



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريش

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie et protection des végétaux

Thème

**Etude phytochimique, activité antioxydante et
antimicrobienne des composés phénoliques de
Lavandula stoechas L.**

Présenté par : DEGHIMA Ikhlas

HAIF Nahla Khadidja

Devant le jury :

Président : Mme ????? MAA (Univ Mohamed El bachir El Ibrahimi BBA)

Encadrant : Mme BOUMERFEG Sabah. Profe (Univ Mohamed El bachir El Ibrahimi BBA)

Examineur: Mme ????? MAA (Univ Mohamed El bachir El Ibrahimi BBA)

Année universitaire : 2017/2018

Dédicace



À l'aide de Dieu "Allah" tout puissant

Qui m'a tracé le chemin de ma vie,

J'ai pu réaliser ce travail.

Je dédie ce travail à ma famille spécialement aux personnes les plus chères au monde. Mes chers parents qui sont la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie.

Qui m'ont apportés son appui durant toutes mes années d'études, pour ses sacrifices et soutien et qui m'ont donné la tendresse, la confiance, le courage et la sécurité.

*A mes frères :**Badro ,Nacer ,Abdou ,Alla ,Zinou** pour leurs tendresse et leurs permanentes*

*présence à mes cotés sans oublié ma très belle chère soeur unique **Aziza***

*À ma petite chère nièce **Loulou***

*À mes très chères cousines ,**Merieme ,Imen, Hadjer ,Houda ,Kenza ,Nessima,Amina***

À tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer

À tous ceux qui aiment la science.

Ikhlas

Dédicace



**JE COMMENCE PAR RENDRE GRACE À DIEU
ET A SA BONTE, POUR LA
PATIENCE, LA COMPETANCE ET LE
COURAGE QU'IL M'A DONNE POUR
ARRIVE À CE STADE.**

Je dédie ce mémoire :

*A l'âme de ma **chère Mère, décédé trop tôt**, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, elle apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une **filles** qui a toujours priée pour le salut de son âme.*

*Puisse **Dieu**, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que Dieu te protège **PAPA**.*

*A mes chers frères, **HOUSSEM.KHALED.LAHCEN**, pour leur appui et leur encouragement et de générosité, que Dieu vous garde.*

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis

Nahla

Remerciement

Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

Nos remerciements, accompagnés de toute notre gratitude, vont tout d'abord à notre promotrice Mme Boumerfeg, pour nous avoir encadré et diriger notre travail, et à Mme Baali Faiza pour son prestigieux soutien et sa disponibilité tout au long de la réalisation de la partie pratique.

Nous remercions également Mr DIAFAT abdelouahab d'avoir accepté de présider le jury, et nous adressons nos remerciements à Mdm MEZITI ASMA pour l'intérêt qu'elle a bien voulu porter à ce travail en acceptant d'examiner ce mémoire

Ne pouvons-nous empêcher d'avoir une pensée pour ceux et celles qui ont répondu présents et nous ont offert leur soutien moral dans les moments difficiles et qui étaient à nos côtés pour partager avec nous les moments de joie

Résumé

La plante médicinale *Lavandula stoechas* L de la wilaya de Bouira est de la famille des Labiées (Lamiaceae) appelée communément «khûzama ou Elhelhal», Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité anti-oxydante et antimicrobienne de l'extrait brute de la *lavande stoechas*L qui a été préparé par une macération dans le méthanol avec un rendement de $22,72 \pm 1,65\%$. La teneur en polyphénols totaux ($211,25 \pm 5,21$ µg EAG/mg d'extrait) est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, par contre les flavonoïdes ont été estimés par la méthode de chlorures d'aluminium $AlCl_3$ ($23,2 \pm 0,56$ µg EQmg d'extrait). Les tests réalisés *in vitro* ont permis de mettre en évidence la capacité anti-oxydante et antiradicalaire de l'extrait brute dont IC_{50} est de $7,163 \pm 0,1139$ µg/ml, le pouvoir réducteur avec EC_{50} de $149,2 \pm 7,795$ et la capacité anti-oxydante totale est de $307,9 \pm 1,836$. L'étude de l'activité antibactérienne *in vitro* par la méthode de diffusion des disques a démontré une activité antibactérienne remarquable contre les souches testés soit bactériennes (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*) ou bien fongique (*C.albicans*). Les résultats de la présente étude ont permis d'affirmer que l'extrait de la plante étudiée possède des propriétés antioxydantes et antimicrobienne importantes.

Mots clés: *Lavandula stoechas* L., composés phénoliques, polyphénole, flavonoïde, Activité anti-oxydante, Activité antibactérienne.

ملخص

Lavandula stoechas الخزامة نبات طبي من منطقة البويرة (الجزائر) من عائلة الشفويات، تدعى محليا بالخزامة او الحلحال. تستخدم في الطب التقليدي بالجزائر. يهدف العمل الحالي إلى تقييم نشاط مضادات الأكسدة والنشاط المضاد للميكروبات في مستخلص اللافندر الذي يتم تحضيره بواسطة النقع في الميثانول و التي اعطت مردود $22.72 \pm 1.65\%$ في مركبات الفينول. تم تحديد محتوى البوليفينول الكلي باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu ، وهو 211.25 ± 5.21 $\mu\text{g EAG} / \text{mg}$ من المستخلص ، تم تقييم الفلافونويد بالطريقة باستخدام كلوريد الألومنيوم AIC13. ، يقدر المحتوى بنسبة 23.2 ± 0.56 $\mu\text{g EQmg}$ من المستخلص. مكنت التحليلات التكميلية من تسليط الضوء على قدرة المستخلصات المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا وفقاً للطرق التالية : أظهرت هذه الدراسة نشاطية عالية مضادة للأكسدة اتجاه الجذر الحر DPPH حيث أعطت نسبة تثبيط عالية مساوية $(7,163 \pm 0,1139)$ ميكروغرام / ميليلتر) وظهرت الدراسة ان انخفاض الطاقة يساوي 149.2 ± 7.795 ومع قدرة مضادة للأكسدة الكلية تساوي 307.9 ± 1.836 . اظهرت نتائج الدراسة ان لهذه الزيوت تأثير كبير على نشاطية البكتيريا المختبرة (*S. aureus* ; *B. subtilis* ; *E. coli*) باستعمال طريقة الانتشار في وسط هلامي. سمحت لنا نتائج هذا العمل بأن نؤكد أن خلاصة النبات المدروس لها خصائص مضادة للأكسدة ومضاد للميكروبات يمكن أن تسمح لنا بالتوصية بالتكنولوجيا الحيوية.

الكلمات المفتاحية: *Lavandula stoechas* L. ، مركبات الفينول ، الفلافونويد ، النشاطية المضادة للاكسدة و النشاطية المضادة المضادة للبكتيريا.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 01

Chapitre I : synthèses bibliographique

I.1. Monographie de *Lavandula stoechas* L..... 03

I.2.1. Étymologie..... 03

I.2.2. Synonymes..... 03

I.2.3. Description botanique..... 03

I.2.4. Position systématique..... 04

I.2.5. Aire de répartition..... 05

I.2.6. Utilisation en médecine traditionnelle..... 05

I.7. Composition chimique 06

I.2. Les composés phénoliques..... 07

I.2.1. Généralité 07

I.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques 07

I.2.3. Principales classes des polyphénols..... 08

I.2.4. Activités biologiques..... 12

I.2.4.1. Activité antioxydante..... 12

I.2.4.2. Activité antibactérienne 17

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel..... 19

II.1.1. Matériel biologique..... 19

II.1.1.1. Matériel végétal.....	19
II.1.1.2. Microorganismes utilisés.....	19
II.1.2. Matériel non biologique.....	20
II.2. Méthodes d'analyse	20
II.2.1. Préparation d'extrait méthanolique.....	20
II.2.2. Calcul du rendement.....	20
II.2.3. Taux d'humidité.....	21
II.2.4. Analyses phytochimiques	21
II.2.4.1. Dosage des polyphénols.....	21
II.2.4.2. Dosage des flavonoïdes.....	22
II.2.5. Activités biologiques.....	23
II.2.5.1. Activité antioxydante	23
II.2.5.1.1. Test de DPPH.....	23
II.2.5.1.2. Pouvoir réducteur.....	25
II.2.5.1.3. Capacité antioxydant totale.....	26
II.2.5.2. Activité antimicrobienne.....	27
II.3. Analyses statistiques	29

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Rendement d'extraction.....	30
III.2. Détermination du taux d'humidité.....	31
III.3. Analyses phytochimiques.....	31
III.3.1. Dosage des polyphénols.....	31

III.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	33
III.4. Evaluation de l'activité biologique	34
III.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	34
III.4.1.1 le test de piégeage du radical DPPH.....	34
III.4.1.2 Pouvoir réducteur.....	37
III.4.1.3 Capacité antioxydant totale.....	40
III.4.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	42
Conclusion	48

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

N ^o	Titre	Page
01	<i>Lavandula stoechas</i> L.	04
02	Biosynthèse de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine	08
03	Principaux acides hydroxycinnamiques	09
04	Principaux acides hydroxybenzoïques	10
05	Principaux types de coumarines	10
06	Les structures chimiques des principales familles de flavonoïdes	11
07	Principaux dommages cellulaires induits par les espèces réactives de l'oxygène et provoqués sur les lipides, les protéines et l'ADN	15
08	Les systèmes de défense contre les radicaux libres	17
09	Forme libre et réduite du DPPH	23
10	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH)	25
11	Le taux d'humidité et la matière sèche (MS %) de <i>L. stoechas</i> L	31
12	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	32
13	La courbe d'étalonnage de la quercétine	33
14	Activité anti-radicalaire au DPPH de l'extrait de <i>L. stoechas</i> L.	35
15	Activité anti-radicalaire au DPPH de standard BHT	36
16	Histogrammes exprimant les IC 50 (µg/ml) permettant la réduction de 50 % du DPPH.	36
17	Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de <i>L. stoechas</i> L à 700 nm	39
18	Pouvoir réducteur de la vitamine C à 700 nm	39
19	Histogrammes exprimant les EC 50 (µg/ml) permettant la réduction de 50 % du fer	40
20	Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour mesure la capacité antioxydante	41
21	Capacité antioxydante totale de l'extrait de <i>L. stoechas</i> L et de BHT	42
22	Résultats de l'activité antibactérienne d'extrait de <i>L. stoechas</i> L sur les souches étudiés.	45

Liste des Tableaux

N^o	Titre	page
I	Différents types des espèces réactives	14
II	Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition pour des disques imprégnés de 10 µl d'extrait	29
III	Rendement de l'extrait de <i>L. stoechas</i> L	30
IV	Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les antibiotiques exprimée en mm (moyenne ± SD), transcrite en sensibilité	43
V	Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne par l'extrait exprimée en mm (moyenne ± SD), transcrite en sensibilité	44

Liste des abréviations

AA(%) : Activité antioxydante.

AAI : Indice de l'activité antioxydante.

Abs : Absorption.

ATCC : American Type Culture Collection (catalogue de microorganismes)

BHT : Butyl hydroxy toluène.

CHL : Chloramphénicol

DO : Densité optique.

DPPH: 2, 2 -diphényl -1- picrylhydrazyl.

Ext : extrait

GM: Gentamicine.

IC₅₀ : Concentration à 50% de DPPH perdu.

mg/ml : milligramme par millilitre.

MH : Muller Hinton.

PI% : Pourcentage d'inhibition.

OFL : Ofloxacin.

Rdt: Rendement.

SD : Déviation standard.

UFC: Units Forming Colony.

.

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont toujours fait partie du savoir de base de toutes les sociétés humaines (Aquaron, 2005). Aujourd'hui, en cette ère de progrès rapide de la technologie médicale, les préparations à base de plantes appelées aussi « médecine alternative ou complémentaire » gagnent beaucoup de popularité (Qidwai et al., 2013), et l'intérêt accru pour leur utilisation a encouragé des études plus détaillées sur les ressources végétales (Vasile Bagiu et al., 2012).

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant les effets indésirables des molécules synthétiques destinées à la lutte contre le stress oxydant et les infections bactériennes (Ames, 1983 ; Wang et al., 2008). Il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antioxydants synthétiques et des antibiotiques classiques. Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Ces derniers temps, beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins, etc. qui possèdent des activités antioxydantes, antimicrobiennes, pouvoirs anti-inflammatoire, anticancéreux, antiviral, ainsi que la prévention des maladies cardiovasculaires et dégénératives (Maisuthisakul et al. 2007). De ce fait, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes à partir des sources naturelles et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques et les industries alimentaires et pharmaceutiques (Bruneton, 1999). Cependant, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydante 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).

L'Algérie est un pays riche en plantes aromatiques et médicinales (lavande entre autres), *Lavandula stoechas* L. ou lavande papillon (Benabdelkader, 2012), appelée "Khûzama ou Helhal", se présente sous forme d'un arbrisseau et très ramifié, à des fleurs de couleur violet et est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Cette plante est connue par sa richesse en composés phénoliques et par ses propriétés antibactériennes, antifongiques (Cavanagh et Wilkinson, 2002), antioxydant et désinfectant

Introduction générale

des plaies contre les problèmes dermiques (Gören et *al.*, 2002). Le présent travail a pour objectif d'évaluer les activités antioxydante et antibactérienne de l'extrait brut de la partie aérienne de cette plante *Lavandula stoechas* L, largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie, dont les objectifs de la présente étude sont :

- ✓ Préparation de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de la plante *Lavandula stoechas* L.
- ✓ Détermination de la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de *Lavandula stoechas* L.
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Lavandula stoechas* L. par les tests de DPPH, capacité antioxydante totale (TAC) et du pouvoir réducteur.
- ✓ Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Lavandula stoechas* L vis-à-vis quatre souches et une levure en utilisant test de diffusion sur gélose.

I.1. synthèse bibliographique

I.1. Monographie de *Lavandula stoechas* L.

I.2.1. Étymologie

Le mot *lavande* dérive du verbe laver, il est peut être issu de l'italien *lavando* (action de laver) mais peut remonter au latin *lavare* qui signifie laver et aussi se baigner (Ryley, 1998). Dr T. B. (1926) donne comme définition du mot *Stoechades* : vient du grec *stoechades* et signifie «rangées en lignes» (Barbier, 1963).

I.2.2. Synonymes

L'espèce *Lavandula stoechas* L. (syn. *Stoechas officinarium* Moench) est communément appelée 'lavande française', 'lavande italienne', 'lavande espagnole', 'lavande des *stoechades*', 'lavande maritime', 'lavande papillon' ou 'lavande à toupet' (Benabdelkader, 2012).

I.2.3. Description botanique

La lavande papillon, *L. stoechas* L. est une espèce végétale bien connue fait également partie de la famille des Lamiacées ou Labiées. Il possède donc les mêmes caractéristiques morphologiques et communes à l'ensemble de cette famille (Balouiri, 2011). Elle se présente sous la forme d'un arbrisseau et pouvant atteindre un mètre de haut (Benabdelkader, 2012), tomenteux, blanchâtre, tétragones (Jullien, 2016), très ramifié et très aromatique avec une lourde odeur semblable à celle du pin (Benabdelkader, 2012), l'essence qu'on peut en extraire a une odeur très forte et désagréable (Barbier, 1963). Elle supporte la miombre, tolère le froid et préfère les endroits ensoleillés et les sols riches (Chu & Kemper, 2001).

- **Fleurs** : de couleur mauve foncé (fig. 01), en épis courtement pédonculés, ovales ou oblongs, compacts, quadrangulaires, surmontés d'une houppe de grandes bractées stériles violettes. Bractées fertiles larges, obovales-subtrilobées, membraneuses, veinées, plus courtes que le calice très velu. Carpelles ovales à 3 angles (Jullien, 2016).

- **Feuilles** : sont petites, grisâtres, tomenteuses (Besombes, 2008), sont opposées de 2- 4 cm de long, sessiles, oblongues, lancéolées, linéaires, étroites et recourbées sur les bords (Benabdelkader, 2012), mais sans dents ni lobes, appariés ou groupés à les nœuds, parfumés lorsqu'ils sont écrasés, stipules-aucune, pétiole-aucune (Siddiqui et al., 2016).

- **Tiges** : Nombre-plusieurs, longueur de 20- 40 cm (Besombes, 2008) de couleur grisâtre, ramifié, carré quand jeunes, poussent souvent le long du sol, puis plier vers le haut,

densément poilu avec étoile type poils, parties inférieures boisées et rugueuses, taillis lors de la coupe (Siddiqui et al, 2016).

La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne (Giray et Kirici, 2008).

I.2.4. Position systématique

D'après Quezel et Santa (1963), la systématique de *L. stoechas* L. est la suivante :

Règne : plantes.

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes.

Sous-embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotyledones.

Sous-classe : Astéridées.

Ordre : Lamiales (Labiales).

Famille : Lamiaceae ou Labieae.

Genre : *Lavandula*.

Espèce : *Lavandula stoechas* L.

Nom vernaculaire algérien : "Helhal", "Amezzir", "Khûzama".

Nom français : 'Lavande des stoechades', 'lavande maritime', 'lavande papillon' ou 'lavande à toupet. (Fig. 1).



Figure 1. *Lavandula stoechas* L. (Originale, 2018).

I.2.5. Aire de répartition

La répartition du genre *Lavandula* est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient), largement distribué dans les Iles canari, Islande et à travers tout le tell méditerranéen, Sud West de l'Asie, Afrique tropicale avec une disjonction vers l'Inde (**Quezel & Santa, 1963 ; Upson et al., 2000**).

En Algérie, les populations naturelles de *L. stoechas* sont situées au nord du pays, le long de la côte méditerranéenne dans les wilayas de Skikda, Jijel, Boumerdes, Bouira, Blida, Médéa, Ain Defla et Chlef (**Benabdelkader, 2012**), elle est parmi les très nombreuses espèces végétales qui forment la flore spontanée algérienne (**Haussein, 2000**).

I.2.6. Utilisation en médecine traditionnelle

La lavande utilisée par les médecins musulmans qui la considéraient comme céphalique (tonique), résolvente, désobstruant, et carminative. Ils la prescrivent pour lutter contre des infections pulmonaires et pour l'expulsion des humeurs bilieuses et flegmatiques (**Said, 1996**).

La Lavande a été traditionnellement utilisée comme plante aromatique, culinaire, décoratif, cosmétique et dans des buts médicaux (**Maganga, 2004**).

L. stoechas L. possède des propriétés thérapeutiques remarquables ; La décoction des feuilles est utilisée dans le cas d'infections intestinales, de gastralgies ; mais c'est surtout pour ses propriétés antitussives qu'il est largement recommandé. Les fleurs en décoction apaisent l'hystérie, ingérées telles quelles, elles seraient également efficaces pour calmer la toux, l'asthme (**Beloued, 2005**) et pour la lutte contre les insectes comme insectifuge (**Mennal et Chennafi, 2015 ; Skoula et Abidi, 1996**) ou insecticide (**Gören et al., 2002**).

La plante est également employée traditionnellement dans la médecine populaire comme anti-inflammatoire (**Sosa et Altinier, 2005**), antispasmodique (**Gören et al., 2002**) dans les douleurs des coliques (**Nadkarni, 1982 ; Siddiqui et al., 2016 ; Usmanghani et al., 1997**), anti-carcinogène, antidépresseur, antioxydant (**Gören et al., 2002**), expectorant et stimulant (**Giray et Kirici, 2008**).

L'HE est un précieux remède des premiers secours, elle est accélère la guérison des brûlures des plaies (action cicatrisante, réparatrice (**Mennal et Chennafi, 2015**) et désinfectant des plaies contre les problèmes dermiques (**Gören et al., 2002**), a aussi des effets

positifs sur les infections urinaires, les maladies cardiaques, l'eczéma (Baytop, 1999), spasmolytiques, contre le diabète, la fièvre (Chu et Kemper, 2001), les douleurs menstruelles féminines, les calculs rénaux, l'anthrax, l'otite, l'hypertension (Skoula et Abidi, 1996) et pour traiter l'infertilité (Chu et Kemper, 2001). Il est utilisée dans l'industrie de la lessive et de la savonnerie, ainsi qu'en parfumerie. En effet, celle-ci analgésiques (calmante), antiseptiques (Baytop, 1999 ; Beloued, 2005) sédatives (Baytop, 1999; Gören et al., 2002 ; Siddiqui et al., 2016), antimicrobiennes (Asimgil, 1997; Gören et al., 2002), antibactériens, antifongiques et antidépresseurs (Cavanagh et Wilkinson, 2002).

I.2.7. Composition chimique

Selon Ferreres et al. (1986) ; Lawrence (1996); Mastelic et Kustrak (1997) les constituants chimiques potentiellement actifs du genre *Lavandula* sont :

- Monoterpènes : a-pinène, 3-pinène, 3-ocimène, camphre, limonène, p-cymène, sabinène, terpinène
- Monoterpène alcools: a-terpinéol, bornéol, lavandulol, linalol, p-cymen-8-ol, Transpivocarvéol.
- Mono terpène aldéhydes: aldéhyde de cumine.
- Mono terpène éthers: 1,8-cinéole.
- Monoterpène esters: acétate de linalyl, acétate de terpinyl.
- Monoterpène cétones: carvone, coumarine, cryptone, fenchone, méthylhéptenone, noctanone, nopinone, p-méthylacétophénone p Benzénoides: eugénol, coumarine, carvacrol, acide hydroxycinnamique, acide rosmarinique, thymol.
- Sesquiterpènes: caryophyllène, oxyde de caryophyllène, a-photosantanol, OE-santalal, a-norsantalénone.
- Traces de nombreux autres composés, tels que les flavonoïdes.

I.2. Les composés phénoliques

1.2.1. Généralités

Les polyphénols constituent un groupe important de métabolites secondaires, environ 10 000 composés ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui (Guignard, 2000), constituent une famille de molécules organiques spécifique du règne végétal. Ce sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour interagir avec les autres végétaux et les animaux (Bravo, 1998).

La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques la tyrosine et surtout de la phénylalanine. Ces acides aminés sont formés de façon variable suivant les végétaux,

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante, ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Naczk et Shahidi, 2003 ; Barboni, 2006 ; Sun *et al.*, 2011**). Et ils jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (**Naczk et Shahidi, 2003 ; Stalikas, 2007**). Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (**Sun *et al.*, 2011**).

Le terme "composés phénoliques végétaux" englobe les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les stilbènes, les tannins, les lignines et les lignanes (**Stalikas, 2007**).

I.2.2. Biosynthèse des composés phénoliques

1. La voie de Shikimate

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (**Yao *et al.*, 1995**).

2. La voie des phénylpropanoïdes

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose (**Guignard, 2000**).

3. La biosynthèse des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base, L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalcone synthase, d'une unité phényle propanoïde avec trois unités malonyl-CoA. Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des divers flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

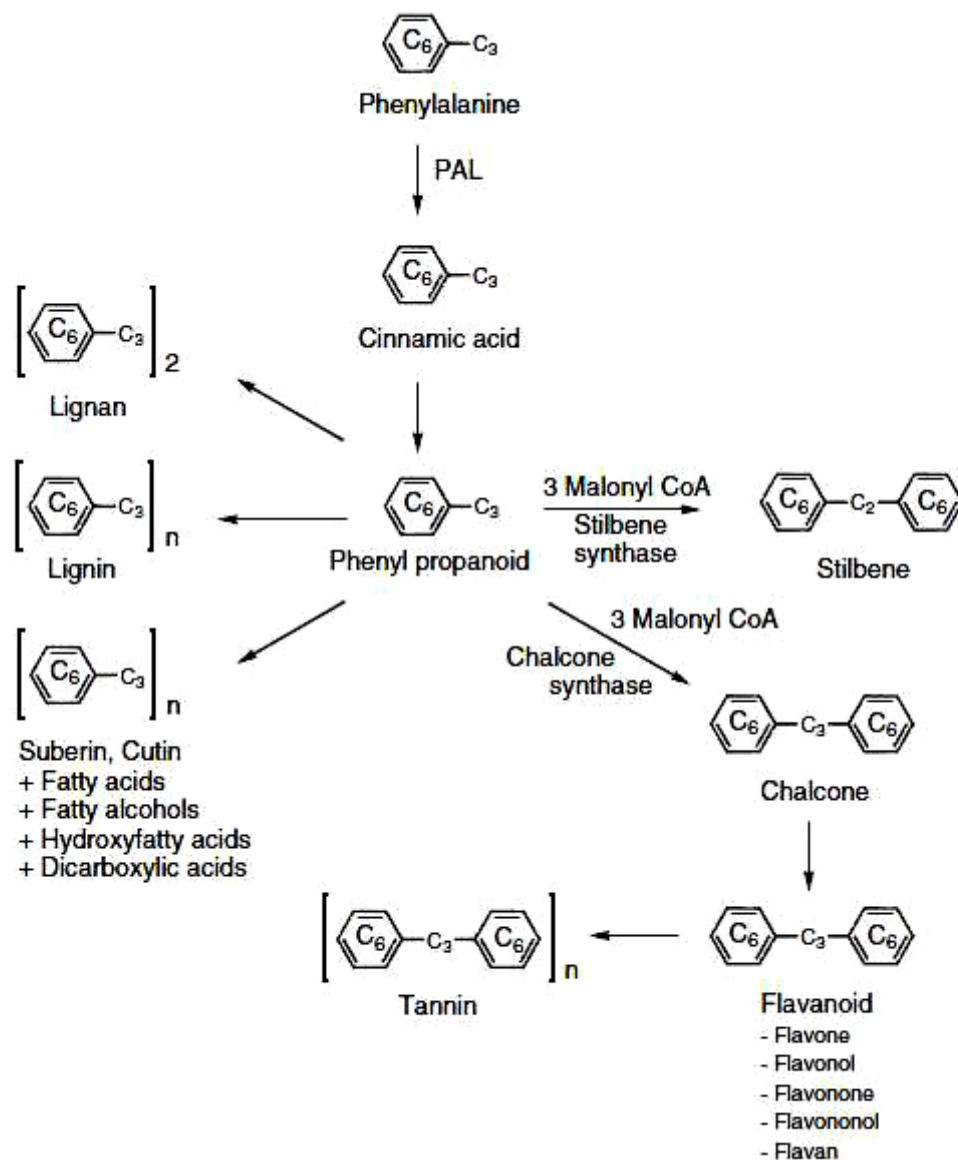


Figure 2. Biosynthèse de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine (Naczk et Shahidi, 2003).

I.2.3. Principales classes des polyphénols

On distingue les acides phénoliques (phénols simples), les flavonoïdes, les lignanes, les stilbènes, les coumarines et les tannins (Harborne, 1980 ; Glombitza, 1985 ; Goodwin, 1988 ; Porter, 1989; Boros, 2010).

1.2.3.1. Les acides phénoliques

1.2.3.1. 1. Acides hydroxycinnamiques

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C6-C3) dont les plus abondants sont l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide cinnamique. Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent une réactivité chimique importante de ces molécules (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). (Fig.3).

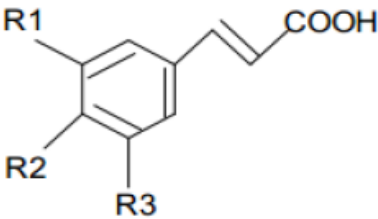
	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique	

Figure 3. Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est très faible car ils sont considérés non toxiques ; Les mieux caractérisés pharmacologiquement, sont l'acide caféique et l'acide férulique qui montrent l'effet anticancéreux au niveau des poumons chez les souris, alors que l'acide gallique agit par le même effet en prévenant le déclenchement du cancer oesophagien chez les rats (Laraoui, 2007).

1.2.3.1.2. Acides hydroxybenzoïques

Sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C6-C1). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans la figure 4

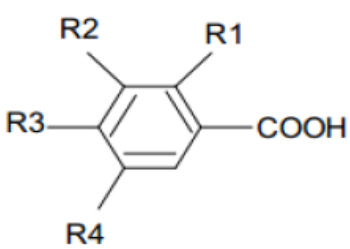
	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

Figure 4. Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

1.2.3.2. Les coumarines

Les coumarines qui sont aussi des dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus des benzopyrones (O’Kennedy et Thornes, 1997) et toutes sont substituées en C7 par un hydroxyle. Elles sont issues du métabolisme de la phénylalanine via un acide cinnamique, l’acide *p*-coumarique. Elles se trouvent dans la nature soit à l’état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l’odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999) (Fig.5).

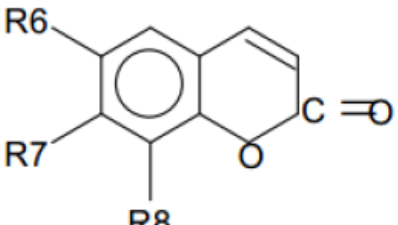
	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétole
	OCH3	OH	OH	Fraxétole
	H	OH	OH	Daphnétole

Figure 5. Principaux types de coumarines (Macheix et al., 2005).

1.2.3.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus large des composés polyphénoliques. Ils sont classés en flavonols, flavones, flavanones, chalcones, flavanes, isoflavones, flavanols et anthocyanes (Fig. 6) (Derbel et Ghedira., 2005). Du fait de leurs propriétés antioxydantes, liées à leur structure polyphénolique, les flavonoïdes ingérés avec nos aliments sont réputés

pour protéger l'organisme contre les effets délétères des apports environnementaux oxydants (Stoclet et Schini-Kerth., 2011).

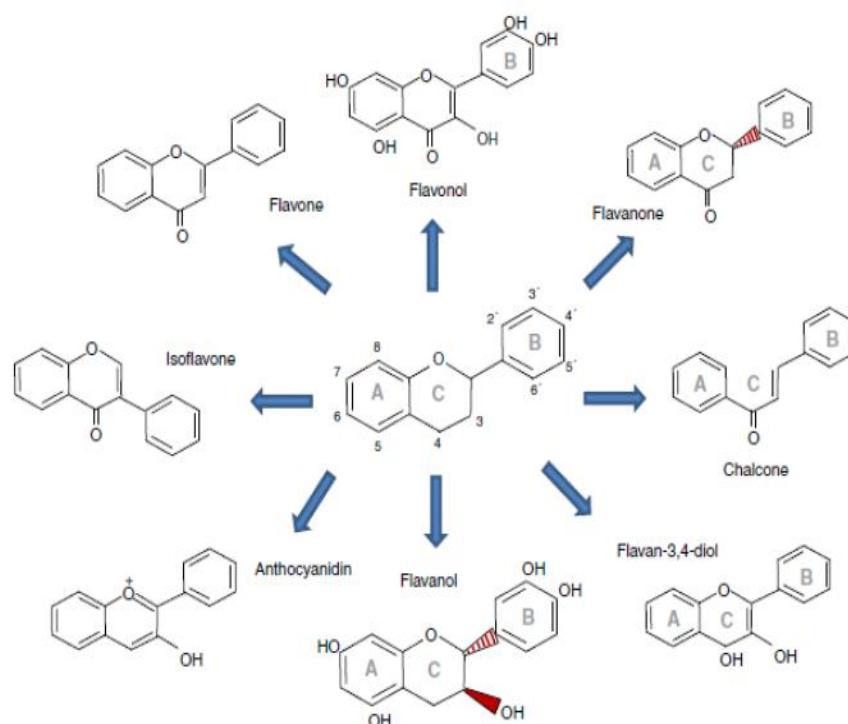


Figure 6. Les structures chimiques des principales familles de flavonoïdes (Fraga et Oteiza., 2011).

1.2.3.4. Les tanins

Les tanins sont un groupe diversifié de métabolites secondaires des plantes qui ont deux caractéristiques communes : tous sont des polyphénols et tous ont la capacité de fixer les protéines. Cependant, l'étude des effets nutritionnels des tanins est complexe parce que les plantes contiennent une grande diversité de tanins. Certains tanins produisent des effets toxiques tandis que d'autres bénéficient de la santé et de la nutrition (Harvey., 2006). Les tanins, sont des constituants naturels du thé vert, vin rouge, et d'autres produits végétaux (Keil et al., 2004).

Chez les végétaux supérieurs, il y'a deux groupes de tanins qui diffèrent par leur structure et leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Biaye., 2002).

a) tanins hydrolysables : Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre (ou d'un polyol apparenté) et d'un nombre variable d'acide phénolique. Le sucre est très généralement le

glucose. L'acide phénolique est soit l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique (HHDP) et ses dérivés dans le cas des tanins éllagiques (Bruneton., 1999).

b) tanins condensés : Ce sont des polymères ou oligomères flavaniques, constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine, avec un degré de polymérisation entre deux et plus de 50 unités (Khanbaba et Ree., 2001). Aussi, les tanins ont de grandes capacités antioxydantes dues à leurs noyaux phénols. Les tanins hydrolysables et condensés sont 15 à 30 fois efficaces que les phénols simples (Peronny., 2005).

1.2.3.5. Les stilbènes

Les membres de cette famille possèdent la structure C6-C2-C6. Ces composés sont en très petite quantité dans notre alimentation. Ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, le soja et les arachides (Crozier et al., 2006). Le plus connu d'entre eux est le resvératrol qui a été largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses mises en évidence lors de l'étude des activités biologiques de plantes médicinales (El Gharras, 2009).

I.2.3. Activités biologiques

I.2.3.1. Activité antioxydant

L'activité antioxydante des polyphénols assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes pour la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (Hennebelle et al., 2004).

C'est admis que la capacité antioxydante de plusieurs fruits est due à la présence des flavonoïdes, en fait, la plus part des constituants polyphénoliques montre un pouvoir antioxydant élevé en comparant avec les autres antioxydants connus : vitamine C, vitamine E, et β -carotène (Vinson, 1995).

La consommation des composés phénoliques se traduit par une augmentation transitoire de la capacité antioxydante du plasma dans les heures qui suivent le repas. Parvenus au niveau des artères, ils préviennent l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (Low Density Lipoproteins ou LDL). En limitant leur incrustation dans les parois des artères (Manallah, 2012).

I.2.3.1.1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003).

Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telle que l'exposition aux radiations ionisantes (exposition importante au soleil, radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments, la pratique du sport intensif et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une perte de poids importante (Poirier, J. 2004 ; Médart, J. 2009)

I.2.3.1.2. Les radicaux libres

Un radical libre est définies comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (Jacques et André., 2004), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaine débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (Martinez-Cayuela, 1995).

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxy $ROO\bullet$, radical alkoxy $RO\bullet$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Novelli, 1997).

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé "espèces réactives de l'oxygène" (ROS). Cette appellation n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de

l'oxygène proprement dit : radical superoxyde $O_2^{\bullet-}$, radical hydroxyl OH^{\bullet} , monoxyde d'azote NO^{\bullet} , mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante : l'oxygène singulet 1O_2 , peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , peroxyde d'azote $ONOO^-$ (Favier, 2003). (Tab I).

Tableau I. Différents types des espèces réactives (Gutowski et Kowalczyk, 2013).

Espèces radicalaires		Espèces non radicalaires	
Nom	Symbole	Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Acide hypochlorique	HOCl	Radical hydroxyle	OH^{\bullet}
Monoxyde d'azote	NO^{\bullet}	Peroxyde organique	ROOH
Oxygène singulet	1O_2	Radical peroxyde	ROO^{\bullet}
Radical alkoxyde	RO^{\bullet}	Peroxyde d'azote	$ONOO^-$

I.2.3.1.3. Les conséquences de stress oxydatif

Le principal danger des radicaux libres vient des dommages qu'ils peuvent provoquer lorsqu'ils réagissent avec des composants cellulaires importants, tels que l'ADN **Hadj Salem, J. (2009)**, les lipides (peroxydation), les protéines **Jacob, L. (2007)**...etc. Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives, cancer, diabète...) (**Pincemail, et al, 2003**) et la dégradation des cellules et des tissus (**Bonnet, et al, 2010**). La figure 7 représente Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les espèces oxygénées réactives (**Kohen et Nyska, 2002**).

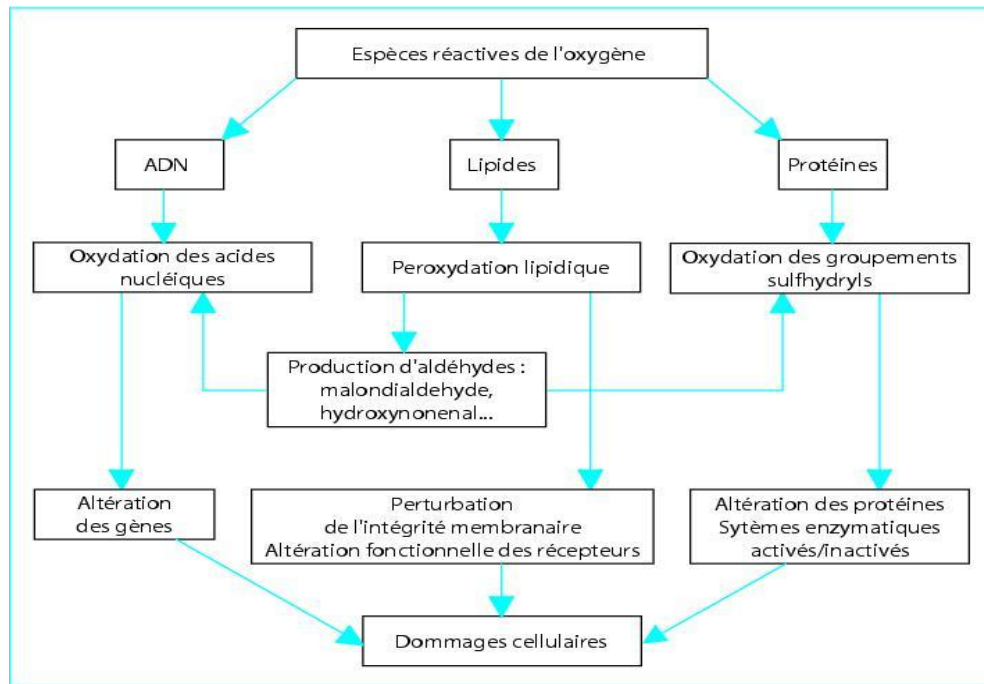


Figure 7. Principaux dommages cellulaires induits par les espèces réactives de l'oxygène (Kohen et Nyska, 2002).

I.2.3.1.4. Les antioxydants

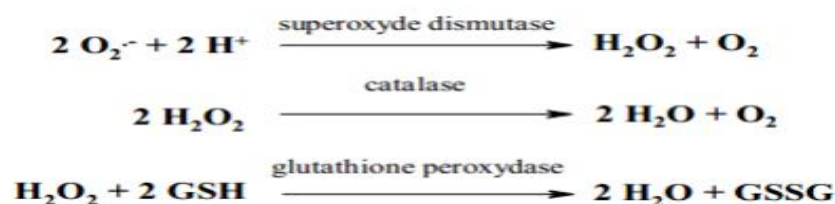
Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

I.2.3.1.4.1. Les antioxydants naturels

a. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatique (primaires) qui sont appelés également les antioxydants vrais ou antioxydants radicalaires (Reynal et Multon, 2009). Ce sont Des enzymes antioxydantes présentent des systèmes de défense très efficaces. Cette ligne de défense est constituée de superoxyde dismutase (SOD), de catalase et de peroxydase (glutathion et ascorbate) (Favier, 2006).

Ces enzymes antioxydantes permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes:



De ce fait elles préviennent la formation de radicaux libres organiques à partir des lipides membranaires notamment et contribuent donc à la protection des membranes de la peroxydation lipidique (**Dacosta, 2003**).

b. Les antioxydants non enzymatiques

Ce sont des molécules exogènes. Contrairement aux enzymes antioxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre. Pour pouvoir fonctionner à nouveau, cette molécule d'antioxydant doit donc être régénérée par d'autres systèmes (Fig. 8) (**Dacosta, 2003**).

Plusieurs substances pouvant agir en tant qu'antioxydants *In vivo* ont été proposés. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, le β -carotène, les flavonoïdes, les composés phénoliques,...etc. Ces composés sont facilement oxydables, relativement stables et conduisent à des dismutations permettant l'arrêt des réactions radicalaires en chaîne. Ce système de protection peut être à la fois membranaire (vitamine E, A) ou cytosolique et extracellulaire (glutathion, vitamine C). (**Kohen et Nyska, 2002**).

➤ Antioxydants phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires ont des propriétés antioxydantes, et en particulier la classe des flavonoïdes. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des RLs, par chélation de métaux de transition comme le fer ou par inhibition de l'activité de la XO (**Li et al., 2014**).

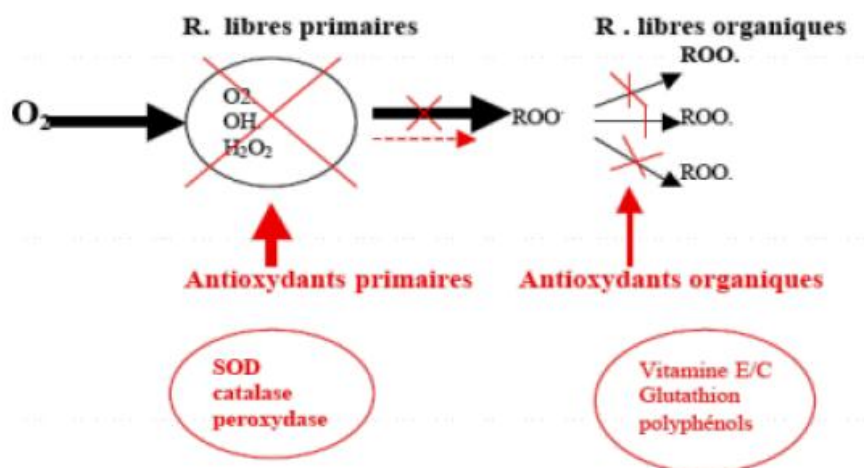


Figure 8. Les systèmes de défense contre les radicaux libres (Kohen et Nyska, 2002).

I.2.3.1.4.2. Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ) sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques (Yu et al, 2000). En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomiales du foie et des organes extra-hépatiques (Barlow, 1990).

I.2.3.2. Activité antibactérienne des polyphénols

Les polyphénols sont doués d'activités antibactériennes importantes et diverses, probablement du à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité. Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes. (Sandhar et al., 2011).

Il a été rapporté que les extraits de plantes et beaucoup d'autres préparations phytochimiques riches en flavonoïdes ont possédé une activité antimicrobienne (Tim et al., 2005).

Grâce à leur structure caractérisée par la présence de groupe phénolique, et d'autres fonctions chimiques, les flavonoïdes sont considérés de très bons agents antibactériens

(Harborne et Williams., 2000). De nombreuses études ont rapporté les activités antimicrobiennes des flavonoïdes. (Haraguchi et al.,1998 ; Inuma et al.,1994 ; Iniesta et al .,1990).

Le mécanisme des effets antibactériens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, on cite :

- Inhibition des fonctions de la membrane cytoplasmique due à l'intercalation des polyphénols dans les phospholipides membranaires (Daglia, 2012).
- Inhibition de la synthèse d'acide nucléique (Hilliard et al., 1995 ; Zhang et al., 2009).
- Inhibition du métabolisme énergétique microbien (Haraguchi et al., 1998, Daglia, 2012).
- Séquestration des substrats requis pour la croissance microbienne (Milane, 2004 ; Daglia, 2012).

II.1. matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Matériel végétal

a. Critères de choix de la plante

Vu l'importance de la biodiversité de notre région, on a essayé d'étudier une espèce végétale : *L. stoechas* L., appartient à la famille des Lamiacées, le choix de cette plante s'est basé sur

- ✓ Etude bibliographique et une enquête ethnopharmacologie auprès de la population locale ayant une connaissance de ses usages en médecine traditionnelle
- ✓ Ses utilisations traditionnelles dans le traitement des maladies d'origine microbienne.

b. Récolte, identification et conservation

La partie étudiée de la plante *L. stoechas* L. est la partie aérienne (sommités fleurées). Cette plante a été récolté le mois d'Avril 2018 au stade de floraison, où il y'a accumulation importante des substances bioactives, à partir de la population végétale spontanée de la wilaya de Bouira, Algérie.

L'identification botanique de l'espèce a été effectuée par le botaniste Dr SARRI Djamel au niveau du département des sciences de la nature et de la vie, Université de Mohammed Boudiaf M'sila (Algérie).

Le matériel végétal recueilli est séché à température ambiante et à l'abri de la lumière. Une fois séchée, le matériel végétal a été broyé, puis conservés à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur jusqu'à son utilisation.

II.1.1.2. Microorganismes utilisés

a. Souche bactériennes

Le choix des microorganismes a été porté sur cinq souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) fréquentes en pathologie humaine. Certaines d'entre eux sont souvent responsables de toxi-infections alimentaires constituant ainsi un problème majeur de santé publique, et sont caractérisées par leur résistance naturelle à divers agents antimicrobiens.

Deux groupes de bactéries ont été sélectionnés:

- Des bactéries Gram positif (Gram+): *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25 923, *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) ATCC 66 33.
- Des bactéries Gram négatif (Gram-): *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 27 853, *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25 922,

Ces souches ont été fournies aimablement par les responsables du laboratoire de Microbiologie de l'Institut Pasteur de M'sila.

b. Conservation des souches

La conservation des souches a été réalisée par ensemencement des souches isolées sur gélose nutritive inclinée dans des boîtes de pétri, les cultures pures sont conservées à + 4 °C à l'obscurité.

II.1.2. Matériel non biologique

Des antibiotiques ont été utilisés comme références (témoins positifs). Les équipements, la verrerie et les milieux de culture utilisés sont mentionnés dans l'Annexe 1.

II.2. Méthodes d'analyse

II.2.1. Préparation de l'extrait méthanolique

L'extrait Méthanolique de *L. steochas* L a été obtenu par macération de 100 g de broyat de la partie aérienne de la plante (feuilles et fleurs) dans 1L de méthanol pendant 7 jours sous agitation magnétique. L'opération est répétée trois fois, le mélange est d'abord filtré sur une gaze et ensuit sur papier Whatman. Les filtrats obtenus sont additionnés et évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif "BÜCHI" à une température de 40 - 50 °C. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur (Sharma et al., 2008).

II.2.2. Calcul du rendement

Les valeurs des rendements sont exprimées par rapport à la matière sèche. Le rendement en extrait méthanolique (R) est le rapport entre la masse de l'extrait et la masse de la matière végétale utilisée.

Le rendement, exprimé
formule suivante :

en pourcentage est calculé par la

$$R = P_B / P_A \times 100$$

R : Rendement de l'extrait en%

P_B : Poids de l'extrait en g

P_A : Poids de la plante en g

II.2.3. Taux d'humidité

Le taux d'humidité ou la teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subit lors de la dessiccation (**Audigié et al., 1978**) et a été déterminée par le procédé de séchage dans l'étuve à 105 °C, 2g de la matière fraîche été étuvé pendant 4 heure ; trois répétitions ont été réalisées, dont la moyenne représenterait le taux d'humidité (**Twidwell et al., 2002 ; Simpson, 1999**).

Le taux d'humidité de cette plante est calculé par la formule suivante (**Twidwell et al., 2002 ; Simpson, 1999**):

$$H\% = (\text{Poids } \alpha - \text{Poids } \beta) / \text{Poids } \alpha \times 100$$

H% : taux d'humidité exprimé en %.

α : Poids de l'échantillon « plante fraîche » en g.

β : Poids de l'échantillon « plante sèche » en g.

II.2.4. Analyses phytochimiques

II.2.4.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de **Wong et al., (2006)**. La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement par le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant l'essai de Folin-Denis ou généralement Folin-Ciocalteu. Ces essais sont basés principalement sur la réduction du réactif acide phosphotungstique phosphomolybdique (réactif de Folin) dans une solution alcaline (**Vuorela, 2005**).

200µl d'extrait (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (75g /l) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température

ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre (SECOMAM) à 765 nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (10-100 µg/ml) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg EAG/mg), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

II.2.4.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) cité par **Djeridane et al., (2006)** est utilisée pour quantifier les flavonoïdes.

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (o et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribéreau-Gayon et al., 1972**).

1 ml d'extrait et (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

Effectuer la même opération pour la quercétine à différentes concentrations en introduisant 1 ml de ces dernières dans une série de tubes et ajout de 1 ml d'AlCl₃ à 2%. Le blanc est représenté par l'éthanol additionné à l'AlCl₃, toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisé par un standard étalon "la quercétine" à différentes concentrations (3-30 µg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg).

II.2.5. Activités biologiques

L'activité antioxydante de l'extrait de *L. steochas* L a été évaluée par trois méthodes ; test de DPPH, pouvoir réducteur et capacité antioxydante totale TAC. L'activité antimicrobienne vis-à-vis des bactéries pathogènes par la méthode de diffusion à partir d'un disque solide.

II.2.5.1. Activité antioxydante

II.2.5.1.1. Test de DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'activité antioxydante d'extrait méthanolique a été évaluée par la mesure de piégeage du radical DPPH, selon le protocole décrit par **Blois (1958)**.

Dans ce test, les antioxydants réduisent le DPPH (diphényl-picryl-hydrazyl) de couleur violette en un diphényl-picryl-hydrazine de couleur jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Fig. 9) (**Mohemmedi et al., 2006**).

Le radical DPPH• entre en réaction avec des agents réducteurs donneurs d'atome d'hydrogène qui sont capables de réduire ce radical (**Hinneburg et al., 2006 ; Hubert, 2006 ; Subhasree et al., 2009 ; Coelho et al., 2010**).

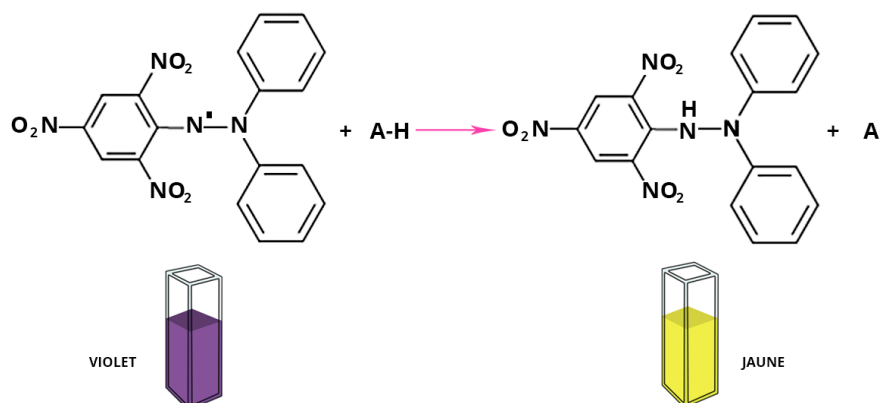


Figure 9. Forme libre et réduite du DPPH (**Mohammedi, 2006**).

Les substances qui sont en mesure d'effectuer cette réaction peuvent être considérées comme des antioxydants et donc des piègeurs de radicaux (**Amarowicz et al., 2004 ; Hinneburg et al., 2006 ; Mathew et Abraham, 2006**).

La capacité d'extrait de la plante à piéger le radical libre DPPH est évaluée en, suivant le calcul de l'IC₅₀ et de l'indice de l'activité antioxydante (AAI) (Scherer et Godoy, 2009).

L'évaluation de la capacité antioxydante est réalisée comme suit : à 0,5 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0,1mM, est ajouté 1,5 ml d'extrait à différentes concentrations. Le contrôle négatif est préparé, en parallèle, en mélangeant 1,5 ml de méthanol avec 0,5 ml de la solution méthanolique de DPPH. Après incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min, l'absorbance est mesurée à 517 nm. L'expérience est réalisée en triplicata.

Une expérience de contrôle positif a été effectuée en utilisant le BHT dont les concentrations varient entre 1 et 100 µg/ml.

- **Calcul de pourcentage d'inhibition**

L'activité antioxydante, qui exprime la capacité de piéger le radical libre DPPH est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH selon l'équation suivante (Fu et al., 2011):

$$\% \text{ d'activité anti-radicalaire} = [(Abs1 - Abs2) / Abs1] \times 100$$

Où: Abs 1: absorbance du contrôle (solution du DPPH sans extrait).

Abs 2 : absorbance en présence d'extrait ou du standard (BHT).

- **Calcul de concentration inhibitrice IC50**

La concentration inhibitrice (IC₅₀) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire et neutraliser 50% du radical DPPH (Bouhaddouda, 2016)

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées

Les valeurs d'IC₅₀ ont été reportées en tant que moyenne plus ou moins l'erreur standard (SD). Une faible valeur d'IC₅₀ indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH (Bouhaddouda, 2016).

- **L'indice de l'activité antioxydante**

L'indice de l'activité antioxydante (AAI) est calculé selon l'équation suivante (Bouhaddouda, 2016):

$$AAI = \text{concentration finale de DPPH } (\mu\text{g/ml}) / IC_{50} (\mu\text{g/ml}).$$

Les résultats d'AAI sont exprimés comme suite:

AAI < 0.5 → faible activité antioxydante.

1 > AAI > 0.5 → activité antioxydante modérée.

2 > AAI > 1 → forte activité antioxydante.

AAI > 2 → très forte activité antioxydante.

II.2.5.1.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans l'extrait est déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**.

La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreux.

Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (**Chung et al., 2002**).

En effet, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination «semi quantitative» des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (Fig. 10) (**Amarowicz et al., 2004**).

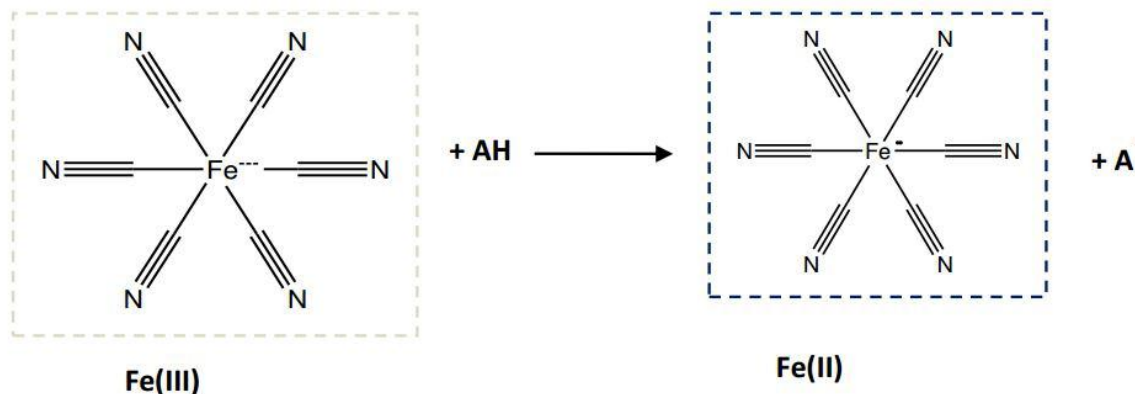


Figure 10. Mécanisme réactionnel intervenant lors du test pouvoir réducteur entre le complexe ferricyanide ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH)

Le protocole utilisé est celui décrit par **Oyaizu, 1986**. Dans un tube à essai en verre contenant 1 ml de solution d'échantillon à différentes concentrations, ont été ajoutés 2.5ml de tampon phosphate (0,2M : pH 6,6) puis 2.5 ml de potassium hexacyanoferrate [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] 1% dans l'eau distillée. L'ensemble est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes.

Un volume de 2.5ml d'acide trichloracétique (10%) est ensuite ajouté et le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes. Un aliquote de 2.5 ml de surnageant est transféré dans un autre tube auquel ont été ajoutés 2.5 ml d'eau distillée et 0.5ml de FeCl₃ 1% fraîchement préparé dans de l'eau distillée. Un blanc sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par méthanol.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'unantioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

Les résultats sont exprimés en concentration effective a 50/ (CE 50) qui traduit la concentration d'antioxydant nécessaire pour l'obtention d'une absorbance de 0.5.

II.2.5.1.3. Capacité antioxydant totale

Le test est basé sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO₄²⁻ à molybdène Mo (V) MoO₂⁺ en présence de l'extrait ou d'un agent antioxydant. Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/ Mo (V) à un pH acide (**Prieto et al., 1999**). On mesure l'augmentation de la coloration du complexe molybdène (VI) en présence d'antioxydant. A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydante des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines (C, E...).

La méthode consiste à introduire dans un tube 0.3ml de chaque extrait à différentes concentrations mélangés à 3ml d'un réactif composé de H₂SO₄ (0,6 M), de Na₂PO₄ (28 mM) et du molybdate d'ammonium (4 mM). Le tube est ensuite bien fermé puis incubé à 95°C pendant 90 minutes. Après les avoir refroidis, l'absorbance est mesurée à 695 nm. Le témoin est constitué de 0.3 ml de méthanol mélangé avec 3 ml du réactif mentionné ci-dessus.

Les échantillons et les témoins sont incubés dans les mêmes conditions.

Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalent acide ascorbique par milligramme de l'extrait (µg EAA/mg d'extraits).

II.2.5.2. Activité antimicrobienne

La technique utilisée est celle de la diffusion sur disque en milieu gélosé ou encore méthode des disques (**Dayal et Purohit, 1971**). C'est une méthode d'évaluation qualitative *in vitro* du pouvoir antibactérien d'extrait.

Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'extrait par diffusion dans la gélose. Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, est généralisée aux extraits (**Tharib et al., 1983**).

Pour obtenir des résultats fiables, il faut travailler dans des conditions standardisées car plusieurs facteurs peuvent influencer les résultats: la densité de l'inoculum, la température le temps d'incubation, la concentration du produit à tester, la composition du milieu de culture ainsi que l'épaisseur de la gélose (**Guerin-Fauble et Carret, 1999**).

La méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé est utilisée pour la détermination de l'activité antimicrobienne des extraits selon la méthode décrite par **Gulluce et al. (2007)**.

▪ Préparation de l'inoculum

Les espèces cibles (souches bactériennes choisies) ont été revivifiées et repiquées dans la gélose nutritive, puis incubées à des températures optimales de développements (37 °C) pendant 18-24 heures pour les bactéries et à 30°C pendant 24-48 heures pour les levures afin d'obtenir une culture jeune. Par la suite, des suspensions troubles de ces souches seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques. On les dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex. Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO à 600 nm) sur un spectrophotomètre. Une DO de 0,08 à 0,1 correspond à une concentration de 10⁸ UFC/ml (units forming colony/ ml) (**Athamena et al., 2010 ; Karatas & Ertekin, 2010 ; Rahal et al., 2005 ; Sarac & Ugur, 2007; Yen Tan & Siew Yong Ng, 2006**).

▪ Ensemencement

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé MH pour les bactéries et sabouroud pour les levures en surfusion est coulé aseptiquement à raison de 15 ml par boîte. Après la solidification, un écouvillon stérile imbibé avec la suspension bactérienne fraîchement préparée est étalé à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. On laisse sécher les boîtes pendant 15 à 20 min.

▪ Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de l'extrait méthanolique. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'extrait.

Nous avons utilisé trois antibiotiques différents, Ofloxacin 5 μ g (OFL), Gentamicine 10 μ g (GM), Chloramphénicol 30 μ g (CHL). Le choix a été fait en fonction de la disponibilité.

▪ Test de sensibilité de l'extrait : Aromatogramme

La solution mère est préparée par solubilisation de l'extrait brute dans le diméthyl sulfoxyde (DMSO) à 10%, pour atteindre des concentrations de 200 mg/ml, 400 mg/ml, 600mg/ml.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre stérilisés de 3 mm de diamètre (Whatman n°1), stérile sont déposés à la surface de la gélose ensemencée à raison de quatre disques par boîte. Chaque disque est ensuite imprégné d'une quantité de 10 μ l de l'extrait méthanolique de différentes concentrations.

Les disques de papier filtre stérilisés de 3 mm de diamètre (Whatman n°1), imprégnés de 10 μ l de DMSO sont déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile. Le DMSO est utilisé comme contrôle négatif.

▪ Incubation

Toutes les boîtes de Pétri sont scellées avec du para film stérile, puis incubées à 37 °C pendant 18-24 heures pour les bactéries et 24-48 heures pour les levures

▪ Expression des résultats

Les résultats des aromatogrammes sont exprimés exclusivement à partir de la mesure du diamètre des halos d'inhibitions, en millimètre et enregistrée en tant que moyenne \pm Erreur standard. Tous les tests sont effectués en triplicata.

Cette mesure est souvent transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité antimicrobienne (**Tab. II**).

Tableau II. Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition pour des disques imprégnés de 10 μ l d'extrait (**Belaiche, 1979**).

INHIBITION* mm	TRANSCRIPTION	SENSIBILITE
0	0	Résistant
<5	±	Peu sensible
>10	+	Sensible
20 à 30	++	Assez sensible
> 30	+++	Très sensible

* valeur du diamètre du disque imbibé soustraite

II.3. Analyses statistiques

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm erreur standard à la moyenne. L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel Graph pad Prism 7. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour $p < 0,05$ dans l'ensemble des analyses statistiques le test de Student est utilisé.

III. Résultats et discussion

III.1. Rendement d'extraction

Le rendement (Rdt) de l'extrait de cette population de *L. stoechas* L. est présenté dans le tableau suivant (Tab. III) dont la valeur représente la moyenne des Rdt d'extraction obtenue sur 3 extractions indépendantes.

Tableau III. Rendement de l'extrait de *L. stoechas* L. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

Espèce	Essai	Rdt (%)	
<i>L. stoechas</i> L.	1	22,06	22,72 \pm 1,65
	2	21,5	
	3	24,06	

L'extraction des composés phénoliques de *Lavandula stoechas* L. a donné un rendement de 22,72 \pm 1,65 %. Ce résultat est très important et nettement supérieurs à celui reporté par **Bachiri (2016)** qui a obtenus un rendement de 13,4 \pm 0,12 % en Maroc.

L'utilisation d'une autre méthode d'extraction (Infusion et décoction) a révélée des composés phénoliques toujours inférieurs aux résultats obtenus dans notre étude évaluée à 18,4 \pm 0,15% et 15,3 \pm 0,06% respectivement.

Notant que le méthanol est le solvant le plus largement utilisé pour l'extraction de substances phénoliques des Lamiacées. **Cakir et al. (2006)** et **Sharififar et al. (2009)** dans une étude sur les composés phénoliques de *Teucrium*, ont rapporté que le méthanol donnait un rendement d'extraction plus élevé que l'acétone, le chloroforme, l'eau et l'éther de pétrole.

Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie étant donné que notre étude est la première à mettre en évidence le rendement en extrait méthanolique de cette plante endémique.

Les rendements peuvent être influencés par plusieurs paramètres et dépendent entre autre de la composition chimique et les caractéristiques physiques de la matière végétale ainsi que la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (**Lee et al., 2003 ; Dai et Mumper, 2010**).

III.2. Détermination du taux d'humidité

Les végétaux sont riches en eau, les analyses de notre échantillon ont révélé un taux d'humidité (TH) important correspond à environ 74,62 %. Cela signifie approximativement plus de la moitié du poids de la plante fraîche est constituée par l'eau et le reste du poids de la plante (25,38 %) c'est la matière sèche (Fig. 11).

Parallèlement **Bachiri et al. (2016)** au Maroc montre aussi le taux d'humidité de cette espèce est constituée plus de la moitié du poids frais (64 %). L'inversement de **Mohammedi (2006)** illustre le TH de la plante fraîche de la région d'Oum el Alou de Tlemcen (Algérie) est constitué la moitié (52,5 %) du poids.

Plusieurs facteurs pourraient influencer la teneur en eau et en matière sèche des plantes comme la nature des fibres, l'âge des plantes, l'état du sol et la durée de conservation du végétal après récolte (**Bachiri et al., 2016**).

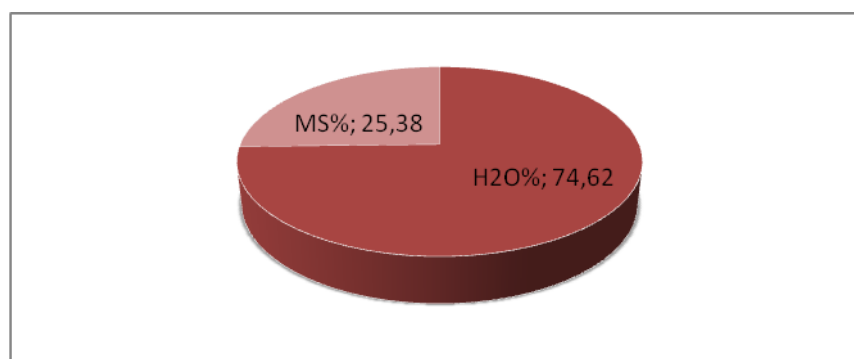


Figure 11. Le taux d'humidité et la matière sèche (MS %) de *L. stoechas* L.

III.3 Analyses phytochimiques

III.3.1 Dosage des polyphénols

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en μg équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait brut (μg GAE/mg), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans la figure 12.

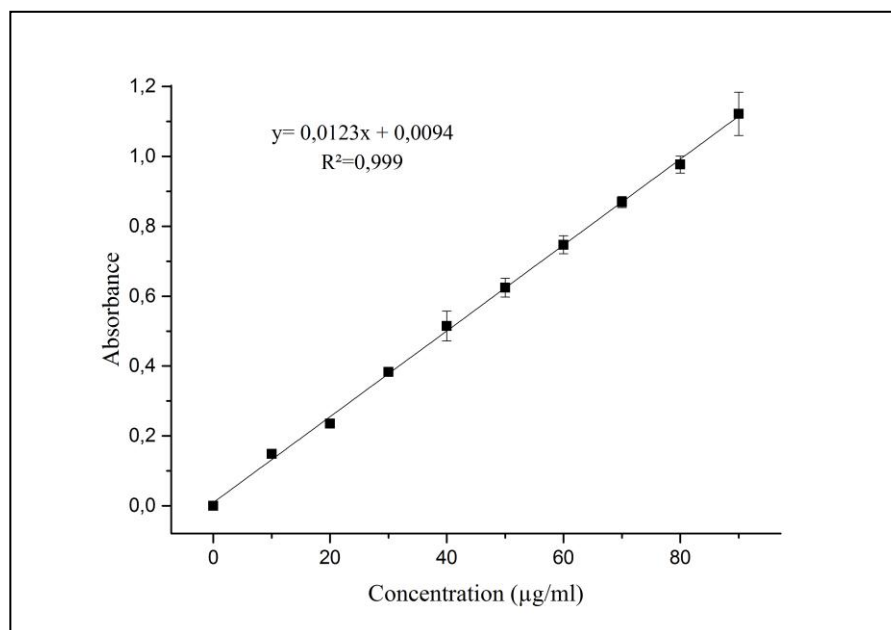


Figure 12. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

En présence des polyphénols, le complexe Folin-Ciocalteu voit sa couleur passer du jaune au bleu, ce qui permet de mesurer l'intensité de la couleur à la longueur d'onde de 700 nm (Huang et al., 2005).

Les résultats du dosage des polyphénols totaux révèlent que l'extrait méthanolique de l'espèce *Lavandula stoechas* L contient une teneur de l'ordre de $211,25 \pm 5,21 \mu\text{g}$ EAG/mg d'extrait. Cette concentration est très importante, et pour cette plante dont l'extrait méthanolique n'a fait objet que de très peu d'études. Dans une étude réalisée sur cette même espèce étudiée de Tunisie, la détermination de la teneur en polyphénols totaux de la partie aérienne de l'extrait méthanolique, a donné un taux de phénols totaux de $25,2 \pm 0,4 \mu\text{g}$ EAG/mg d'extrait, ce qui est 10 fois moins que celui obtenu dans notre étude (Messaoud et al., 2011).

Ceylan et al. (2015) ont trouvé une valeur assez inférieure de notre résultat avec une teneur en polyphénols de $105,5 \pm 2,7 \text{ mg}$ EAG/ mg d'extrait sec pour un extraits méthanolique de la partie aérienne de la même variété du Turc.

Nos résultats ressemblent à ceux trouvés par Gulçin et al. (2003) sur la même espèce végétale. En effet, ils ont déterminé $226,74 \mu\text{g}$ EAG/ mg d'extrait pour un extrait éthanolique et $153,92 \text{ } 74 \mu\text{g}$ EAG/ mg d'extrait pour l'extrait aqueux.

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (Falleh *et al.*, 2008). En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Falleh *et al.*, 2008 ; Podsdek, 2007).

En fait, la solubilité des polyphénols est gouvernée par le type de solvant utilisé, leur degré de polymérisation, de leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles. Pour une récupération importante de polyphénols, le méthanol est le solvant approprié (Falleh *et al.*, 2008).

III.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique (Djeridane *et al.*, 2006), la quercétine, considérée comme contrôle positif, a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, à partir de laquelle nous avons calculé la teneur en flavonoïdes, exprimée en μg équivalent de quercétine (EQ) par milligramme de matière d'extrait de plante (Fig.13).

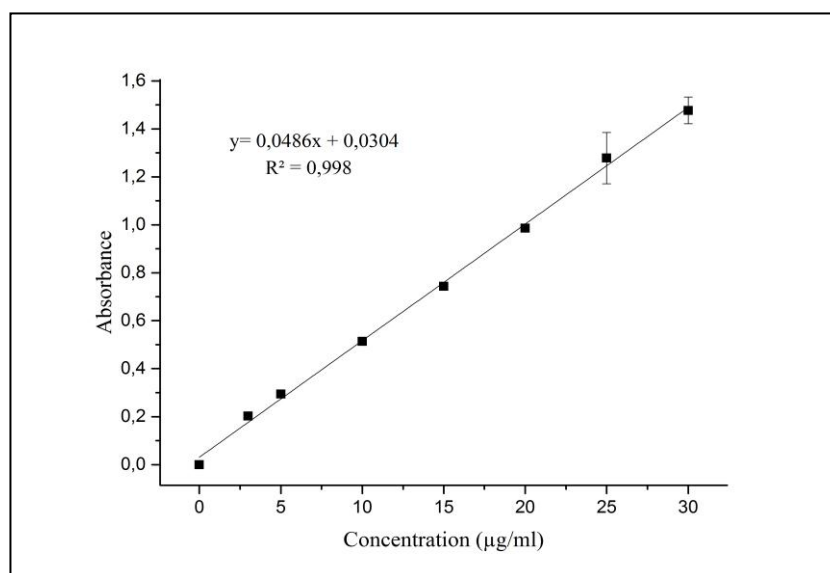


Figure 13. La courbe d'étalonnage de la quercétine. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD ($n = 3$).

La raison principale pour laquelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

Les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes révèlent que L'extrait méthanolique de la lavande contient $23,2 \pm 0,56 \mu\text{g EQ/mg}$. **Messaoud et al, (2011)** ont également trouvé que l'extrait méthanolique du *L.steochas* L contient $10.1 \pm 0.3 \mu\text{g EQ/mg}$. Ces teneurs résultats sont inférieurs par rapport à nos résultats. Ces résultats obtenus sont assez proche de celui trouvé par **Menaceur et Hazzit. (2014)** qui est de $26 \mu\text{g EQ/ mg}$ d'extrait éthanolique de la même variété de la région de Bouira.

Les résultats du dosage montrent que la proportion en polyphénols est nettement supérieure à celle des flavonoïdes, ceci suggère que les polyphénols présents ne sont pas tous des flavonoïdes, il peut y avoir présence d'autres polyphénols tels que les tanins catéchiques ainsi que les coumarines (**Al-Khateeb et al., 2012**). Ces rapports permettent de conclure que la variation des flavonoïdes n'est pas relative à celles des polyphénols, cela peut être expliqué par la prépondérance des polyphénols non flavonoïdes.

III.4. Evaluation de l'activité biologique

III.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

La plupart des activités antioxydante des plantes sont dues à la présence de composés phénoliques (**Mansouri et al., 2005**).

L'activité antioxydante d'extraits a été évaluée *In vitro* par trois méthodes différentes : Le test de piégeage du radical DPPH, Le pouvoir réducteur de l'extrait et la Capacité antioxydante totale.

III.4.1.1. Le test de piégeage du radical DPPH

Presque 90% des études sur l'activité antioxydante (AA) utilisent la méthode du DPPH (**Kulisc et al., 2004 ; Moon & Shibamoto, 2009**). Cette méthode est simple et rapide d'étudier l'antioxydant (**Koleva et al., 2002**) mais fortement sensible (**Moon & Shibamoto, 2009**). Elle est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron, la forme non radicalaire DPPH-H est formée (**Bortolomeazzi et al., 2007**).

La capacité antioxydant d'extrait a été déterminée à partir de l'IC₅₀, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radicale DPPH. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Hebi & Eddouks, 2016**).

La méthode DPPH a reçu la plus grande attention en raison de sa rapidité, sensibilité,

commodité et de sa reproductibilité (Nur Alam *et al.*, 2013).

A partir des valeurs obtenues de l'Abs (ou DO), les PI d'extrait et l'antioxydant standard (BHT) ont été calculés (Fig.14, 15). Les résultats lors de ce test ont permis de tracer les courbes qui représentent le PI en fonction de la concentration.

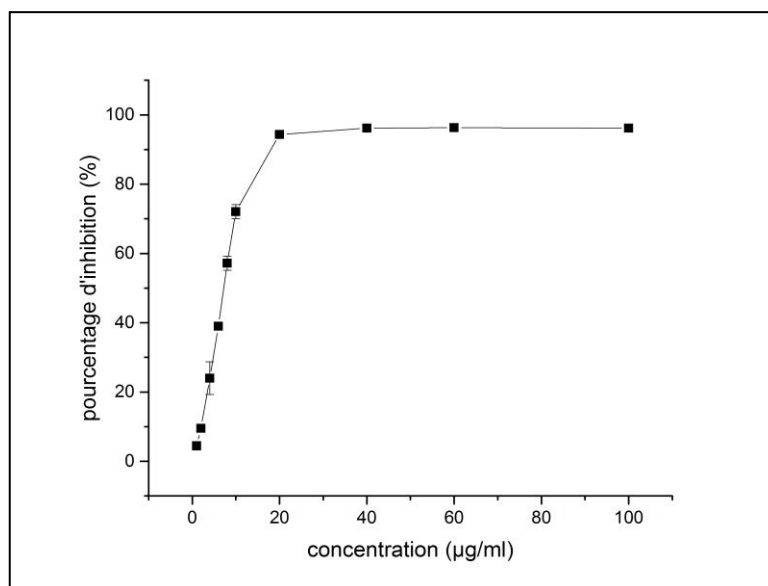


Figure 14. Activité anti-radicalaire au DPPH de l'extrait de *L. stoechas* L. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

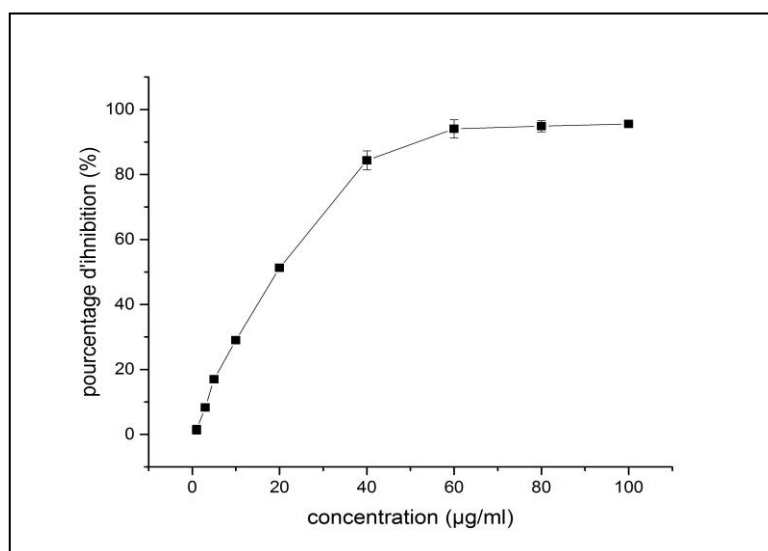


Figure 15. Activité anti-radicalaire au DPPH de standard BHT. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'extrait ou pour le BHT.

Le pourcentage d'activité antiradicalaire nous a permis de déterminer l'IC₅₀, L'IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Les valeurs des IC₅₀ pour l'extrait de la lavande et BHT sont indiquées dans la figure 16.

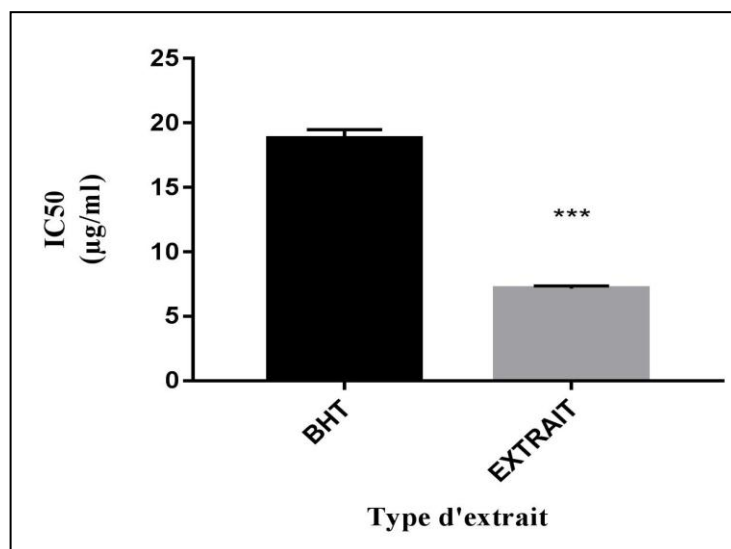


Figure 16. Histogrammes exprimant les IC₅₀ (µg/ml) permettant la réduction de 50 % du DPPH. Chaque valeur représente la moyenne ±SD (n=3). *** : $p \leq 0.001$, en comparant avec le BHT.

L'extrait méthanolique de *L. steochas* L a montré une très forte activité antioxydante sur les radicaux DPPH avec une IC₅₀ = 7,16 ± 0,11 µg/ml et un AAI (indice de l'activité antioxydante) de 5.63 par rapport à l'antioxydant synthétique de référence, le BHT (IC₅₀ = 18,81 ± 0,39 µg/ml et AAI = 2,09). Cette activité pourrait être liée à son richesse en polyphénols. Les résultats montrent que l'effet scavenger des extraits sur le radical DPPH est très significatif ($p < 0.001$, en les comparant avec le contrôle) et d'une manière dose-dépendante. De même, ils sont nettement supérieurs au résultat trouvé par **Messaoud et al, (2011)** qui est 34.2 ± 3.1 µg/ml pour l'extrait méthanolique des feuilles de la même espèce de la région de la Tunisie.

Une étude menée par **Ceylan et al. (2014)** sur la même espèce de plante de Turc montré des IC₅₀ de 300 ± 1.24 µg/ml des feuilles.

Ces résultats sont conformes aux résultats de beaucoup de groupes de recherche, qui ont rapporté une telle corrélation positive entre le contenu phénolique total et l'activité antioxydante (**Wong et al., 2006 ; Djeridane et al., 2006 ; Tawaha et al., 2007 ; Perez et al.,**

2007 ; Hayouni *et al.*, 2007 ;Turkmen *et al.*, 2007 ;Wojdylo *et al.*, 2007 ; Surveswaran *et al.*, 2007).

Généralement, les polyphénols avec un nombre élevé de groupements hydroxyles présentent l'activité antioxydante la plus élevée (Heim *et al.*, 2002) due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (Torres de pinedo *et al.*, 2007), ce qui peut expliquer en partie que l'activité anti-radicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituants sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, méthoxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation (Popovici *et al.*, 2010). Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement dose-dépendant mais également structure-dépendant (Rodriguez-Bernaldo *et al.*, 2010).

Les acides phénoliques et flavonoïdes de *Lavandula stoechas* L, tels que la rutine et l'acide caféique ont été signalés comme les composés responsables pour l'activité antioxydante (Apak *et al.*, 2004).

Selon (Turkmen *et al.*, 2007) les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale.

D'un autre part, la fraction phénolique n'incorpore pas tous les antioxydants et les interactions synergiques entre les antioxydants dans un mélange fait que l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants (Falleh *et al.*, 2008).

III.4.1.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans *L. stoechas* L est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (1986). La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung *et al.*, 2002).

En d'autre terme, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semiquantitative » des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction rédox (Amarowicz *et al.*, 2004). Cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible (Benzie I.F.F. et Strain J.J, 1996). Il est universel peut être appliqué aussi bien

chez les plantes que les plasmas et dans les extraits organiques et aqueux (Li H-B et al, 2008).

Beaucoup de publications actuelles ont indiqué qu'il y a une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance de réduction des composants de quelques plantes (Bentabet et al., 2014). Les résultats obtenus (Fig. 17 et 18), démontrent que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration d'extrait de *L. steochas* L et du Vit C.

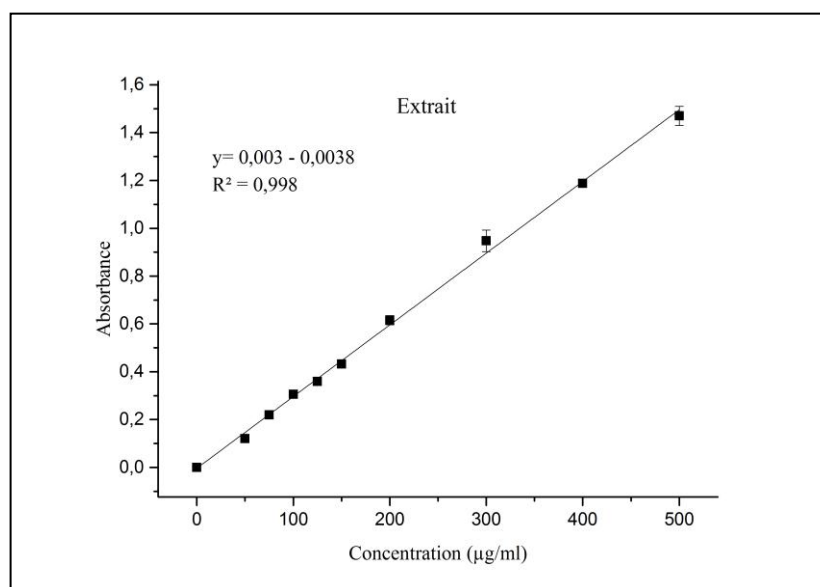


Figure 17. Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de *L. steochas* L à 700 nm. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n=3).

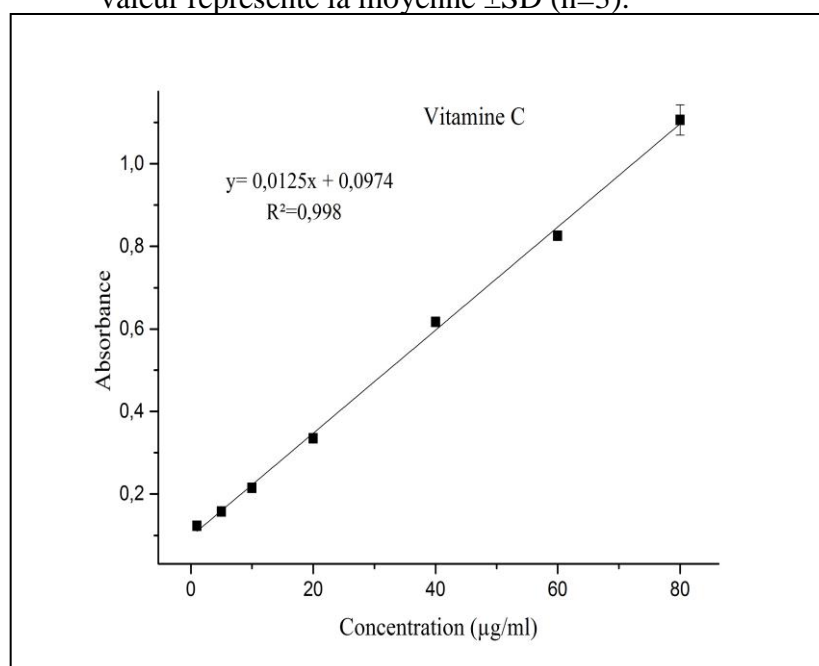


Figure 18. Pouvoir réducteur de la vitamine C à 700 nm. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n=3).

Les valeurs des EC50 pour l'extrait de la lavande et Vit C sont indiquées dans la figure 19.

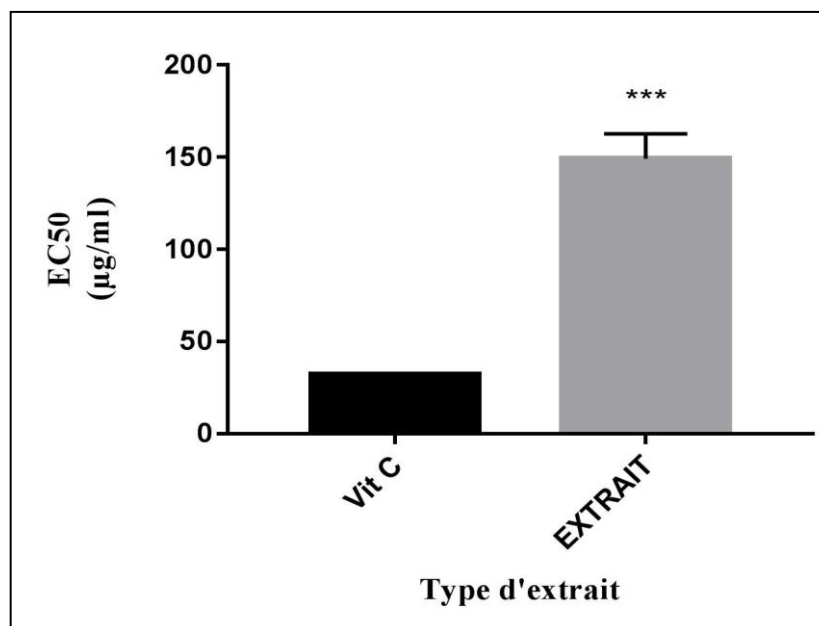


Figure 19. Histogrammes exprimant les EC 50 (µg/ml) permettant la réduction de 50 % du fer. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n=3). *** : $p \leq 0.001$, en comparant avec le BHT

Les concentrations effectrices (EC50) de l'extrait et de la vitamine C (Figure 19) montrent que l'extrait méthanolique présente un potentiel réducteur avec une EC50 de $149,2 \pm 7,79$ µg/ml. Ce pouvoir réducteur est presque cinq fois inférieur à celui du Vit C ($p < 0.001$) dont les EC50 sont de $32,08 \pm 0,085$ µg/ml. De ce fait, nous pouvons dire que l'extrait méthanolique de la lavande possède une activité antioxydante très intéressante avec la technique de pouvoir réducteur.

Selon l'étude de **Ceylan et al, (2014)** qui a confirmé que l'absorption plus élevée signifie un antioxydant réducteur de fer plus élevé. La réduction du pouvoir antioxydant de l'extrait végétal sur les ions ferriques est associée à leurs phytoconstituants tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes, exercer la rupture de la chaîne des radicaux libres. Ainsi, le redox Le potentiel des composés phénoliques a joué un rôle important rôle dans la détermination de la capacité antioxydante (**Leighton et al, 2000** et **Miller 1997**).

Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Bougandoura et Bendimerad, 2012**).

III.4.1.3. Capacité antioxydant totale

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verdâtre (Prieto *et al.*, 1999).

La capacité antioxydante totale des extraits étudiés est exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique (Vit C) à partir d'une courbe d'étalonnage (Fig. 20).

Les résultats ainsi représentés montrent que la capacité antioxydante totale est proportionnelle à la concentration de nos échantillons. Ces derniers sont exprimés en μg équivalent d'acide ascorbique par mg de l'extrait (μg EAA/mg) Fig. 21

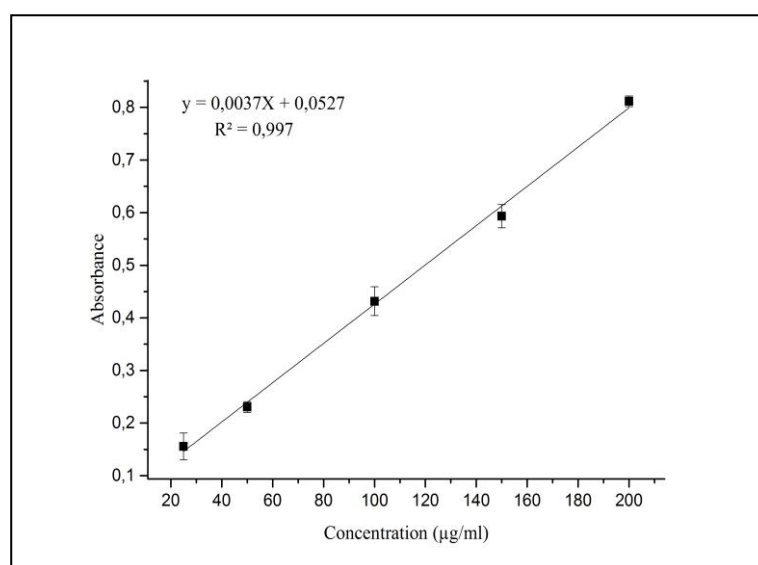


Figure 20. Droite d'étalonnage de l'acide ascorbique pour mesurer la capacité antioxydante.

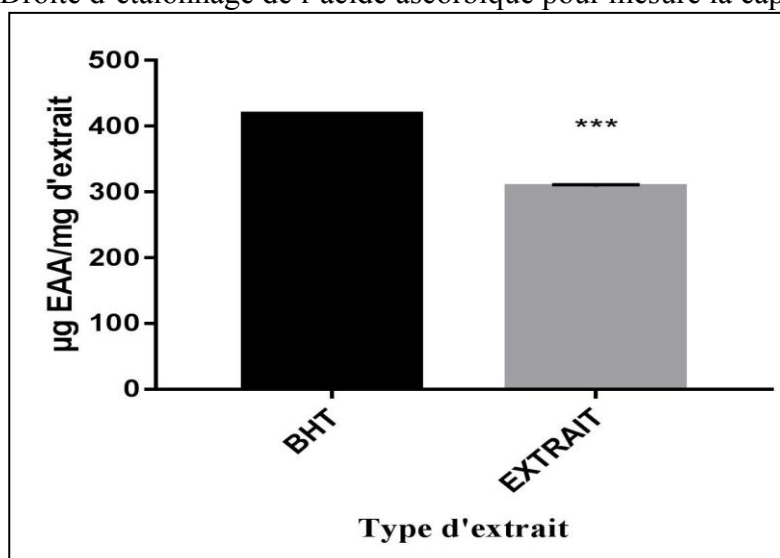


Figure 21. Capacité antioxydante totale d'un extrait de *L. steochas* L et de BHT

Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n=3). *** : $p \leq 0.001$, en comparant avec le BHT.

A la concentration de 1mg/ml, l'extrait méthanolique et le BHT ont un pouvoir antioxydant plus élevé (respectivement $307,9 \pm 1,83 \mu\text{g EAA/mg}$ d'extrait et $418 \pm 0,76 \mu\text{g EAA/mg}$ de BHT). Les résultats montrent que la capacité antioxydante totale de l'extrait est très significatif (*** ; $p < 0.001$, en comparant avec le contrôle) et d'une manière dose-dépendante. Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie étant donné que notre étude est la première à mettre en évidence la capacité antioxydante totale de cette plante endémique.

Ce pouvoir antioxydant observé dans les trois extraits peut être dû essentiellement à la richesse des extraits en polyphénols particulièrement les flavonoïdes, et aussi en fonction des structures chimiques des molécules bioactives.

Il existe une bonne corrélation entre la capacité antioxydante totale et la teneur en polyphénols et flavonoïdes de l'extrait méthanolique. Cette différence de corrélation peut être attribuée à la nature des composés polyphénols qui sont responsables de l'activité antioxydante.

La capacité antioxydante totale ne peut être attribuée seulement aux polyphénols mais à d'autres composés présents (tanins, saponines, phénanthrènes) dont leur teneur et leur activité antioxydante au niveau des végétaux est non négligeable (Mota, 1985).

De nombreux travaux ont montré qu'il existe une corrélation exponentielle linéaire entre la teneur en flavonoïdes et leur capacité antioxydante ou effet scavenger (Borneo *et al.*, 2008 ; Soury *et al.*, 2008).

III.4.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Le pouvoir anti bactérien de l'extrait méthanolique de la *lavandula steochas* L, est étudié *in vitro* par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé solide (Dayal et Purohit, 1971).

Cette activité est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des zones contenant les extraits méthanoliques à tester vis-à-vis les cinq germes pathogènes testés où on a 2 germe Gram+ : *S. aureus*, *B. subtilis* et deux germe Gram- : *P. aeruginosa*, *E. coli*, et un levure : *C. albicans*.

Après 24h d'incubation à une température adéquate de 37°C pour les bactéries et 48h à 30°C, le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre (Tableau. VI, V).

Tableau IV. Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les antibiotiques exprimée en mm (moyenne \pm SD), transcrite en sensibilité.

Souches/ /Test		Antibiotiques			
		Antibiotiques utilisés	Diamètres d'inhibition	Transcription	Sensibilité
Gram+	<i>S. aureus</i>	GM 10 μ g	18.67 \pm 0.58	+	sensible
		CHL 30 μ g	21.33 \pm 1.15	++	Assez sensible
		OFL 5 μ g	20.67 \pm 1.15	++	Assez sensible
	<i>B. subtilis</i>	GM 10 μ g	20 \pm 1	++	Assez sensible
		CHL 30 μ g	30.33 \pm 0.58	+++	Très sensible
		OFL 5 μ g	20 \pm 0	++	Assez sensible
Gram-	<i>P. aeruginosa</i>	GM 10 μ g	24.33 \pm 0.58	++	Assez sensible
		CHL 30 μ g	25.33 \pm 0.58	++	Assez sensible
		OFL 5 μ g	21 \pm 1	++	Assez sensible
	<i>E. coli</i>	GM 10 μ g	21 \pm 1	++	Assez sensible
		CHL 30 μ g	30.33 \pm 0.58	+++	très sensible
		OFL 5 μ g	21. \pm 1	++	Assez sensible
Levure	<i>C.albicans</i>	NYS 100 μ g	21,17 \pm 1,44	++	Assez sensible

Tableau V. Diamètre des zoes d'inhibition de la croissance microbienne par l'extrait exprimée en mm (moyenne \pm SD), transcrite en sensibilité.

Souches/ /Test		Extrait 200 mg/ml			Extrait 400 mg/ml			Extrait 600 mg/ml		
		Diamètres d'inhibition	Transcription	Sensibilité	Diamètres d'inhibition	Transcription	Sensibilité	Diamètres d'inhibition	Transcription	Sensibilité
Gram+	<i>S. aureus</i>	11 \pm 1	+	Sensible	13,67 \pm 0,58	+	Sensible	15,67 \pm 0,58	+	Sensible
	<i>B. subtilis</i>	0 \pm 0	+	9	11,75 \pm 1,25	+	Sensible	15,25 \pm 0,75	+	Sensible
Gram-	<i>P. aeruginosa</i>	8,75 \pm 0,25	\pm	Peu Sensible	10 \pm 0	+	Sensible	10,5 \pm 0,5	+	Sensible
	<i>E. coli</i>	0 \pm 0	+	Résistant	0 \pm 0	+	Résistant	7,5 \pm 0,41	\pm	Peu Sensible
levure	<i>C. albicans</i>	7,5 \pm 1	\pm	Peu Sensible	8,83 \pm 1,04	\pm	Peu Sensible	12,25 \pm 1,25	+	Sensible

Pour l'antibiotique Gentamicine les souches bactériennes, *E. coli* ; *B. subtilis* et *P. aeruginosa*, sont assez sensibles avec des zones d'inhibition de 21,00 \pm 1,00 mm ; 20,00 \pm 1,00 mm et 24,33 \pm 0,58 mm respectivement et sont sensibles avec des zones d'inhibition de 18,67 \pm 0,57 mm pour *S. aureus*.

Pour le chloramphénol les deux bactéries l'*E. coli* et *B. subtilis* sont très sensibles avec des zones d'inhibition de 30,33 \pm 0,57 mm et 30,33 \pm 0,58 mm respectives et assez sensibles avec des zones d'inhibition de 21,33 \pm 1,15 mm pour *S. aureus* ; 25,33 \pm 0,58 mm pour *P. aeruginosa*.

Finalement, Tous les souches bactériennes étudiées (*E. coli* ; *S. aureus* ; *B. subtilis* ; *P. aeruginosa*) sont assez sensibles à l'antibiotique ofloxacine avec des zones d'inhibition de 21,00 \pm 1 mm ; 20,67 \pm 1,15 mm ; 20,00 mm ; 21,00 \pm 1 mm ; 27,50 \pm 0,5 mm respectivement.

Les résultats des aromagrammes de nos extraits montrent que toutes les souches bactériennes apparaissent presque sensibles pour les C=200 mg/ml et C= 400 mg/ml C= 600mg/ml dont les diamètres des zones d'inhibition de la croissance sont variés entre $11\pm 1\text{mm}$ et $13,67\pm 0,58\text{mm}$ et $15,67\pm 0,58\text{mm}$ pour *S. aureus*, varie entre $0\pm 0\text{mm}$ et $11,75\pm 1,25\text{mm}$ et $15,25\pm 0,75\text{mm}$ pour *B. subtili*, $8,75\pm 0,25\text{mm}$ et $10\pm 0\text{mm}$ et $10,5\pm 0,5\text{mm}$ pour *P. aeruginosa*, atteint $0\pm 0\text{mm}$ et $0\pm 0\text{mm}$ et $7,5\pm 0,41\text{mm}$ pour *E. coli* tandis que le diamètre d'inhibition de *C.albicans* varie entre $7,5\pm 1\text{mm}$ $8,83\pm 1,04\text{mm}$ et $12,25\pm 1,25\text{mm}$. Ces diamètres des zones sont proches ou inférieure à celle des zones des antibiotiques.

Afin de tester l'effet du DMSO sur les souches bactériennes, une culture témoin a été réalisée. Les résultats auxquels nous avons abouties font apparaître que le DMSO n'a aucune activité antibactérienne dont les zones d'inhibition sont totalement absentes (Fig. 22).

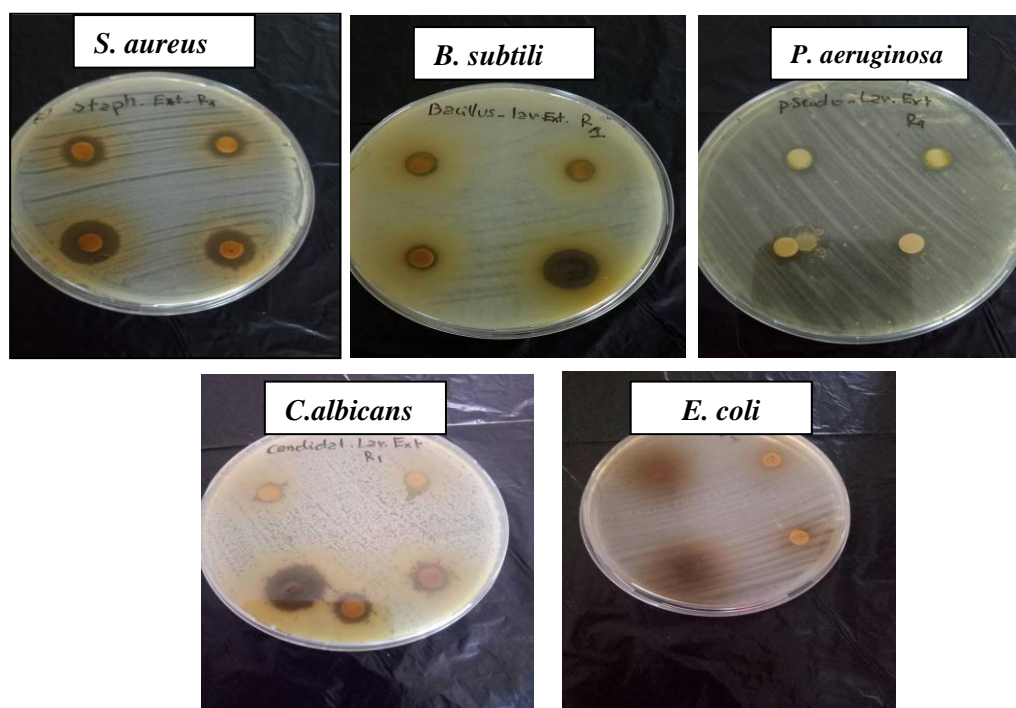


Figure 22. Résultats de l'activité antibactérienne d'extrait de *L. steochas* L sur les souches étudiés. (Originale, 2018).

L'évaluation de l'activité antibactérienne d'extrait de *L. steochas* L par la méthode de diffusion sur disques a montré que l'extrait *L. steochas* L a un effet efficace dans l'inhibition du développement bactérienne soit Gram+ ou Gram-

Le pouvoir antibactérien contre les bactéries à Gram positifs est plus important que les bactéries à Gram négatifs et dans ce contexte, il est remarquable que l'extrait présente une activité importante contre *S. aureus* et *B. subtilis*.

Ces résultats sont confirmés par **Bosnić et al., 2002** où ils ont signalé un effet faible à moyen vis-à-vis la souche bactériennes *E. coli*.

Cowan (1999) a rapporté que les différentes classes de poly phénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique. En outre, il est évident que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité. L'effet antimicrobien de ces phénols peut être expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques (**Dhaouadi et al., 2010**).

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents composés (**Essawi et Srour, 2000**).

Le mécanisme des effets antimicrobiens des polyphénols est sans doute très complexe. Parmi les hypothèses avancées, l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique, l'altération des fonctions de la membrane cytoplasmique, la séquestration de substrats nécessaires à la croissance microbienne et l'inhibition du métabolisme énergétique microbien (**Jungkind, 1995**).

Les bactéries à Gram négatifs apparaissent plus résistantes comparées à celle de Gram positifs, cela est dû principalement à la différence de structure de leur paroi externe, ainsi que la membrane des bactéries à Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides et en protéine par rapport de celles à Gram positifs qui rendent ces bactéries plus hydrophiles, et empêche les terpènes de s'adhérer à la structure en cause (**Marzouk et all,2006**)Le site d'action d'extrait sur les cellules bactériennes est la membrane plasmique. Les composés phénoliques sont reconnus toxiques et auraient pour cible les enveloppes des microorganismes telles que la membrane plasmique et la paroi (**Weber and de Bont, 1996**).

Généralement, toutes les plantes de la famille *Lamiaceae* connues pour ses composés phénoliques, ont été prouvé actif contre une variété de micro-organismes (**Gortzi et al., 2007**). L'activité antimicrobienne du romarin a été également attribuée à l'acide rosmarinique, l'acide chlorogénique et l'acide caféique (**Tsai et al., 2007**), l'acide carnosique et à quelques composés de l'huile essentielle, principalement le bornéol et le camphre (**Ramirez et al., 2007**).

La période de récolte et stade de maturité de la plante influent directement sur le pouvoir antimicrobien. Ceci est rapporté par les travaux de **(Nafajian et al, 2012)** qui révèlent que le meilleur temps de récolte est obtenu pendant la floraison complète de la plante.

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. La majorité des médicaments actuels sont des copies concentrées de remèdes végétaux, notamment les polyphénols qu'ils sont les composés les plus intéressants et les plus étudiés de nos jours.

L'extraction des composés phénoliques par macération dans le méthanol a permis de montrer que la plante *Lavandula stoechas* L. est riche en composés phénoliques avec un rendement estimé de $22,72 \pm 1,65\%$, ce rendement est important par rapport à d'autres travaux similaires.

Quantitativement, l'évaluation du teneur en polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités importantes en polyphénols; De même le dosage des flavonoïdes par la méthode d' $AlCl_3$ a mené à conclure que cette plante contient une quantité moyenne des flavonoïdes.

Les potentialités antioxydantes de l'extrait méthanolique sont évaluées par divers mécanismes ; le piégeage direct des radicaux libres par la méthode du radical libre DPPH, le pouvoir réducteur et la capacité antioxydante totale (TAC). Les résultats *in vitro* ont révélé des activités antioxydantes pour extrait brut. Un fort pouvoir de piégeage du DPPH supérieur à celui du BHT avec IC_{50} de $7,163 \pm 0,1139 \mu\text{g/ml}$ et $18,81 \pm 0,3968 \mu\text{g/ml}$ respectivement. Il est à noter aussi que cette espèce étudiées montre un pouvoir antioxydant élevé vis-à-vis le pouvoir réducteur avec une EC_{50} $149,2 \pm 7,795 \mu\text{g/ml}$. Les résultats du test à la capacité antioxydante totale ont montré que l'extrait méthanolique du lavande a présenté une capacité antioxydante totale importante.

les résultats sont en accord avec ceux décrits dans la littérature. En effet la lavande est une plante qui appartient à la famille des *Lamiaceae*, qui inclut un grand nombre de plantes qui sont bien connu pour leurs propriétés anti-oxydantes et que la plupart de leurs composants antioxydants ont été identifiés (Tepe *et al.*, 2006 ; Kivilompolo *et al.*, 2007).

L'étude du pouvoir antimicrobien de l'extrait méthanolique la plante par la méthode de diffusion à partir d'un disque solide, démontre que cet extrait a un pouvoir inhibiteur contre l'ensemble de bactéries pathogènes, Gram positif (*S. aureus*, *B. subtilis*) et Gram négatif (*P. aeruginosa*, *E. coli*) et contre la *Candida albicans*.

L'ensemble des résultats montre que l'extrait de *Lavandula stoechas* L est de puissant capteur de radicaux libres, possédant ainsi diverses propriétés biologiques liées à cette activité antioxydante. Ces sources potentielles d'antioxydants naturels peuvent être exploitées dans des préparations alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

Il est également noté dans cette étude que la *Lavandula stoechas* L est doué d'activités remarquables. En effet, la sensibilité des souches bactériennes à l'extrait méthanolique suggère leur possible utilisation en thérapeutique comme alternative naturelle aux agents chimiothérapeutiques dont le spectre d'action est en réduction continu. De même les l'extrait de la plante représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires.

Cette importante bioactivité de l'extrait méthanolique est en relation avec son composition phytochimique, riches en substances phénoliques.

Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer l'efficacité de l'extrait étudié :

- Fractionnement et isolement des différents constituants de l'extrait méthanolique, afin de connaître la ou les molécules à l'origine des effets antioxydants, antibactériens et antifongiques et l'éventuelle synergie entre elles par l'HPLC/SM afin d'établir une relation structure-activité.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante *in vivo* sur un modèle biologique.
- Etude de l'efficacité de cet extrait dans le domaine alimentaire afin d'établir son utilité comme agents antimicrobiens ou antioxydants naturels dans la sécurité alimentaire.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- ❖ **Akroum, S., 2011** : Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. *Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine*. 125p.
- ❖ **Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., et Weil J.A., 2004**: Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*. 84, 551–562.
- ❖ **Ames, B.N., and J. McCann., 1983** : Validation of the Salmonella test: A reply to Rinkus and Legator, *Cancer Res.*, 41, 4192-4196.
- ❖ **Andreasen, M.F., Christensen, L.P., Meyer, A.S., et Hansen., 2000** : Content of phenolic acids dehydrodimers in 17 rye (*Secale Cereale L.*) varieties, *J.Agric. Food Chemistry*. p48, 2837, 2000.
- ❖ **Apak R, K. Güçlü, M. Özyürek, S.E. Karademir, J., 2004**: *Agric. Food Chemistry*. 52, 7970
- ❖ **Approach. Evid Based Complement Alternat Med**, *Article ID 125649*, 9.
- ❖ **Aquaron, M., 2005** : Les causeries en Montagne, Sabença de la Valéia, Barcelonnette. *Conférence du 18/08/05*.
- ❖ **Asimgil A., 1997** : .Sifali Bitkiler. *İstanbulu Tımas Yayınları*. pp. 147–148.
- ❖ **Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S., & Khebri, S., 2010** : Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminumcyminum L.* *Lebanese Science Journal*, 11 (1), pp. 69-81.
- ❖ **Al-Khateeb, H. M. and G. Epiphaniou., 2016**: How technology can mitigate and counteract cyber-stalking and online grooming. *Computer Fraud & Security* 2016(1): 14-18. doi:10.1016/S1361-3723(16)30008-2.
- ❖ **Audigé C., Figarella J., Zonszain, F., 1978** : Manipulation d'analyse biochimique. Doin (Ed). Paris p 247.

B

- ❖ **Bachiri Lamiae., Echchegadda Ghizlane., Ibjibjen Jamal., Nassiri Laila., October 2016** : Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : «*Lavandula stoechas L.* et *Lavandula dentata L.*». *European Scientific Journal* edition vol.12, No.30 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431. 313.
- ❖ **Balasundram, N, Sundram K., Samman S., 2006** : Phenolic compounds in plants and agri-industrial byproducts: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99: 199-203.
- ❖ **Balouiri Mounyr., 2011** : *Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois extraits de Plantes Médicinales et Aromatiques cultivées dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques-Taounate*. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Faculté des Sciences et Techniques–Fès.
- ❖ **Barbier E., 1963** : les lavandes et l'apiculture dans le sud-est de la France. *Les Annales de l'Abeille. INRA Editions*, 6 (2). pp.85-159.

Références bibliographiques

- ❖ **Barlow S.M., 1990:** Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In: Hudson B.J.F. Food antioxidants. *Ed. Elsevier*, London. pp: 253-307.
- ❖ **Baytop T., 1999 :** Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present). *Istanbul: Publications of the Istanbul University*. No. 3255 (2nd ed., pp. 244–245).
- ❖ **Belaiche P., 1979 :** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie Tome 1: L'Aromatogramme , *Ed. Maloine, France. 204 p.*
- ❖ **Beloued A., 2005 :** Plante médicinales d'Algérie. *Offices des publications universitaires*. p. 20-150.
- ❖ **Benabdelkader Tarek., 2012 :** Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. *Biologie végétale. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, Français, France; Ecole normale supérieure de Kouba, Alger, Algérie.*
- ❖ **Benaissa, O., 2011 :** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.
- ❖ **Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K., 2014 :** Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de béchar en algérie. *Phytothérapie*, **12**, 364 – 371.
- ❖ **Benzie I.F.F.et Strain J.J.,1996 :** The ferric reducing ability of plasma as a measure of “antioxidant power” the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70– 76.
- ❖ **Besombes C., 2008 :** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques. *Application généralisées. Thèse de doctorat.*
- ❖ **Biaye Mamadou.,2002 :** Actions pharmacologiques des tanins, université cheikh anta diop de DAKAR, *thèse Doc en Pharmacie*, No 101 ; 03.
- ❖ **Blois MS., 1958 :** Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- ❖ **Bonnet, C., Alamigeon, F. & Micheels, P., 2010 :** Guide complet des soins esthétiques : du coté de ma vie. *Edition Eyrolles*, p 14.
- ❖ **Borneo R., LeonC.A., Aguirre A., Ribotta P. and Canterro J.J., 2008 :** Antioxydant capacity of medicinal plant from province of Cordoba (Argentina) and there in vitro testing antimicrobial and antiproliferative activities of *Melissa officinalis* extracts. *Journal of Medicinal Food*, **11**: 133–143.
- ❖ **Boros, B., Jakabova, S., Dorneyi, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F., Felinger, A., 2010 :** Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*. p1217, 7972–7980. d'incendie. *Thèse de doctorat. Université de Corse Pascal Paoli*. de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques *FL: CRC Press*.

Références bibliographiques

- ❖ **Bortolomeazzi R., Sebastianutto N., Toniolo R. and Pizzariello A., 2007** : Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chemistry*; **100**: 1481-1489.
- ❖ **Bosnić T., Softić D., Grujić-Vasić J., 2006** : Antimicrobial activity of some essential oils and major constituents of essential oils. *Acta Medica Academica*; 35: 19-22.
- ❖ **Bosnic-Anticevich, S., Saini, B., Krass, I., Armour, C., 2002** : Pharmacy action plan program - pharmacists addressing issues in the community. *Australasian Pharmaceutical Science Association Conference, Melbourne, Vic: Australasian Pharmaceutical Science Association.*
- ❖ **Boudiaf, K., 2006** : Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. *Mémoire de magister* .Setif.
- ❖ **Bougandoura, N., & Bendimerad, N., 2012** : Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature & Technologie*, (9), 14 – 19.
- ❖ **Bouhaddouda Nabila. 2016** : Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar –Annaba. Algérie.
- ❖
- ❖ **Boumerfeg S., Baghiani A., Djarmouni M., Ameni D., Adjadj M., Belkhiri F., Charef N., Khennouf S. and Arrar L., 2012**: Inhibitory activity on xanthine oxidase and antioxidant properties of *Teucrium polium L.* extracts. *Chinese Medicine*, **3**; 30-41.
- ❖ **Boyd B., Ford C., Koepke M.C., Gary K., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B., 2003** : Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience & Nutrition*. **4 (6)**:7.
- ❖ **Bravo A, Sarabia S, Lopez L, Ontiveros H, Abarca C, Ortiz A, Ortiz M, Lina L, Villalobos F, Pena G, Nunez-Valdez M, Soberon M, Quintero R., 1998** : Characterization of cry genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. *Appl Environ Microbiol* 64: 4965-4972.
- ❖ **Bruneton, J., 1999** : Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed *Techniques et documentations*. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.

C

- ❖ **Cakir T, et al., 2006** : L' intégration des données de métabolome avec les réseaux métaboliques révèle des réactions de journaliste. *Mol Syst Biol* **2**:50
- ❖ **Caree P. , 1953** : *précis de technologie et de chimie industrielle. T3*. Ballière JB et fils
- ❖ **Cavanagh H. M., A and Wilkinson J. M., 2002**: Biological activities of Lavender essential oil. *Phytotherapy Research* 16(4): 301-308.
- ❖ **Chu C. J.; et Kemper K. J., 2001** : Lavender (*Lavandula spp.*). *Longwood Herbal Task. Force*. 32 p.
- ❖ **Chung Q, Zuo Z, Harrisson F and Chow MS ., 2002** : Hawthorn. *J.Clin. Pharmacol.* 42: 605-612.

Références bibliographiques

- ❖ **Cowan M. M., 1999** : Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.*; 12: 564-582.
- ❖ **Coelho, V. S. and Favareto, A., 2010** : Participation, inclusion and development under conditions of social mobilization. In: Thompson, L. and Tapscott, C. (eds) *Citizenship and social movements*. London: Zed Books, pp. 187–211
- ❖ **Crozier A., Clifford M.N. & Ashihara H., 2006** : *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet*. Ed. Blackwell Publishing Ltd, UK.

D

- ❖ **Dai, J. & Mumper, R. J., 2010** : Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propeties. *Molecules*, **15** (10), 7313 – 7352.
- ❖ **Dacosta . Y., 2003** : Les phytonutriments bioactifs : 669 réfeérences bibliographiques. Ed. Yves Dacosta, Paris, p. 317.
- ❖ **Daglia M., 2012** : Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr. Opin. Biotechnol.* 23(2): 174- 181.
- ❖ **Dayal B., & Purohit R.M., 1971**: Screening of some Indian essential oils for their antifungal activity. *flavourind.*2: 484-485.
- ❖ **Derbel S., Ghedira k., 2005** : Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et nutrition numéro 1*; 28-34.
- ❖ **Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barrajo__n E., Vilanova E., Hamdaoui M. and Fattouch S., 2010** :Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. Agric. Food Chem. Chemistry*; **59**: 402-406.
- ❖ **Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., et Capasso F., 1999** : Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life. Sci.* **65** (4): 337-53.
- ❖ **Diospyros Barboni T., 2006** : *antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration*.
- ❖ **Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N.,2006** : Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* **97**: 654-660.

E

- ❖ **El Gharras H., 2009** : Polyphenols: Food sources, properties and applications - A review. *Int. J. Food Sci. Technol.* **44(12)**: 2512-2518.
- ❖ **Essawi T. and Srouf M., 2000** : Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.*; **70**: 343-349.

F

Références bibliographiques

- ❖ **Favier. A., 2003** : Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. pp 108- 115.
- ❖ **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdely, C., 2008** : Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies*. **331**: 372-379.
- ❖ **Fraga Cesar G, Oteiza Patricia I, 2011** : Dietary flavonoids: Role of (-)-epicatechin and related procyanidins in cell signaling. *Free Radical Biology & Medicine* 51; 813–823.
- ❖ **Favier A., 2003** : Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. pp: 108-115.
- ❖ **Favier A., 2006** : Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 2006; 64: 390-396.
- ❖ **Ferreres F., Barberan F. A. T. et Tomas F., 1986** : Flavonoids From *Lavandula dentata* Fitoterapia. 57, 199-200.
- ❖ **Fu J, et al., 2011** : Insertional mutagenesis combined with an inducible filamentation phenotype reveals a conserved STE50 homologue in *Cryptococcus neoformans* that is required for monokaryotic fruiting and sexual reproduction. *Mol Microbiol* **79**(4):990-1007.

G

- ❖ **Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, M. C., Aberkane, H., Bousselsela, S. M., & Oueld- Moukhtar., 2015** : Polyph énoles totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, **13**, 118 – 129.
- ❖ **Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M., 2001** : *Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris*. pp275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- ❖ **Giray E. S et Kirici S., 2008** : *Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of Lavandula stoechas*. *Talanta* 74, 930-935.
- ❖ **Glombitza, K. W. & Gerstberger, G., 1985** : *Phytochemistry* (Elsevier) p24, 543-551.
- ❖ **Gulcin, I., Buyukokuroglu, M., Oktay, M. & Kufreviolu, I., 2003** : Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe. *Journal of Ethnopharmacology* **86**, 51–58.
- ❖ **Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A., 2006**: Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**: 1220-1234.
- ❖ **Goodwin, T. W., & Editor ., 1988**. *Plant Pigments*.

Références bibliographiques

- ❖ Gören A.C., Topçu G., Bilsela G., Bilsela M., Aydoğmus Z et Pezzuto J.M.Z., 2002: *The chemical constituents and biological activity of essential oil of Lavandula stoechas ssp. stoechas*. *Z.Naturforsch.* **57c** 797-800.
 - ❖ Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., Tsaknis, J., 2007 : *Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of Origanum dictamnus Extracts before and after Encapsulation in Liposomes*. *Molecules*. **12**: 932-945.
 - ❖ Guerin-Fauble V. & Carret G., 1999 : *L'antibiogramme, principes, méthodologies, intérêts et limites*. *Journées nationales GTV-INRA*, Nantes, France. pp: 5-12.
 - ❖ Guignard, J., 2000 : *Biochimie végétal . 2éme edition Dunod*. 188. kaki L.) leaves. *Food Chem Toxicol.* **49**: 2689-2696.
 - ❖ Gulcin I. Gungor S Beydemir. S, Elmastas M. Kufrevio. I., 2004 : *Comparison of antioxidant activity of clove (Eugenia caryophyllata Thunb) buds and lavender (Lavandula stoechas L.)*, *Food Chemistry* **87**, 393–400.
 - ❖ Gulluce M., Şahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A. & Ozkan H., 2007: *Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Menthalongifolia L. ssp. longifolia*. *Food Chem.* **103**: 1449–1456.
 - ❖ Gutowski M., Kowalczyk S., 2013: *A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance*. *ACTA biochimica polonica*, **60**(1); 1-16.
- H**
- ❖ Hadj Salem, J., 2009 : *Extraction, Identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de Nitraria retusa et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de Doctorat : Université de LORRAINE*.
 - ❖ Hahn, D. H., Faubion, J.M., and Rooney, L.W., 1983 : *Sorghom phenolic acids, their high performance chromatography separation and their relation to fungal resistance*. *Cereal Chem.* **60**: 255. In: *Phenolic Compounds in Cereal Grains and Their Health Benefits*. Dykes, L; Rooney, W.L. 2007. *Texas A&M University*. CFW-52-3-0105.
 - ❖ Haraguchi H., Tanimoto K., Tamura Y., Mizutani K. & Kinoshita T., 1998 : *Mode of antibacterial action of retrochalcones from Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*. **48**: 125-129.
 - ❖ Harborne J.B., and Williams C.A. ,2000 : *Advances in flavonoid research since 1992* *Phytochemistry*. **55**: 481-504.
 - ❖ Harborne, J.B., 1980 : *Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology, New series*.p8, 329-402.
 - ❖ Harvey Mueller .,2006 : *Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health*,*J. Sci. Food Agric*: **86**, 2006; 2010–2037.
 - ❖ Haussein M.H., 2000 : *A review of beekeeping in Arab countries*, *Bee World* **81**,56_71.

Références bibliographiques

- ❖ **Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M., 2007** : The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, vol. **105**, n.3, p.1126-1134.
- ❖ **Hebi, M., & Eddouks, M., 2016** : Evaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*, **14**, 17 – 22.
- ❖ **Heller W and Forkmann G., 1993** : Biosynthesis of flavonoids. *In: The Flavonoids: Advances in research since 1986. Chapman and Hall.* London: 499-535.
- ❖ **Heim, E. K., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J., 2002** : Flavonoïds antioxydants :chemistry ; metabolism and structure-activity relationships. *The journal of Nutritional Biochemistry*, **13**, 572 – 584
- ❖ **Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F., 2004** : Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. p1, 3-6.
- ❖ **Hilliard J.J., Krause H.M., Bernstein J.I., Fernandez J.A., Nguyen V., Ohemeng K.A. &Barrett J.F., 1995** : A comparison of active site binding of 4-quinolones and novel flavonegyrase inhibitors to DNA gyrase. *Adv. Exp. Med. Biol.* 390: 59-69.
- ❖ **Hinneburg, I., Damien Dorman, H. J., & Hiltunen, R., 2006** : Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chemistry*, 97(1), 122-129. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.028>
- ❖ **Hostettmann, K.; Potterat, O. Wolfender, J.-L., 1997** : *Pharm. Ind.*. 59, 339.
- ❖ **Hubert J., Paul F., Daydé J., Berger M., 2006** : Composition variability in soy-derived dietary supplements designated for menopausal symptom prevention. *O.C.L.*, 13(4):*in press*.
- ❖ **Huang., 1987** : Perfumer and flavorist, Vol. 13, N° 2, 67p, *In Besombes C. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle*, 41p, 2008.
- ❖ **Huang D., OuB. and Prior R.L. ,2005** : The chemistry behind antioxidant capacity assays.*J of Agr Food chem.***53**:1841-1856.

I

- ❖ **Iinuma M., Tsuchiya H., Sato M., Yokoyama J., Ohyama M., Ohkawa Y., Tanaka T., Fujiwara S., and Fujii T., 1994** : Flavanones with antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.*J. Pharm. Pharmacol.* **46**: 892-895.
- ❖ **Iniesta-Sanmartin E., Barberan F.A.T., Guirado A.,and Lorents F.T., 1990** : Antibacterial flavonoids from *Helichrysumpicardii* and *H. italicum*. *Planta Medica.* **56**: 648-649.

J

Références bibliographiques

- ❖ **Jacob, L., 2007** : L'insuffisance rénale aiguë. *Edition Springer*, p 88.
- ❖ **Jacques B, et André R., 2004** : *Biochimie métabolique Ed ellipses* .Paris. pp: 217-219-220-223-225
- ❖ **Jullien J – DGAL. Juillet., 2016** : Guide de reconnaissance Plantes hôtes potentielles de *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* en France, Surveillance biologique du territoire (SBT) dans le domaine végétal, Symptôme d'une infection de *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* sur *Polygala myrtifolia* – 1ère édition
- ❖ **Jungkind DL., 1995** : Antimicrobial resistance : a crisis in health care ; [based on the proceedings of the Eastern Pennsylvania Branch of the American Society of Microbiology Symposium on Antimicrobial Resistance: a Crisis in Health Care - *Clinical Laboratory and Epidemiologic Considerations, held November 11-12, 1993, in Philadelphia, Pennsylvania*]. Ed. *Plenum Press, New York, NY [u.a.]*, , p. 248.

K

- ❖ **Karatas, H., & Ertekin, S., 2010** : *Antimicrobial activities of the essential oils of four Salvia species from Turkey*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (12), pp. 1238-1240.
- ❖ **Keil Claudia, Petermann Eva, Shiao Li Oei., 2004** : Tannins elevate the level of poly(ADP-ribose) in HeLa cell extracts, *Archives of Biochemistry and Biophysics Volume* 425, Issue 1, 115-121.
- ❖ **Khanbaba K, Ree T.R. Tannins ., 2001** : Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*: 18; 641-649.
- ❖ **Kim, K. H., Tsao, R and Cui, S. W., 2006** : Phenolic acid profile and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect hydrolysis conditions. *Food Chem.* p95, 466, 2006.
- ❖ **Kivilompolo, M., Hyotylainen, T., 2007** : Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: Characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. *J Chromatography A*. **1145**: 155-164
- ❖ **KOHEN R., NYSKA A., 2002** : Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants redox reactions and methods for their quantification; *Toxicologic Pathology* 30; p: 620-650. Favier A. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 2006; 64: 390-396.
- ❖ **Koleva II., Van Beek TA., Linssen JPH., Groot A De., Evstatieva LN., 2002** : *Dépistage des extraits de plantes pour l'activité antioxydante : étude comparative Sur trois méthodes d'essai. Analyse phytochimique*. 13. 8-17.
- ❖ **Kulisic T., Radonic A., Katalinic V. and Milos M., 2004** : Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, **85**, 633-640.

❖

L

Références bibliographiques

- ❖ **Laraoui, H., 2007** : "Etude Phytochimique L'Extrait Chloroformique de BupleurumAtlanticum" Docteur de l'université Louis pasteur (*Chimie Organique, UV El Hadj Lakhdar Batna*).
- ❖ **Lawrence B. M., 1996** :Progress in essential oils. *Perfumer & Flavorist* 21, 55-68.
- ❖ **Lee, K.W., Hur, H.J., Lee, C.Y., 2005** : Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem.* p53, 1990-1995
- ❖ **Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. and Lee C. Y. , 2003** : Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 7292-7295.
- ❖ **Leighton f, cuevas a, guasch v, perez dd, strobel p, san martin a, urzua u, diez ms, foncea r, castillo o, mizon c, ma espinoza, urquiaga i, rozowski j, maiz a, germain a (1999)** polyphénols et antioxydants plasmatiques, dommages à l'adn oxydatif et fonction endothéliale dans une étude sur l'alimentation et le vin chez l'homme. *Drogues exp clin res* **25**: 133-141
- ❖ **Li A.N., Li S., Zhang Y.J., Xu X.R., Chen Y.M. and Li H.B., 2014** : Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6; 6020-6047.
- ❖ **Linuma M, Tsuchiya H, Sato M, Yokoyama J, Ohyama M, Ohkawa Y, Tanaka T, Fujiwara S, Fujii T .,1994** : Flavanones with potent antibacterial activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J. Pharmacol.*, 46 (11): 892-895.
- ❖ **Li H-B. , Wong C-C., Cheng K-W., Feng C., 2008** : Antioxidantproperties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel Wissenschaft and Technology.* 41(3), 385–390.

M

- ❖ **Macheix J. J., Fleuriet A.Jay-Allemand C., 2005** : Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique .*Bio ed.* 54-65.
- ❖ **Maganga A., 2004** : Influence of Variety and Organic Cultural Prctices on Yield and Essential Oil Content of Lavander and Rosemary in Interior BC. (STOPA). *Ecorational Technologies. Kamloop.* BC. 23p.
- ❖ **Maisuthisakul, P., Suttajit M., Pongsawatmanit, R ., 2007** : Assessment of phenolic content and free radicalscavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chem* 100 (4): 1409-1418.
- ❖ **Mastelic J. M. et Kustrak D., 1997** : Essentiai oil and glycosidically bound volatiles in aromatic plants: I. *Lavandin (Lavandula hybrida reverchon)*. *Acta Pharmaceutica.* 47,133-138.
- ❖ **Manallah, A., 2012** : Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. *Université Ferhat Abbas- sétif,* 87p.

Références bibliographiques

- ❖ **Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., Kefalas, P., 2005** : Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* **89**: 411–420.
- ❖ **Martinez-Cayuela M., 1995** : Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.***77**: 147- 161.
- ❖ **Marzouk Z., Neffati A., Marzouk B., Charaif I., Khemisse F., Chekirchedira L., Boukef K., 2006** : Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. *Journal of food, Agriculture and Environment*; **4**(3-4): 61- 65
- ❖ **Mathieu A., 2006** : Flore forestière; description et histoire des végétaux ligneux qui croissent spontanément en France et des essences importantes de l'Algérie. Suivies d'une méthode analytique pour en déterminer les principales espèces. Ed. Ancienne maison Grimblot et cie, N. Grosjean, successeur, Nancy, 1860, p. 52-53.
- ❖ **Médart, J., 2009** : Manuel pratique de nutrition: L'alimentation préventive et curative. *Editions De Boeck Supérieur*, p 49.
- ❖ **Mennal Houria et Chennafi Samia., 2015** : *Synthèse bibliographique des résultats de recherche sur l'application des huiles essentielles de quelques espèces de la famille de Lamiacées obtenues à l'Université de Khemis Miliana. Faculté : Science de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre.*
- ❖ **Menaceur H, Delage P, Tang AM, Conil N., 2015** : The thermomechanical behaviour of the Callovo-Oxfordian claystone. *Int J Rock Mech Min Sci*, **78**:290–303
- ❖ **Messaoud, C., Chograni, H., Boussaid M., 2011** : Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula* L. species. *Natural Prod Res* **26**: 1976-1984.
- ❖ **Milane H., 2004** : La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. *Thèse de Doctorat, Strasbourg, France*
- ❖ **Mohammedi, Z., 2006** : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. *Mémoire de magister. Tlemcen.*
- ❖ **Moon T., Cavanagh H. M. A., 2007** : Antifungal activity of Australian grown *Lavandula* ssp. essential oils against *Aspergillus nidulans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *J. Essent. Oil Res.* **19**, 171-175.
- ❖ **Moon, J. K., & Shibamoto, T., 2009** : Antioxidant assays for plant and food components. *J Agr Food Chemistry*, **57**, 1655 – 1666.
- ❖ **Mota R., Thomas G., Barbosa Filho J.M., 1985** : Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. *Journal of ethnopharmacology*, **13**, 289-300.

N

- ❖ **Nadkarni, K. M., 1982** : Indian Materia Medica, third ed. *Popular Prakashan, Bombay*. P 730.

Références bibliographiques

- ❖ **Nafajian S., Rowshan V., Tarakemeh A., 2012** : Comparing essential oil composition and essential oil yield of *Rosmarinus officinalis* and *Lavandula angustifolia* before and full flowering stages. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*; 3: 212- 218
- ❖ **N.J. Miller, Berger, F.J., Yegen, B.M. and C. caker., 1997**: Seasonal variation in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *J. Agric. and Food Chem.*, 45 (12): 4821-4825.
- ❖ **Nkhili, Ez-zohra., 2004** : *Polyphénols de l'Alimentation* : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat, Spécialité: Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad. Marrakech Université D'avignon Et Des Pays De Vaucluse Ecole Doctorale 306 – SPSA, Montpellier. 378p.
- ❖ **Novelli G. P. Role of free radicals in septic shock. J. Physiol. Pharmacol., 1997** : 48: 517-527. Favier A. Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*; 108-117.
- ❖ **Nur Alam Md., Bristi N. J. and Rafiquzzaman Md., 2013** : Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143–152.

O

- ❖ **O'Kennedy, R. et Thornes, RD ., 1997** : Coumarins: Biologie, applications et mode d'action. *John Wiley & Sons*, New York.
- ❖ **Oyaizu M ., 1986** : Studies on products of browning reactions antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr* **44**: 307–15.

P

- ❖ **Perez, M.B., Calderon, N.L., Croci C.A., 2007** : Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chemistry*. **104**: 585-592.
- ❖ **Peronny S., 2005** : La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta). Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle. *Discipline Eco-Ethologie*, 2005; 151.
- ❖ **Pharmacognosie., 1999** : phytochimie, plantes médicinales. 3e éd. France : Tech & Doc – Lavoisier .
- ❖ **Pincemail, J. & Defraigne, J.-O., 2003** : Le CoEnzyme Q10 ou ubiquinone : un antioxydant particulier. *Vaisseaux, Coeur, Poumons* **18** (2), 55-60.
- ❖ **Podsedek, A., 2007** : Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT*. **40**:1-11.
- ❖ **Porter, L. J., 1989** ; *Methods in Plant Biochemistry*. p1, 389-419.
- ❖ **Poirier, J. (2004)**. L'indispensable pour vivre en santé, *Edition Merlin*, p 72.

Références bibliographiques

- ❖ **Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M., 1999** : Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal. Biochem*, **269**, 337 – 341.

Q

- ❖ **Qidwai, W and Ashfaq T., 2013**: Role of Garlic Usage in Cardiovascular Disease Prevention: An Evidence Based.
- ❖ **Quezel P et Santa S., 1963** : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Préface du Pr L. *EMBEGER*. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. 15, quai Anatole-France- Paris 7.

R

- ❖ **Rahal K., Belouni R., Benslimani A., TaliMaamar H., Missoum M. et Aboun A.,2005** : Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. *Fascicule de recommandations, 3ème Edition. Alger, Algérie: Ministère de l'agriculture nationale.*
- ❖ **Ramirez, P., Santoyo, S., Garcia-Risco, M.R., Senorans, F.J., Ibanez, E., Reglero, G., 2007** : Use of specially designed columns for antioxidants and antimicrobials enrichment by preparative supercritical fluid chromatography (Prep-SFC). *J Chromatography A*.**1143**: 234-242.
- ❖ **Rangkadilok, N., Sitthimonchai, S., Worasuttayangkurn, L., Mahidol, C., Ruchirawat, M., Satayavivad, J., 2007**: *Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruits extract. Food Chem. Toxicol.* p45, 328-336.
- ❖ **Ribéreau-Gayon J, Peynaud m, Ribéreau-Gayon P and Sudraud P., 1972** : Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et contrôle des vins. *Ed. Dunod, Paris*, p. 671.
- ❖ **Rodriguez-Bernaldo, A. Q. F. S., Frecha, P. A., Vidal., & Lopez, H. J., 2010** : Antioxydant compounds in edible brown seaweeds. *European Food Research & Technology*, **231** (3), 495 – 498.
- ❖ **Rolland Nicolas. , 2004** : Was the emergence of home bases and domestic fire a punctuated event? A review of the Middle Pleistocene record in Eurasia. *Asian Perspectives: the Journal of Archaeology for Asia and the Pacific*, **43**: 248-281.
- ❖ **Ryley C. , 1998** : Roman gardens and their plants. Sussex Archaeological Society, *Lewes England*. 56 pp.

S

- ❖ **Said H. M., 1996** : Medicinal Herbs, Vol. 1. *Bait al-Hikmah, Madinat al-Hikmah: Pakistan.*
- ❖ **Sarac N. & Ugur A., 2007** : Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. *EurAsian Journal of Bio Sciences*, **4**, pp. 28-37.

Références bibliographiques

- ❖ **Sarni-Manchado P, Cheynier V., 2006** : Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 300-398.
- ❖ **Seyoum A., Asres K., and El-Fiky F.K., 2006** : Structure– radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. **67**: 2058–2070
- ❖ **Scherer R. and Godoy H. T., 2009** : Antioxydant Activity index (AAI) by the 2,2- diphenyl-1 picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* ; **112** : 654-658.
- ❖ **Sharma, S.; Sharma, J., 2008** : A study of stress and cope-up strategies of service sector employees. *Indian Management Studies Journal*, 12: 19-35.
- ❖ **Shariffar F., Dehghn-Nudeh G. and Mirtajaldini M., 2009** : Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry.*; **112**: 885-888.
- ❖ **Siddiqui Mohd Aftab., Khalid Mohd., Akhtar Juber., Siddiqui HH., Baadruddeen., Usma Ahmad., Farah Ahsan., Khan Mohd Muazzam., Mohammed Ahamd et Asad Ali., 2016** : *Lavandula Stoechas* (Ustukhuddus): Une plante miracle. Faculté de pharmacie. Université intégrale. *Dasauli. Kursi Road. Lucknow* (UP) 226026.
- ❖ **Simpson William T., 1999**: Drying and Control of Moisture Content and Dimensional Changes. Gen. Tech. Rep. FPL- GTR- 113. Madison, Forest Products Laboratory. 463 p.
- ❖ **Skoula M et Abidi C., 1996** : Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *Stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochem. Syst. Ecol.* **24**, 255-260.
- ❖ **Smith, D. S.; & Kramer, J. R., 1999** : *Environment International*. p25, 295-306.
- ❖ **Sosa S et Altinier G., 2005** : Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine* **12**(4): 271-277.
- ❖ **Souri E., Amin G., Farsam H. and Barazandeh Tehrani M., 2008** : Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, **16**(2): 83–87.
- ❖ **Stalikas C D., 2007** : Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007, **30**, 3268–3295
- ❖ **Stoclet J.-C., Schini-Kerth V., 2011** : Dietary flavonoids and human health. *Annales Pharmaceutiques Françaises* Volume **69**; 78–90.
- ❖ **Suba, A., Muralikrishna, G., 2002** : Evaluation of the antioxidant properties of free and bound phenolic acids from native and malted finger millet. *J. Agric. Food Chem.* 50:889, 2002. In Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits: Dykes, L; Rooney, L W. 2007. Texas A&M university college station TX. PDF.
- ❖ **Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L and Zhang Y., 2011.**

Références bibliographiques

- ❖ **Surveswaran, S., Cai, Y.Z., Corke, H., Sun, M., 2007** : Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*. **102**: 938-953.

T

- ❖ **Dr T. B. 1926** : La lavande dans l'antiquité. *Parfumerie Moderne*. 167- 168.
- ❖ **Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T., 2007** : Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*. (in press).
- ❖ **Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen, A., 2006** : Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*. **95**: 200-204.
- ❖ **Teixeira MJ, Fernandes JD, Teixeira CR, Andrade BB, Pompeu ML, Silva JS, et al., 2004** : Des isolats distincts de *Leishmania braziliensis* induisent différents rythmes d'expression des chimiokines. *Infect Immun*; **73** : 1191-1195.
- ❖ **Tharib S.M., Gnan S.O. & Veitch G.B.A., 1983** : Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris*. *J. Food. Prot.* **46**: 681-685.
- ❖ **Tim C.T.P, and Andrew J. L., 2005** : Antimicrobial activity of flavonoids. *Int. J. Antimicrob. Ag.* **26**:343–356.
- ❖ **Torres De Pinedo, A., Pen alver, P., & Morales, J. C., 2007** : Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: structure-activity relationship. *Food Chemistry*, **103**, 55–61.
- ❖ **Tsai, P., Tsai, T., Ho, S., 2007** : *In vitro* inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food Chemistry*. (in press).
- ❖ **Turkmen, N., Velioglu, Y. S, Sari, F., Polat, G., 2007** : *Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea*. *Molecules*. **12**:484-496.
- ❖ **Twidwell E.K., Wagner J.J., and Thies Nancy J., 2002**: Use a Microwave Oven to Determine Moisture Content of Forages. 8077p.

U

- ❖ **Upson T. M., Grayer R. J., Greenham J. R., Williams C. A., Al-ghamdi F et Chen F.H., 2000**: Leaf favonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Biochemicals Systematics and Ecology*. n. 28, p. 991-1007.
- ❖ **Usmanghani K et Saeed A., 1997**: *Indusyunic Medicine. Traditional Medicine of Herbal, Animal and Mineral Origin in Pakistan*, University of Karachi. University of Karachi Press, p 273.

V

Références bibliographiques

- ❖ **Vasile Bagiu, R., Vlaicu, B., Butnariu M ., 2012** : Chemical Composition and in Vitro Antifungal Activity Screening of the *Allium ursinum* L. (Liliaceae) *Int J Mol Sci* **13**(2): 1426–1436.
- ❖ **Vinson, J.A., Dabbagh, Y.A., Serry, M.M., Jang, J., Agric, J., 1995** : *Food Chemistry.*; 43(11), 2800- 2802.
- ❖ **Vuorela, S., 2005** : Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. *Helsinki*.

W

- ❖ **Wang, W., Wu, N., Zu, Y.G., Fu, Y.J., 2008** : Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry.* **108**: 1019-1022.
- ❖ **Weber F. J. and de Bont J. A. M., 1996** : Adaptation mechanisms of microorganisms to the toxic effects of organic solvents on membranes. *Biochimi. Biophys. Acta* **12**, 225- 245.
- ❖ **Wojdylo, A., Oszmianski, J., Czemerys, R., 2007** : Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry.* **105**: 940-949.
- ❖ **Wong, C.C., Li H.B., Cheng, K.W., Chen, F., 2006** : A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry.* **97**: 705-711.

Y

- ❖ **Yao K., De Luca V. and Brisson N., 1995** : Creation of a Metabolic Sink for Tryptophan Alters the Phenylpropanoid Pathway and the Susceptibility of Potato to *Phytophthora infestans*. *Plant, Cell.*; **7**, 1787-1799.
- ❖ **Yen Tan T. & Siew Yong Ng L., 2006** : Comparison of three standardized disc susceptibility testing methods for colistin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58, pp. 864–867.
- ❖ **Yu R., Mandlekar S. & Tony Kong A.N., 2000** : Molecular mechanisms of butylated hydroxyanisole-induced toxicity: induction of apoptosis through direct release of cytochrome C. *Mol. Pharmacol.* **58**: 431- 437. significance. *Nutr. Rev.* **56**(11): 317-333.

Z

- ❖ **Zhoo, Z., Robards, K., Helliwell, S & Blanchard, C., 2004** : The distribution of phenolic acids in rice. *Food chem.* 87:401.2004. In Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits .Dykes, L; Rooney, L .W. 2007. Texas A&M university college station TX. PDF.
- ❖ **Zhu, J., Filippich, L.J. et Al Salam, M., 1992** : Tannic acid intoxication in sheep and mice. *Res. Vet. Sci.* 53 (3), 280-292.

Annexes

ANNEXE 1

Appareillage, verrerie et consommables, milieux de culture

▪ **Appareillage**

- Autoclave
- Balance de précision
- Balance de paillasse
- Bec bunsen
- Rotavapor
- Etuve isotherme
- Hotte à flux laminaire avec lampe UV
- incubateur bactériologique (25°C, 35°C, 42°C)
- Plaque chauffante
- Spectrophotomètre
- Vortex

▪ **Verrerie et consommable**

- Anse de platine
- Ballons à fond plat à col rodé
- Bêchers : 100 ml, 250 ml, 500 ml
- Boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre
- Disques d'antibiotiques
- Disques d'aromatogramme Whatman n°1, 6 mm
- Écouvillons Stériles
- Eprouvettes
- Erlenmeyer 100 ml, 250 ml
- Fioles
- Flacons avec bouchon
- Pincés
- Pipettes graduées stériles
- Pipettes Pasteurs
- Spatule inox
- Tubes à essai
- Verres de montre

▪ **Solutions et réactifs**

- 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH)
- Butylated hydroxytoluene
- Eau distillée
- Eau physiologique
- Ethanol 95°, 96°.
- Dimethyl sulfoxide
- Méthanol
- Eau physiologique
- Le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu
- Carbonate de sodium Na_2CO_3
- Acide galique
- Trichlorure d'aluminium (AlCl_3)
- Quercétine
- Tampon phosphate
- Potassium hexacyanoferrate [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$]
- Acide trichloracétique
- FeCl_3
- Acide ascorbique
- H_2SO_4
- Na_2PO_4
- Molybdate d'ammonium

Milieus de culture

- Milieu Miller Hinton (MH)
- Eau physiologique
- Gélose de conservation
- Bouillon Gélose nutritive
- Milieu Gélose nutritive (GN)

