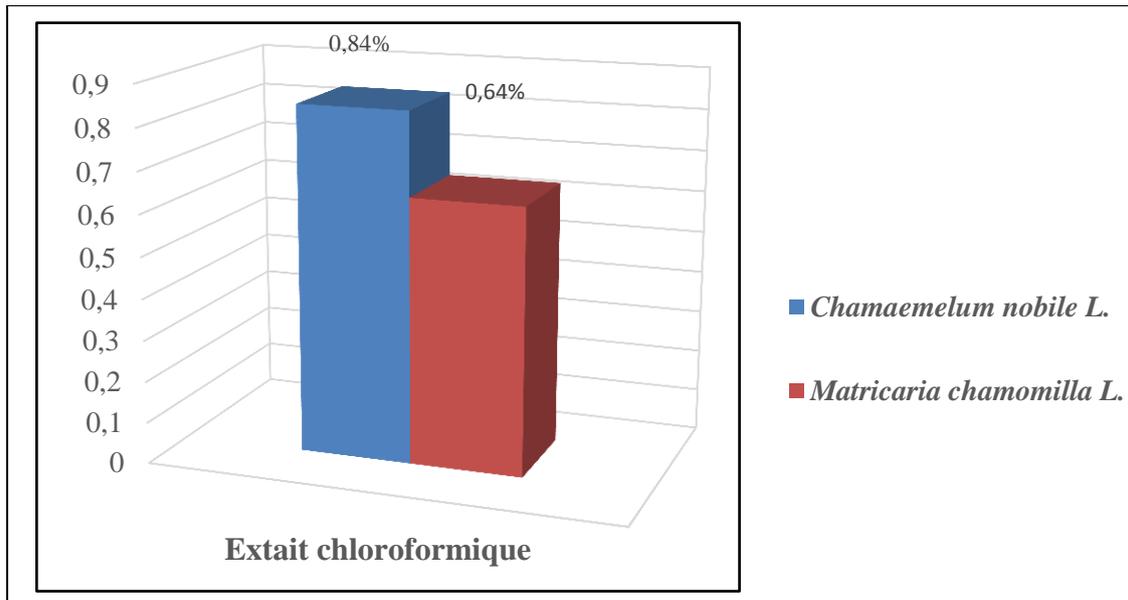
- Acide chlorhydrique (HCl) à 2N : 87.64 ml d'HCl + 500 ml d'eau distillée.
- Ammoniaque ½ : 30 ml d'Ammoniaque et 60 ml d'eau distillée.
- Chlorure ferrique (FeCl₃) à 5% : 5 g de FeCl₃ et 10 ml d'eau distillée.

Annexes

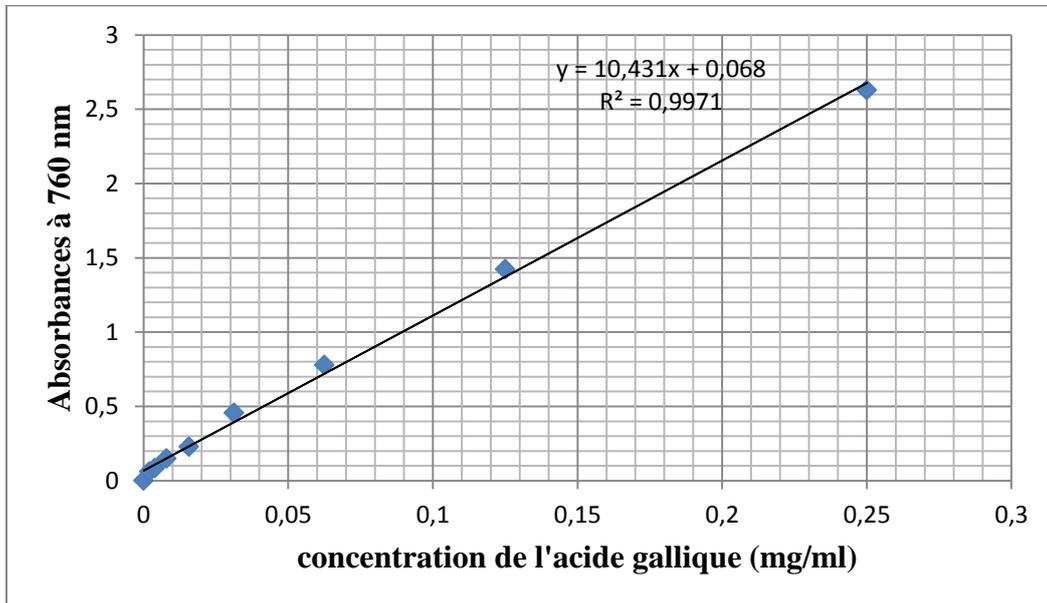
Annexe 4 : rendement d'extraction des polyphénols.



Annexes

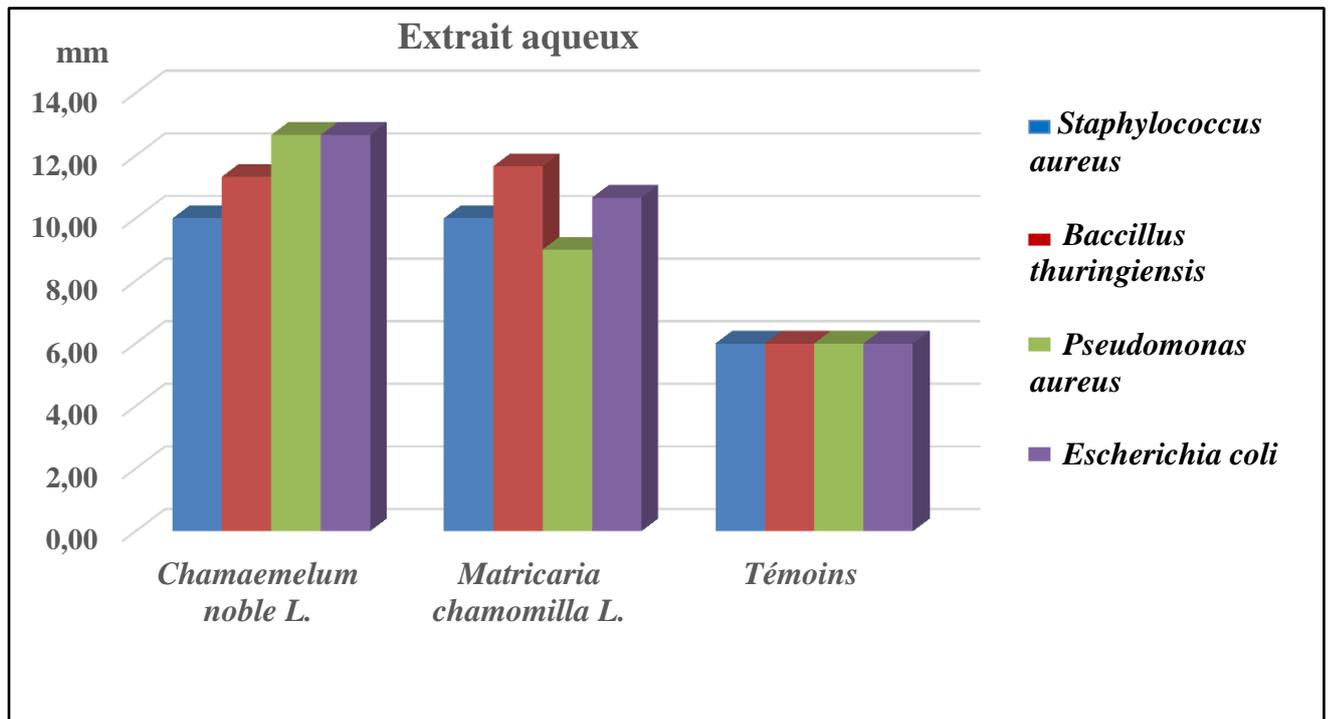
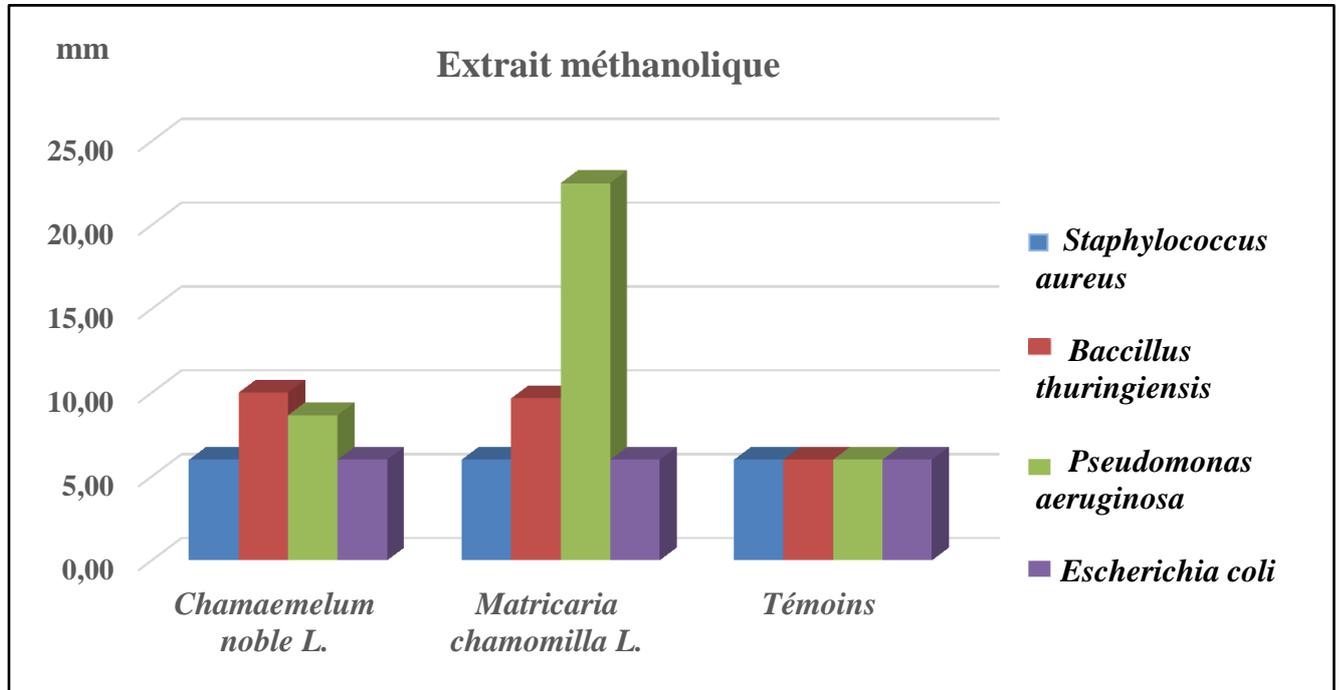


Annexe 5 : courbe d'étalonnage d'acide gallique.

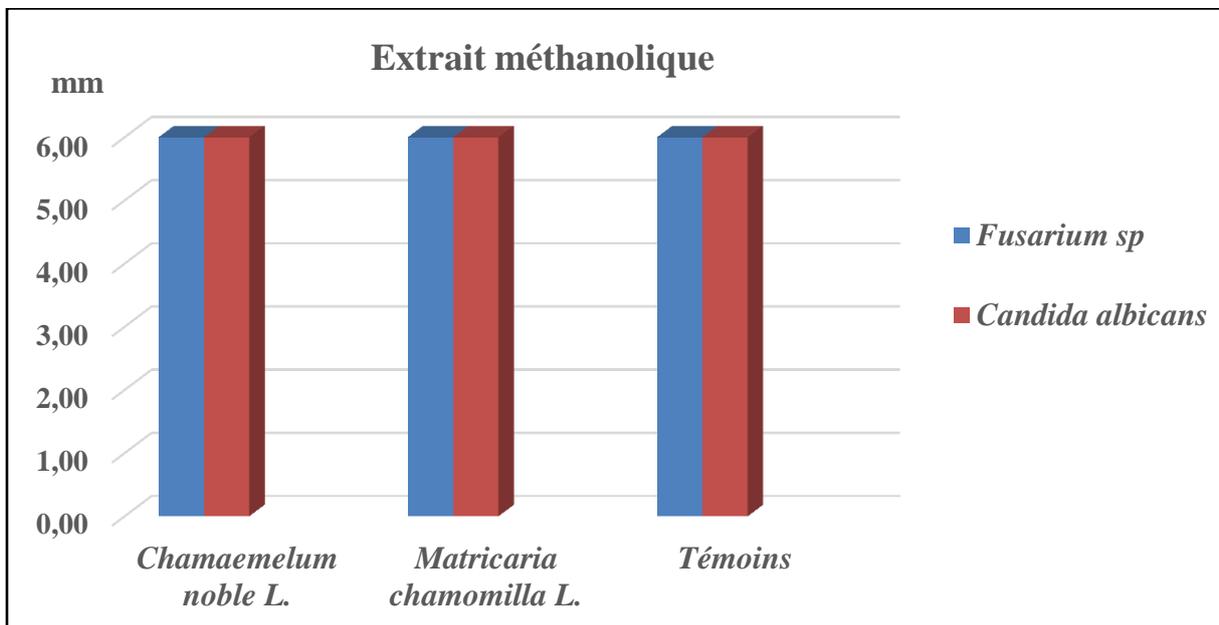
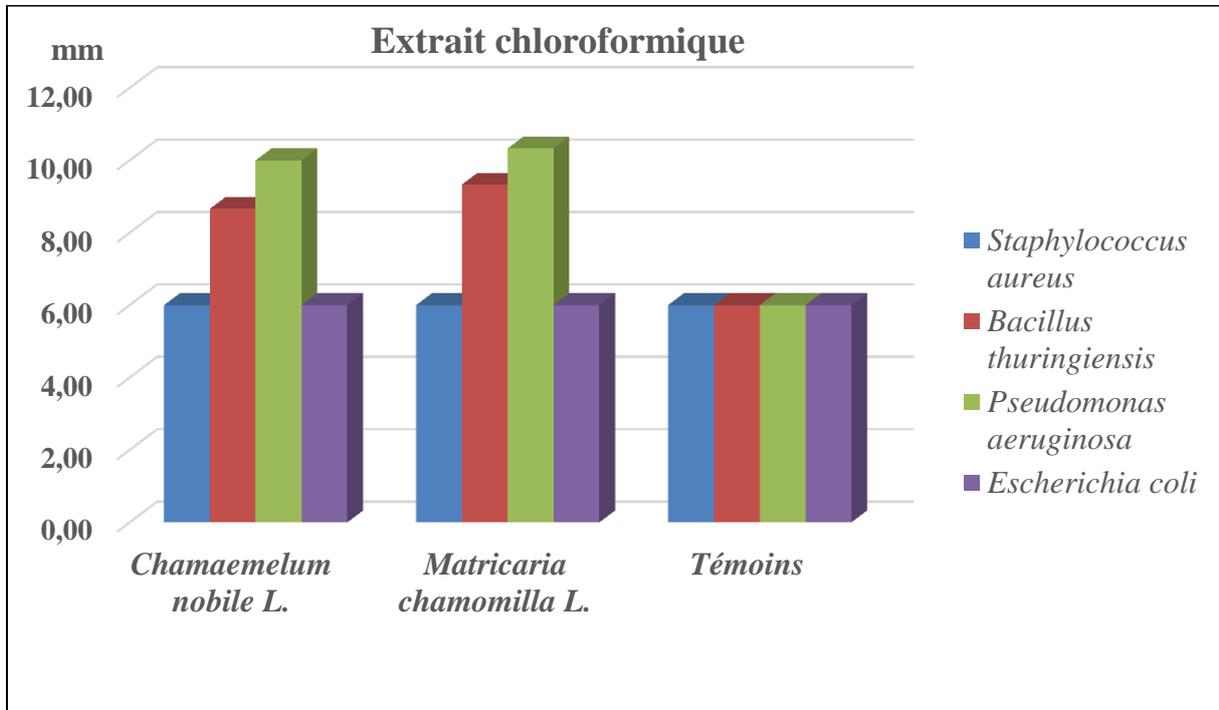


Annexes

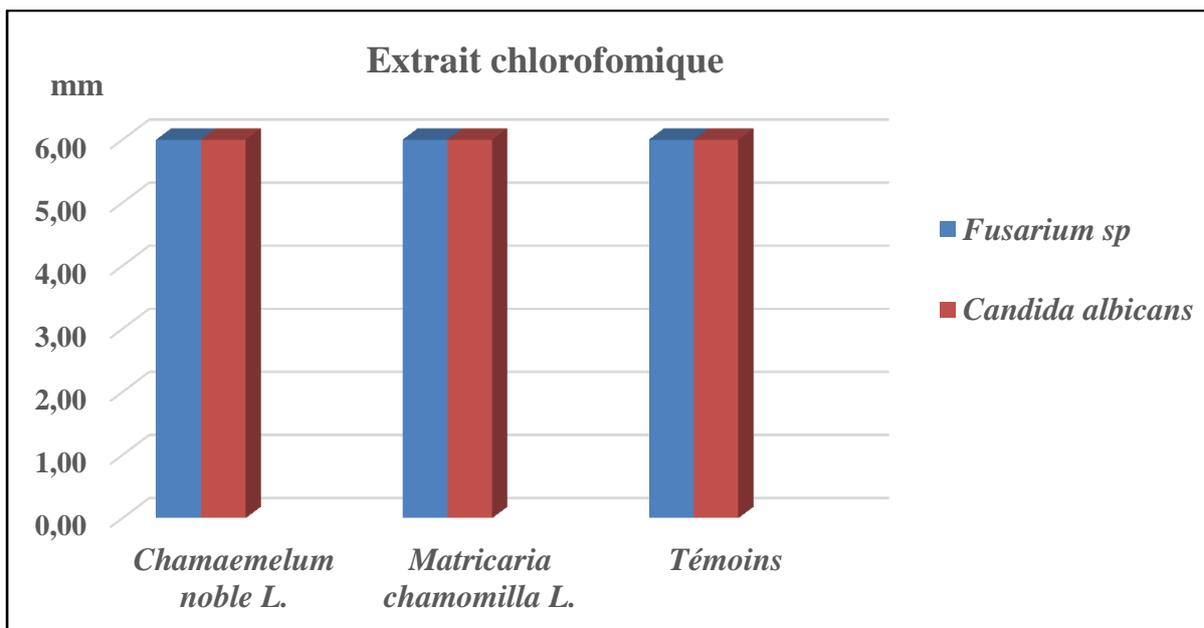
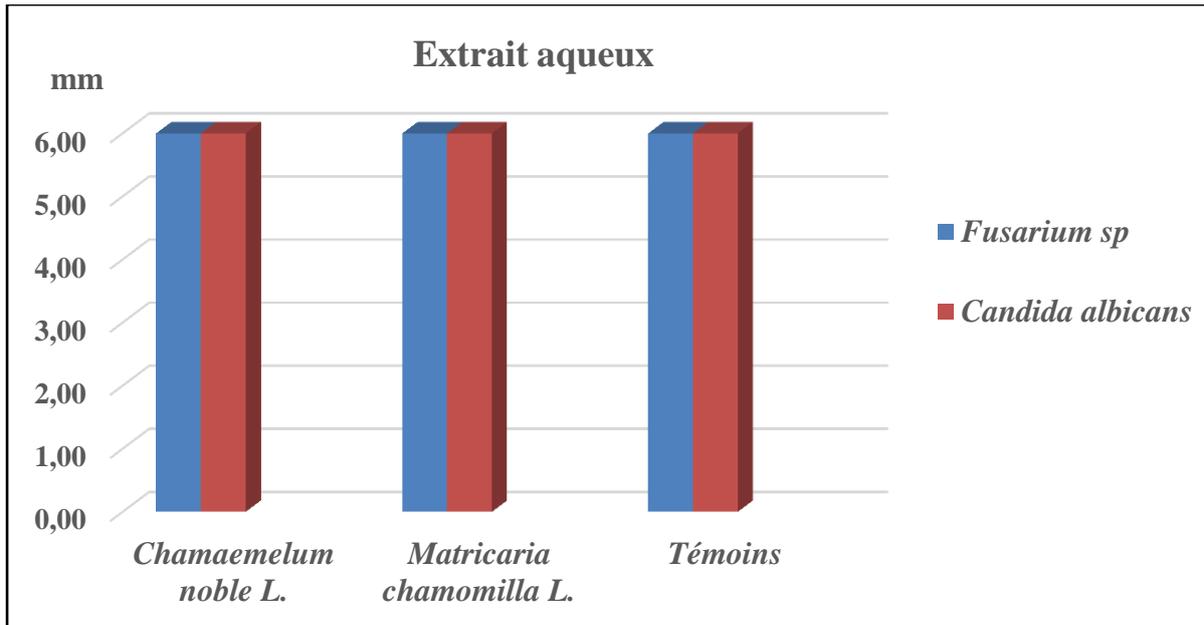
Annexe 6 : moyenne des zones d'inhibition des souches microbiennes vis-à-vis de *Chamaemelum nobile* L. et *Matricaria chamomilla* L.



Annexes



Annexes



Résumé

Les travaux présentés dans cette étude visent à la valorisation des deux plantes médicinales de la famille des *Astéracée* à savoir *Chamaemelum nobile* L. et *Matricaria chamomilla* L., en les caractérisant par une évaluation des activités antimicrobiennes de différents extraits polyphénoliques. Ces deux plantes sont très appréciées pour leurs teneurs en métabolites secondaires. Les extraits polyphénoliques obtenues par macération ont montré un rendement d'extraction de 8.5%, 0.84% et 10% pour *Chamaemelum nobile* L. et de 6%, 0.64% et 9.92% pour *Matricaria chamomilla* L., respectivement l'extrait méthanolique, chloroformique et aqueux. La teneur totale en polyphénol a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu est d'ordre 0.017 mg/ml et 0.016 mg/ml pour *Matricaria chamomilla* L. et *Chamaemelum nobile* L. respectivement.

L'activité antimicrobienne des trois extraits polyphénoliques a été déterminée sur six souches microbiennes, selon la méthode de diffusion de disque et a donné des zones d'inhibition variant de 7 à 15 mm. Donc les trois extraits polyphénoliques ont une activité moyennement inhibitrice et ils ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées sauf la flore fongique, ainsi que l'extrait méthanolique de *Matricaria chamomilla* L. a une forte activité vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* par une zone d'inhibition estimée de 22.5mm.

Mots clés : *Chamaemelum nobile*, *Matricaria chamomilla*, Polyphénols, Activités antimicrobienne.

Abstract

The work presented in this study aims at the valorization of the two medicinal plants of the family *Asteraceae*, *Chamaemelum nobile* L. and *Matricaria chamomilla* L., characterizing them by an evaluation of the antimicrobial activities of various polyphenolics extracts. These two plants are very much appreciated by their traitors in secondary metabolites. The polyphenolics extracted by maceration an extraction yield of 8.5%, 0.84% and 10% for *Chamaemelum nobile* L. and 6%, 0.64% and 9.92% for *Matricaria chamomilla* L. respectively extract Methanolic, chloroformic and aqueous. The total content of polyphenol was determined using the Folin-Ciocalteu reagent and found to be: 0.017 mg/ML and 0.016 mg/ml for *Matricaria chamomilla* L. and *Chamaemelum nobile* L. respectively. The antimicrobial activity of the three polyphenols extracts was determined on six microbial strains, according to the disk diffusion method, giving zones of inhibition ranging from 7 to 15 mm. Thus, the three polyphenolic extracts have a moderately inhibitory activity and have positively reacted at least on one of the tested microbial strains except the fungal flora, as well as the methanolic extract of *Matricaria chamomilla* L. has a strong activity against *Pseudomonas aeruginosa*. by an estimated inhibition zone of 22.5 mm.

Key words: *Chamaemelum nobile* L, *Matricaria chamomilla* L, Polyphenol, antimicrobial activity.

المخلص

تهدف الأعمال التي عرضت في هذه الدراسة الى تعزيز نبتتين من النباتات الطبية من عائلة Asteraceae وهي *Chamaemelum nobile* L و *Matricaria chamomilla* L ، واصفا لهم من خلال تقييم الأنشطة المضادة للميكروبات من مستخلصات مختلفة لي polyphénoliques. هاتين النبتتين لهما اهمية ظاهرة في النواتج الأيض الثانوية. مادة polyphénol المستخرجة من النقع اظهرت نسب تقدر ب : (8.5%، 0.84% و 10%) لي *Chamaemelum nobile* L و (6%، 0.64% و 9.92%) *Matricaria chamomilla* L، على التوالي لمستخلص الميثانول، والكلوروفورم والمائي. تم تحديد المحتوى الكلي لي polyphénol باستخدام Folin-Ciocalteu، بقيمة تقدر ب (0.017 مغ/مل و 0.016 مغ/مل *Chamaemelum nobile* L. و *Matricaria chamomilla* L على التوالي.

تم تحديد نشاط مضادات الميكروبات من ثلاثة مستخلصات polyphénol على ستة سلالات ميكروبية، وفقا لطريقة قرص النشر أعطى مناطق تثبيط تتراوح من 7 إلى 15 مم. ومنه الثلاثة مستخلصات polyphénol لها النشاط المثبطة معتدلة، وأنها استجابت بشكل إيجابي على الأقل على سلالة من سلالات ميكروبية المختبرة باستثناء النباتات الفطرية واستخراج الميثانول من *Matricaria chamomilla* L لديه نشاط قوي ضد *Pseudomonas aeruginosa* بمنطقة تثبيط تقدر ب : 22.5mm.

الكلمات الرئيسية : *Chamaemelum nobile* L., *Matricaria chamomilla* L., Polyphénols، النشاط المضاد للميكروبات.