

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRES

N°...../SNV/2020

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mr. Essaheli Abdallah & Mr. Gouaich Abdallah

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité: NUTRITION ET PATHOLOGIE

THÈME

*Effets biologiques de la camomille romaine
Chamaemelum nobile L.*

Déposé le 23/08/2020

DEVANT LE JURY

Président	Mme. Keddari S.	Maître de conférences A. Univ. Mosta.
Encadreur	Mme. Ziar H.	Maître de conférences A. Univ. Mosta.
Examineur	Mr. Chaalal. A	Maître de conférences A. Univ. Mosta.

Année universitaire : 2019/2020.

Résumé

Les travaux présentés dans cette étude visent à la valorisation d'une plante médicinale de la famille des Astéracée à savoir *Chamaemelum nobile L.*, en la caractérisant par une évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne sous forme d'extrait polyphénolique aqueux comparé aux extraits organiques. A cause de la pandémie mondiale, les expérimentations ont été arrêtées et ce mémoire décrit les résultats de la littérature commune sur le sujet. L'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile L.* (Hajjaj, 2017) présente un très bon pouvoir antioxydant. Tous les extraits organiques présentaient aussi des activités antioxydantes inférieures que celle de la référence (BHT) qui est inhibé avec $98.73 \pm 1.3 \%$. Les extraits polyphénoliques obtenues par macération ont montré un rendement d'extraction de 8.5%, 0.84% et 10% de respectivement dans l'ordre, des extraits méthanolique, chloroformique et aqueux de *Chamaemelum nobile L.* (Kitoune et Outamazirt, 2018).

L'activité antimicrobienne des trois extraits polyphénoliques était déterminée sur six souches microbiennes (Djoubani *et al.*, 2017), selon la méthode de diffusion des disques et a donné des zones d'inhibition variant de 7 à 15 mm. Les trois extraits polyphénoliques ont une activité moyennement inhibitrice et ils ont positivement réagi au moins sur une des souches bactériennes testées, sauf sur la flore fongique.

Mots clés : *Chamaemelum nobile L.*, Polyphénols, Activités antioxydante, Activité antimicrobienne.

Abstract

The work presented in this study aims at the valuation of a medicinal plant of the Asteraceae family, namely *Chamaemelum nobile* L., by characterizing its antioxidant and antimicrobial activities in the form of aqueous polyphenolic extract compared to organic extracts. Because of the Covid-19 pandemic, the experiments were stopped and this thesis describes the results of the common literature on the subject.

The aqueous extract of *Chamaemelum nobile* L. (Hajjaj, 2017) has very good antioxidant power, all the extracts exhibited lower antioxidant activities than that of the reference (BHT) which is inhibited with $98.73 \pm 1.3\%$. The polyphenolic extracts obtained by maceration showed an extraction yield of 8.5%, 0.84% and 10%, of the methanolic, chloroform and aqueous extracts of *Chamaemelum nobile* L., respectively. (Kitoune et Outamazirt, 2018).

The antimicrobial activity of the three polyphenolic extracts was determined on six microbial strains according to the disk diffusion method (Djoubani *et al.*, 2017). The results showed varying zones of inhibition from 7 to 15 mm. The three polyphenolic extracts have moderate inhibitory activity and they reacted positively to at least one of the bacterial strains tested, exception was noted with the fungi flora.

Keywords: *Chamaemelum nobile* L., Polyphenols, Antioxidant activity, Antimicrobial activity.

Dédicace

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

Je dédie ce travail :

À mes chers parents : ma mère Wahiba et mon père Mohamed pour leurs sacrifices et leurs soutiens tout au long de mes études.

A mes très chers frères, Habib et Amezien

A mes très chères sœurs, Namira et Fatima

A mes grands parents, Said, Fatima, Ali, Rafia

A mes chers oncles, Aziz, Abdallah et Harrag

A mes chères tantes, Fafa, Hadjer, Cherifa et Nassima

A mes très chers amis

A mon binôme, Gouaich Abdallah

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

Essaheli A.

Dédicace

Avant tout, je remercie le grand Dieu qui nous a aidés à élaborer ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail :

A mon père et à ma mère :

Vous êtes une réserve inépuisable de courage qui m'a permis d'accomplir mon devoir tous les jours et de me fier au bon DIEU pour le lendemain.

Grace à vous, j'ai toujours compris que toute réussite déguise une abdication. Puisse ce travail récompense mes patience et persévérance et tous les sacrifices que j'avais consentis au nom de la famille.

A mes frères

Demain ne sera pas comme hier, il sera nouveau et il dépendra de nous.

Notre avenir comme notre passé doit être solidaire. C'est la plus belle chose qui nous est donnée naturellement. Notre force résidera toujours dans notre sincère entente et notre esprit de fraternité.

A tous mes amis

Pour notre amitié et tous les bons moments passés et à venir,
Pour votre présence, vos bons conseils et nos fous rires partagés

Un très grand merci à tous et à toutes.

A tous ceux qui m'ont aidé lors de la réalisation de ce travail, merci à tous.

Gouaich A.

Remerciements

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

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre encadreur Madame **Ziar H.** Maître de conférences A au département des sciences alimentaires, faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, pour avoir encadré et dirigé notre travail, pour sa disponibilité, ses conseils, ses orientations pour le bon déroulement de ce travail, et sa gentillesse.

Nous adressons nos sincères remerciements à Madame **Keddari S.** Maître de conférences A au département des sciences alimentaires, faculté des sciences de la Nature et de la vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem
D'avoir accepté de présider le jury.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Monsieur **Chaalal. A** Maître de conférences A au département des sciences alimentaires, faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem
Pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Nos remerciements vont également à tous nos collègues pour leur aide, leur soutien pendant les moments difficiles, leur gentillesse et pour leur franche camaraderie et surtout l'ingénieure du laboratoire LMBAFS.

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Résumé

Abstract

Dédicace

Remerciement

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux et des figures

Introduction.....01

Chapitre I : *Chamaemelum nobile* L: Généralités et effets santé.

I.1. Généralité sur la famille des Astéracées.....03

I.1.1. La grande camomille: *Chamaemelum nobile* L.....03

I.1.1.1. Dénomination.....03

I.1.1.2. Classification.....04

I.1.1.3. Description botaniques.....04

I.1.1.4. Répartition géographique.....05

I.1.1.5. Composition chimique.....05

I.1.1.6. Utilisation traditionnel.....06

I.1.1.6.1. Amélioration du sommeil.....06

I.1.1.6.2. Favorise la digestion.....07

I.1.1.6.3. Prévention de certains cancers.....	07
I.1.1.6.4. Contrôle du taux de glucose dans le sang.....	08
I.1.1.6.5. Amélioration de la santé cardiaque.....	08
I.1.1.6.6. D'autres avantages.....	08
I.1.1.7. Quelques précautions.....	09
I.2. Les principes actifs.....	09
I.2.1. Les composées phénoliques (polyphénols).....	10
I.2.2. Les principales classes de composés phénoliques.....	10
I.2.2.1. Les acides phénoliques.....	10
I.2.2.2 Flavonoïdes.....	10
I.2.2.3 Coumarines.....	11
I.2.2.4 Tannins.....	11
I.2.2.5 Lignines.....	11
I.2.3. Propriétés biologiques des polyphénols.....	12
I.2.3.1. Activité antimicrobienne.....	12
I.2.3.2. Activité antioxydant.....	12
I.2.3.2.1 Les antioxydants endogènes.....	13
I.2.3.2.2 Les antioxydants exogènes.....	13
I.2.3.3 Activité anti- inflammatoire.....	14

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel.....	15
II.1.1. Matériel biologique.....	15
II.1.2 Matériels non biologique.....	16
II.2. Méthodes.....	17
II.2.1 Capacité antioxydante.....	17
II.2.1.1 Effet Scavenger du radical DPPH.....	17
II.2.1.2 Test du blanchissement du β -carotène.....	18
II.2.1.3 Pouvoir réducteur.....	19
II.2.2. Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques.....	20
II.2.2.1 Effet du diamètre de la poudre.....	20
II.2.2.2 Effet de la nature du solvant d'extraction.....	20
II.2.2.3 Effet de la concentration du solvant d'extraction.....	20
II.2.2.4 Effet du rapport solide-liquide.....	20
II.2.3 Activité antibactérienne.....	21
II.2.3.1 Test de l'antibiogramme.....	21
➤ Principe.....	21
➤ Revivification des souches.....	21
➤ Préparation des dilutions à partir d'extraits de la plante.....	21
➤ Préparation de l'inoculum.....	23
➤ Ensemencement.....	23
➤ Dépôt des disques.....	24
➤ Lecture.....	24

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1 Capacité antioxydante.....	25
III.1.1 Effet Scavenger du radical DPPH.....	25
III.1.2 Test du blanchissement du β -carotène.....	29
III.1.3 Pouvoir réducteur.....	31
III.2 Activité antibactérienne.....	33
Conclusion	40

Références bibliographiques

Liste des abréviations

AAR : L'activité antioxydante relative des extraits

CN: Camomille noble

FRAP: The Ferric Reducing/ Antioxidant Potential

HECN: Huile essential de Camomille noble

IC50: Inhibitory concentration 50%

LH : Les acides gras polyinsaturés

LOO : Le piégeage rapide des radicaux lipidiques peroxytes

MH : Mueller-Hinton

ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

PCL : Photo-ChimiLuminescence

TBA : Acide thiobarbiturique

TCA : Acide trichloroacétique

TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

TRAP: Total Reactive Antioxidant Potential

Liste des tableaux et des figures

1- Liste des tableaux

N°	Titre	Page	Chapitre où se trouve
01	Position taxonomique de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Quezel et Santa, 1963).	4	<u>CHAPITRE I</u> : <i>Chamaemelum nobile</i> L. : généralité et effets santé
02	Constituants chimiques de <i>Chamaemelum nobile</i> L. d'après Bruneton (2009) et Csupor (2011).	5	<u>CHAPITRE I</u> : <i>Chamaemelum nobile</i> L. : généralité et effets santé
03	Les souches microbiennes testées.	16	<u>CHAPITRE II</u> : matériels et méthodes
04	Estimation de la sensibilité des souches aux extrait (Ponce <i>et al.</i> , 2003).	24	<u>CHAPITRE II</u> : matériels et méthodes
05	Activité antiradicalaire du DPPH : IC50 de l'extrait aqueux de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Hajjaj, 2017).	28	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion
06	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Djoubani <i>et al.</i> , 2017).	33	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion
07	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Djoubani <i>et al.</i> , 2017).	35	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion
08	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Djoubani <i>et al.</i> , 2017).	37	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion

2- Liste des figures

N°	Titre	Page	Chapitre où se trouve
01	<i>Chamaemelum nobile</i> L. (Nelly, 2013).	4	<u>CHAPITRE I</u> : <i>Chamaemelum nobile</i> L. : généralité et effets santé
02	La camomille utilisée dans ce travail.	15	<u>CHAPITRE II</u> : matériels et méthodes
03	Représentation schématique de l'extraction aqueuse (Belhatab <i>et al.</i> , 2007).	22	<u>CHAPITRE II</u> : matériels et méthodes
04	Protocole d'extraction par solvant (chloroforme) (Belhatab <i>et al.</i> , 2007).	22	<u>CHAPITRE II</u> : matériels et méthodes
05	Protocole d'extraction des polyphénols (méthanol) (Revilla <i>et al.</i> , 2001 ; Ojeil <i>et al.</i> , 2010).	23	<u>CHAPITRE II</u> : matériels et méthodes
06	Activité antiradicalaire du DPPH : pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Hajjaj, 2017).	27	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion
07	L'activité «scavenger» du radical DPPH de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Kitoune et Outamazirt, 2018).	29	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion
08	Cinétique de blanchissement du β -carotène à 470 nm en présence et en absence des extraits de <i>Santolina chamaecyparissus</i> et de BHT et BHA. Chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD (Benbrinis, 2012).	30	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion
09	Pouvoir réducteur du fer d'extrait de la <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Hajjaj, 2017).	31	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion
10	Effet d'extraction sur le pouvoir réducteur de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Kitoune et Outamazirt, 2018).	32	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion
11	Photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Djoubani <i>et al.</i> , 2017).	34	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion

12	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Djoubani <i>et al.</i> , 2017).	36	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion
13	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique de <i>Chamaemelum nobile</i> L. (Djoubani <i>et al.</i> , 2017).	38	<u>CHAPITRE III</u> : résultats et discussion

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont une importante source thérapeutique partout dans le monde, en effet près de la moitié des médicaments, que nous utilisons aujourd'hui, à une composition d'origine végétale et le quart renferme des extraits de plantes ou des molécules actives provenant directement des plantes. Cependant il est à noter qu'à peine 2000 à 3000 plantes ont fait l'objet d'études scientifiques, chimiques ou pharmacologiques.

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

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

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

Cependant, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydant et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation fréquente dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (Teixeira da Silva, 2004). La camomille romaine *Chamaemelum nobile L.* est l'une des plantes médicinales les plus documentées dans le monde entier. En médecine traditionnelle, l'infusion de camomille est surtout appréciée pour son action anti-inflammatoire et anti-oxydante. Elle est également employée pour son effet antispasmodique. Elle prévient les contractions musculaires involontaires au niveau de l'appareil digestif et de l'utérus. La camomille possède d'autres propriétés intéressantes. Elle

favorise la sécrétion de bile par le foie (action cholagogue) et apaise les douleurs (action analgésique). C'est dans ce contexte que s'insère la présente étude qui veut faire apparaître le rôle thérapeutique très recherché « antioxydant et antimicrobien » de l'infusion de la camomille ; telle qu'elle est préparée à domicile.

Synthèse
bibliographique

CHAPITRE I : CHAMAEMELUM NOBILE L. : GENERALITE ET EFFETS SANTE.

I.1. Généralité sur la famille des Astéracées

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

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

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

I.1.1 La grande camomille: *Chamaemelum nobile L.*

I.1.1.1 Dénomination

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

I.1.1.2 Classification

D'après Quezel et Santa (1963), la systématique de la grande camomille est détaillée dans le tableau 1 ci-après :

Tableau 1 : position taxonomique de *Chamaemelum nobile L.* (Quezel et Santa, 1963).

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

I.1.1.3 Description botanique

La camomille romaine est une plante herbacée, vivace, de 10 à 30 cm de haut, vert blanchâtre, à tige ramifiée et velue, étalées sur le sol puis redressées. Les feuilles alternes sont divisées (bi ou tri pennées) en linéaires (Bellakhdar, 2006). Les fleurs sont des capitules, tubulées au centre, hermaphrodite, blanc à blanc jaunâtre de 2 à 2,5 cm de diamètre. Les fruits sont des akènes, jaunâtres et côtelés (Nelly, 2013).



Figure 1: *Chamaemelum nobile L.* (Nelly, 2013).

I.1.1.4 Répartition géographique

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

I.1.1.5 Composition chimique

La camomille romaine contient 0,4 à 1,5% d'huile essentielle contenant 85% d'esters, surtout de l'angélate d'isobutyle, accompagné des esters des acides méthylacrylique. Elle renferme aussi un alcool (l'anthémole), de la pinocarvone, du pinocarvéol. On y trouve aussi 0,6% de lactone sesquiterpéniques ; des flavonoïdes ; des acides caféique et ses esters glucosés ; des coumarines ; des acides gras, de mucilage et des minéraux (Bellakhdar, 2006).

Tableau 2: Constituants chimiques de *Chamaemelun nobile L.* d'après Bruneton (2009) et Dezso (2011).

Lactones sesquiterpéniques	<u>nobiline</u> , 3-épinobiline et ses dérivés
Esters > 85 %	<u>angélates</u> d'isobutyle, iso-butyrates d'isoamyle, <u>tiglates</u> , méthylacrylates, crotonoates, butyrates de l'isobutanol, du 3-méthylbutan-1-ol, du 2-méthylbutan-1-ol.
Acides (traces)	acide angélique, acide isobutanoïque
Monoterpènes	α - and β -pinène, β -myrcène, limonène, γ -terpinène, p-cymène, camphène, (-)-pinocarvone, (-)-trans-pinocarveol
Autres constituants	spiroéther : <i>trans</i> - et <i>cis</i> -en-yn-dicycloéther, acides-phénols, coumarines flavonoïdes : apigénol-7-O-glucoside, apigénol-7-O-apioside, glucoside du lutéol

I.1.1.6 Utilisation traditionnel

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

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

La camomille utilisée pour faire des tisanes est la camomille romaine, elle est ainsi utilisée de façon culinaire et médicinale, mais aussi en cosmétique.

Elle est avant tout connue pour être consommée sous forme de tisane, mais son huile essentielle, obtenue par distillation à la vapeur d'eau des fleurs, a aussi des propriétés reconnues et efficaces.

La camomille romaine a beaucoup d'avantages pour la santé. Cinq qualités sont confirmées par des études scientifiques.

I.1.1.6.1 Amélioration du sommeil

La camomille contient de l'apigénine, un antioxydant qui a un effet sur le cerveau permettant de lutter contre l'insomnie et de favoriser le sommeil (Srivastava *et al.*, 2010).

Dans une étude, des femmes participantes ont bu de la tisane de camomille pendant 2 semaines suite à leur accouchement, alors que d'autres n'en buvaient pas : le groupe qui consommait de la camomille dormait mieux et avaient moins de symptômes de dépression postpartum que les femmes qui ne buvaient pas de tisane (Chang et Chen, 2015).

De même, une autre étude a trouvé que sur une période de 28 jours, les personnes qui prenaient 270 mg d'extrait de camomille deux fois par jour se réveillaient moins souvent au cours de la nuit et prenaient 15 minutes en moins pour s'endormir que les participants qui ne prenaient pas d'extrait (Zick *et al.*, 2011).

I.1.1.6.2 Favorise la digestion

Certaines études semblent suggérer que la camomille est favorable à une bonne digestion. En effet, elle semblerait pouvoir protéger contre la diarrhée grâce à ses propriétés anti-inflammatoires (Miraj et Alesaeidi, 2016).

Une autre étude a suggéré que la camomille pourrait être efficace dans la prévention des ulcères d'estomac puisqu'il est possible qu'elle réduise l'acidité dans l'estomac et inhibe la croissance de bactéries qui contribuent au développement d'ulcères (Gohar et Zaki, 2012).

Plus d'études doivent être menées pour confirmer ces effets, mais dans tous les cas, la camomille a été utilisée traditionnellement depuis longtemps contre différents problèmes de digestion, comme la nausée et les ballonnements (Srivastava *et al.*, 2010).

À sa qualité de tonique amer s'ajoutent ses effets antispasmodiques, analgésiques et anti-inflammatoires, qui font merveille en cas de digestion lente, de spasmes des voies digestives, d'inappétence, d'ulcères de l'estomac, de nausées dues à une indigestion ou maladie de Crohn. Des qualités que l'on retrouve chez la camomille allemande, avec une indication plus spécifique sur les ballonnements et les crampes intestinales (Miraj et Alesaeidi, 2016).

I.1.1.6.3 Prévention de certains cancers

Les antioxydants qui se trouvent dans la tisane de camomille sont liés à une réduction du risque de certains cancers. En effet, la camomille contient de l'apigénine : plusieurs études suggèrent que l'apigénine lutte contre certains cancers, notamment ceux du sein, du système digestif, de la peau, de la prostate et de l'utérus (Rodriguez-Fragoso *et al.*, 2007 ; Shukla et Gupta, 2009).

De même, une étude effectuée avec 537 participants a trouvé que les personnes qui buvaient de la tisane de camomille entre 2 et 6 fois par semaine avaient moins de risque de

développer un cancer de la thyroïde que les participants qui n'en buvaient pas (Riza *et al.*, 2015).

I.1.1.6.4 Contrôle du taux de glucose dans le sang

Les qualités anti-inflammatoires de la camomille peut prévenir la détérioration des cellules du pancréas, ce qui arrive quand le taux de sucre dans le sang est élevé de manière chronique (Srivastava *et al.*, 2010). La santé pancréatique est très importante puisqu'il s'agit de l'organe responsable de la production d'insuline, l'hormone qui enlève le sucre du sang.

Lors d'une étude avec des participants diabétiques, ceux qui ont consommé de la tisane de camomille avec leurs repas pendant 8 semaines ont fait baissé leur taux de glucose dans le sang de manière significative par rapport à ceux qui buvaient de l'eau (Srivastava *et al.*, 2010).

I.1.1.6.5 Amélioration de la santé cardiaque

La camomille contient des flavones, un type d'antioxydant. Les flavones ont le potentiel de faire baisser la tension artérielle et le taux de cholestérol, deux facteurs importants qui engendrent des maladies cardiaques (Srivastava *et al.*, 2010 ; Mozaffarian, 2016). Une étude a suggéré que la consommation de tisane de camomille améliore le cholestérol total chez les diabétiques, ainsi que les niveaux de triglycéride et de « mauvais » cholestérol LDL (Rafraf *et al.*, 2014).

I.1.1.6.6 D'autres avantages :

Les bienfaits suivants sont plus anecdotiques et nécessitent plus d'évidence scientifique pour être confirmés :

Favorable au système immunitaire : la tisane de camomille est souvent utilisée dans la prévention et la lutte contre le rhume et pour calmer les maux de gorge.

Soulage la dépression et l'anxiété : il existe des évidences qui suggèrent que la camomille peut calmer les symptômes de l'anxiété et de la dépression, mais surtout lorsqu'elle est utilisée en aromathérapie ou en compléments (Amsterdam *et al.*, 2009).

Bonne pour la peau : l'utilisation de camomille sous la forme de crèmes, lotions ou savons a des qualités hydratantes et peut aider à réduire les inflammations de la peau (Shenefelt, 2011).

I.1.1.7 Quelques précautions

Comme plusieurs plantes issues de la famille des astéracées, la camomille présente un risque d'allergie pour les personnes sensibles aux pollens. Les femmes enceintes et les personnes asthmatiques doivent également éviter d'en consommer sous forme d'huile essentielle.

En cas de surdosage, la camomille romaine peut également occasionner des vertiges, des nausées ou des vomissements.

De même, les produits cosmétiques contenant de la camomille peuvent être irritants pour les yeux s'ils entrent en contact direct avec ceux-ci et parfois mener à des conjonctivites.

Pour obtenir un maximum d'effets positifs, sans aucun risque, il est recommandé de consommer des préparations conditionnées et standardisées aux doses préconisées. En cas d'utilisation de préparations faites maison, il est important de respecter les doses recommandées. La camomille romaine ne doit pas être associée à la consommation d'alcool, en raison de la présence de coumarine.

I.2. Les principes actifs

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (Pelt, 1980). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (Benghanou, 2012).

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température ...)

(Sarni-manchado et Cheynier, 2006). Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes.

I.2.1. Les composés phénoliques (polyphénols)

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

I.2.2. Les principales classes de composés phénoliques

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

I.2.2.1 Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées et liées à des sucres sous forme d'hétéroside (Wichtl et Anton, 2003). On distingue deux classes appartenant à cette sous-famille. Les dérivés d'acide benzoïque et les dérivés d'acide cinnamique (Manach *et al.*, 2004).

Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoire, antiseptique et analgésique (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (Iserin *et al.*, 2001).

I.2.2.2 Flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum *et al.*, 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits

et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Bruneton, 1999 ; Ghestem *et al.*, 2001). Ces substances naturelles sont très répandues dans la famille des Astéracées où beaucoup de travaux ont été réalisés chez le genre *Matricaria* (Babenko et Shakhovo, 2006). Les flavonoïdes sont généralement des antibactériens (Wichtl et Anton, 2003).

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

I.2.2.3 Coumarines

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

I.2.2.4 Tannins

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

Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (Hopkins, 2003). Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (Iserin *et al.*, 2001).

I.2.2.5 Lignines

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le

résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

I.2.3. Propriétés biologiques des polyphénols

Les polyphénols suscitent beaucoup d'intérêts dans plusieurs domaines, celui de la nutrition par leur caractère préventif à l'égard de diverses maladies, en cosmétologie et surtout dans les industries agroalimentaires par leurs implications, en particulier, sur la flaveur des aliments et leur incidence sur la conservation des produits alimentaires (Hynes et O'Coinceanainn, 2001). Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-arthérogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anti-carcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (Middleton *et al.*, 2000 ; Ksouri *et al.*, 2007).

I.2.3.1 Activité antimicrobienne

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

I.2.3.2 Activité antioxydante

Les antioxydants apparaissent aujourd'hui comme les clés de la longévité et nos alliés pour lutter contre les maladies modernes. Ce sont des éléments protecteurs qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Ces derniers sont produits quotidiennement par

l'organisme ; ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux (Bartosz, 2003) mais, ils deviennent nocifs quand ils sont en excès et induisent certains dommages au niveau de la structure des protéines, des lipides (Pourrut, 2008), des acides nucléiques (Favier, 2003) en entraînant un stress oxydant qui contribue aux processus de vieillissement cellulaire accéléré et au développement de pathologies humaines telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, l'artériosclérose.

Des systèmes de défense permettent de prévenir la formation radicalaire ou de limiter les lésions d'oxydation résultantes. Ces systèmes peuvent être endogènes ou exogènes, d'origine nutritionnelle.

I.2.3.2.1 Les antioxydants endogènes

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydantes (Superoxyde dismutase, Catalase et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présentes en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (Mika *et al.*, 2004).

I.2.3.2.2 Les antioxydants exogènes

Ils sont présents dans l'alimentation tels que les vitamines A, C, E et les polyphénols en particulier les flavonoïdes, ainsi que les cofacteurs des enzymes impliquées dans les systèmes antioxydants endogènes comme le sélénium, le zinc et le manganèse. Ces antioxydants nutritionnels sont indispensables mais leur action est limitée jusqu'à ce qu'ils soient régénérés.

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

I.2.3.3 Activité anti- inflammatoire

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

Matériels et Méthodes

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES.

En raison des conditions sanitaires du pays, les expérimentations sur le sujet ont été réalisées à 20% mais les résultats ne sont pas inclus dans ce mémoire. Le présent protocole décrit toutes les expérimentations qui devraient avoir lieu.

II.1. Matériels

II.1.1 Matériel biologique

- **Le matériel végétal**

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de la plante médicinale: *Chamaemelum nobile L.* (Figure 2) qui a été achetée en vrac d'une épicerie au centre ville de la wilaya de Mostaganem.



Figure 2 : La camomille utilisée dans ce travail.

- **Les souches microbiennes utilisées**

Il s'agit des micro-organismes décrits dans le tableau 3 ci-après :

Tableau 3 : les souches microbiennes testées.

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

II.1.2 Matériel non biologique

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

La solution de DPPH : (1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazil) est un radical libre stable de couleur violette intense. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres, donc arrêter la propagation de la réaction en chaîne).

Méthanol : Le méthanol est un composé chimique de formule : CH_3OH . C'est le plus simple des alcools. C'est un liquide léger, volatil, incolore, inflammable, toxique avec une odeur caractéristique, plus douce et sucrée que celle de l'éthanol.

β -carotène : Le β -carotène est la forme de carotène la plus répandue. C'est un précurseur de la vitamine A désigné comme « provitamine A ». Le bêta-carotène est un pigment photosynthétique qui absorbe les longueurs d'onde entre 400 et 500 nm.

L'acide linoléique : L'acide linoléique est un acide gras polyinsaturé oméga-6 correspondant à l'acide tout-cis- $\Delta^9, 12$ C18:2 n-6.

Chloroforme : Le chloroforme ou trichlorométhane est un composé chimique organochloré de formule brute CHCl_3 . Fréquemment utilisé comme solvant, le chloroforme

tend à être remplacé actuellement par le dichlorométhane, aux propriétés similaires mais moins toxique.

Tween 40 : Tween 40 est un éthoxylate d'ester d'acide gras de sorbitane et est un émulsifiant efficace.

H₂O₂ : Le peroxyde d'hydrogène est une solution aqueuse et est aussi appelée eau oxygénée. Elle est incolore et légèrement plus visqueuse que l'eau.

Tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) : Le tampon phosphate salin est une solution tampon couramment utilisée en biochimie. Il s'agit d'un soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, du phosphate disodique, du phosphate monopotassique et un peu de chlorure de potassium. En général, la concentration de ces sels est celle du corps humain.

Ferricyanure de potassium ((K₃Fe (CN) 6) à 1%) : Le ferricyanure de potassium aussi connu comme prussiate rouge, rouge de Prusse, ou hexacyanoferrate (III) de potassium, est un composé de coordination stable à la température et à la pression qui forme des cristaux rouge rubis. Il est soluble dans l'eau et ses solutions présentent une fluorescence jaune-vert.

Acide trichloroacétique (TCA) (10%) : L'acide trichloroacétique est un composé analogue de l'acide acétique dans lequel les trois atomes d'hydrogène du groupe méthyle ont été remplacés par trois atomes de chlore. C'est un acide fort et corrosif.

Chlorure ferrique (FeCl₃) (250µl à 0,1%) : Le chlorure de fer(III), également appelé chlorure ferrique ou perchlorure de fer, est un sel de fer de formule chimique FeCl₃. C'est un composé très hygroscopique, qui émet des vapeurs dans l'air humide sous l'effet de l'hydrolyse.

II.2. Méthodes

II.2.1 Capacité antioxydante

II.2.1.1 Effet Scavenger du radical DPPH

L'activité antiradicalaire a été évaluée en utilisant le DPPH, qui fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante (Brand-Williams *et al.*, 1995). Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable possédant un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Cette délocalisation empêche la

polymérisation du composé, qui reste sous forme monomère relativement stable à température ambiante. Ainsi, cet état induit l'apparition d'une couleur violet foncée bien caractéristique de la solution DPPH.

Cette couleur disparaît en présence d'antioxydant lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle du groupe pécryl et l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002). Le suivi de la délocalisation est réalisé par spectrophotométrie à 517 nm (Gulcin *et al.*, 2003 ; Molyneux, 2004 ; Roginsky et Lissi, 2005).

Le pouvoir antiradicalaire a été testé en employant la méthode dictée par Brand-Williams *et al.* (1995). La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 2,4mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à -5°C et à l'obscurité). Un volume de 100µl d'infusions (à différentes concentrations) a été ajouté à 2ml de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel a été agité vigoureusement et incubé 30 min à l'obscurité. Les absorbances ont été mesurées à 517nm contre le blanc (solution DPPH/méthanol). Le BHT a été utilisé comme antioxydant synthétique de référence. La capacité de l'antioxydant à piéger le radical libre est estimée en pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol.

Le pourcentage d'activité antioxydante a été déterminé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Activité Antioxydante} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} * 100.$$

Abs : Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm. Le paramètre IC50 (concentration équivalente à 50% de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH (couleur), elle a été calculée par régression linéaire à partir des graphes des taux d'inhibition.

II.2.1.2 Test du blanchissement du β -carotène

L'activité antioxydante a été déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique. En effet, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes suite à l'abstraction des atomes d'hydrogène à partir de groupements méthylènes. ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui

est suivie spectrophotométriquement à 490 nm (Shon *et al.*, 2003). Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du B-carotène (Deba *et al.*, 2008).

Mode opératoire :

La capacité antioxydante a été déterminée par la méthode détaillée par Kartal *et al.* 2007. L'émulsion de β -carotène /acide linoléique a été préparée par solubilisation de 0.5mg de β -carotène dans 1 mL du chloroforme. 25 μ L d'acide linoléique et 200 mL de tween 40 ont été additionnés, le chloroforme a été complètement évaporé au rotavapor, par la suite 100 mL d'eau distillée saturée en oxygène (H_2O_2) ont été ajoutés. L'émulsion résultante a été agitée vigoureusement. 350 μ l d'infusion ou d'antioxydant de référence (BHT) solubilisé dans du méthanol (1mg/mL) ont été additionnés à 2,5ml de la solution précédente. Un autre tube a été aussi préparé dans les mêmes conditions, sans antioxydant (contrôle négatif) ou l'échantillon est remplacé par 350 μ L de méthanol. La cinétique de l'activité a été suivie à 490 nm à des intervalles de temps réguliers pendant 30 min, 24 et 48 heures. L'activité antioxydante relative des extraits (AAR) a été calculée selon l'équation suivante (Tepe *et al.*, 2006).

$$\text{AAR} = \frac{\text{Abs échantillon (t- 48h)}}{\text{Abs BHT}} * 100$$

AAR : Activité anti-oxydante relative .Abs (Echantillon) : Absorbance de l'échantillon après 48 heures

Abs (BHT) : Absorbance de BHT après 48heures

II.2.1.3 Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur a été déterminé selon la méthode d'Oyaizu (1986), elle est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette réaction se manifeste par l'apparition d'une coloration verte dont l'intensité est proportionnelle au potentiel réducteur.

Mode opératoire :

Les infusions diluées dans du méthanol (0,5mL) ont été mélangées avec 1,25mL de la solution tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) et 1,25mL de ferricyanure de potassium (($K_3Fe(CN)_6$) à 1%). L'ensemble a été incubé à 50°C pendant 20 min. Ensuite, 1,25mL d'acide trichloroacétique (TCA) (10%) a été additionné au mélange, le tout centrifugé pendant 10 min à 3000rpm. L'eau distillée (1,25mL) et le chlorure ferrique ($FeCl_3$) (250 μ L à 0,1%) ont

été ajoutés à 1,25mL du surnageant. L'absorbance a été mesurée à 700 nm contre un blanc. L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif et dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons .pour toute l'expérimentation, chaque test est réalisé en triplicata et les résultats ont été calculés par la moyenne des trois essais.

II.2.2 Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques

Dans une démarche d'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de *Chamaemelum nobile L.* une série de paramètres a été étudiée, notamment l'effet du diamètre de la poudre, de la nature et de la concentration du solvant d'extraction, et l'effet du rapport solide-liquide. Une quantité de 0,4 g de la poudre a été mélangée avec 40 mL de solvant d'extraction (l'eau distillée, l'acétone 50%, le méthanol 50%, l'éthanol 50%). Après 3 heures de macération, les mélanges ont été filtrés et utilisés pour déterminer la teneur en composés phénoliques ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante.

II.2.2.1 Effet du diamètre de la poudre

Pour étudier l'effet du diamètre de la poudre d'extraction sur la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et en tanins, ainsi que sur l'activité antioxydante de *Chamaemelum nobile L.* Trois diamètres ont été utilisés à savoir : 125µm, 250µm et 500µm déterminés sous microscope.

II.2.2.2 Effet de la nature du solvant d'extraction

Afin d'étudier l'effet de la nature du solvant d'extraction, les composés phénoliques totaux de *Chamaemelum nobile L.* sont extraits en utilisant comme solvants l'eau distillée, l'acétone 50%, le méthanol 50%, l'éthanol 50%, et en utilisant le diamètre 125µm.

II.2.2.3 Effet de la concentration du solvant d'extraction

Concernant l'effet de la concentration du solvant, l'extraction des composés phénoliques de *Chamaemelum nobile L.* a été réalisée en utilisant comme solvant l'acétone à différentes concentration à savoir : acétone 30%, acétone 50%, acétone 70% et acétone 100%.

II.2.2.4 Effet du rapport solide-liquide

Pour déterminer l'effet du rapport solide-liquide, l'extraction des composés phénoliques de *Chamaemelum nobile L.* a été effectuée en utilisant une poudre de 125µm de

diamètre et comme solvant d'extraction l'acétone 50%, et en faisant varier le ratio échantillon/solvant de 0,1/20 ; 0,2/20 ; 0,4/20 à 0,6/20 (g/mL).

II.2.3 Activité antibactérienne

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

II.2.3.1 Test de l'antibiogramme

➤ Principe

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

➤ Revivification des souches

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

Dans de l'eau physiologique stérile 3 à 5 colonies similaires bien isolées sont déchargées. Après homogénéisation de la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, la fixation de la charge bactérienne à 10⁶ UFC/mL a été réalisée par spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620nm. Le résultat obtenu doit être comprise entre 0.08 et 0.1 ce qui correspond à une concentration de 10⁷ à 10⁸ UFC/mL.

➤ Préparation des dilutions à partir d'extraits de la plante

❖ Extraction aqueuse :

L'extraction aqueuse est représentée par la figure 3 :

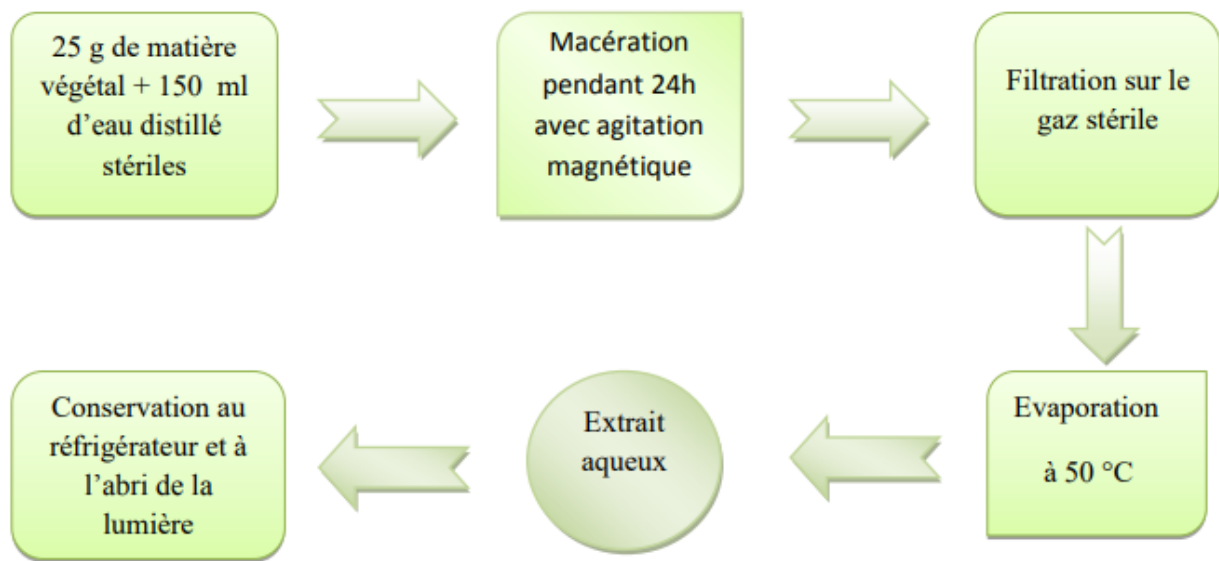


Figure 3 : représentation schématique de l'extraction aqueuse (Belhatab *et al.*, 2007).

❖ Extraction par solvant :

La méthode d'extraction par solvant est résumée dans les figures 4 et 5 :

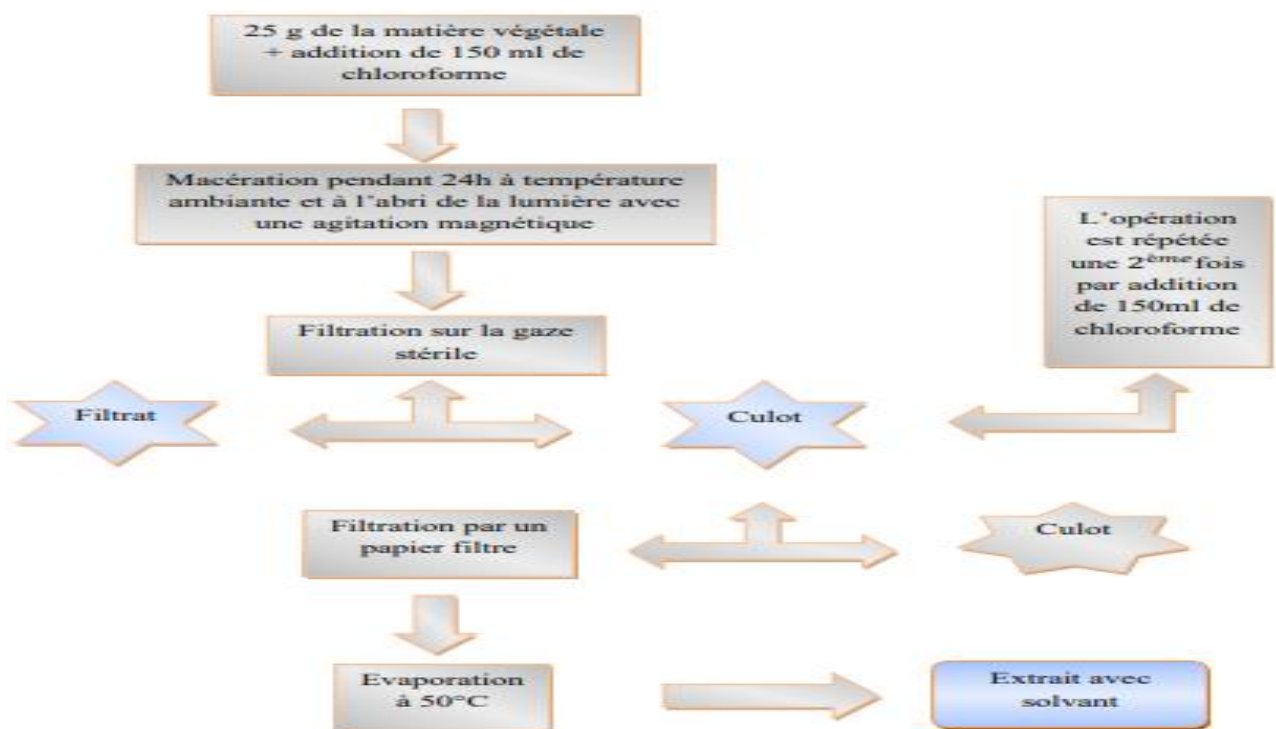


Figure 4 : Protocole d'extraction par solvant (chloroforme) (Belhatab *et al.*, 2007).

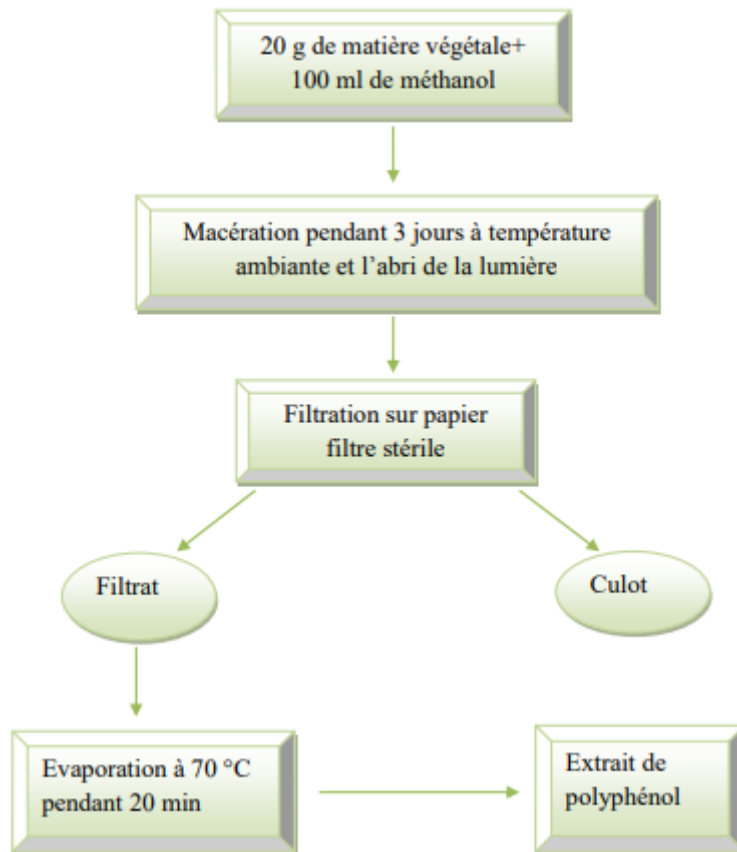


Figure 5 : Protocole d'extraction au méthanol (Revilla *et al.*, 2001 ; Ojeil *et al.*, 2010).

➤ Préparation de l'inoculum

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

➤ Ensemencement

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

sur la paillasse, chaque boîte est ensemencée par écouvillonnage de la suspension bactérienne à tester.

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

➤ Dépôt des disques

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

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

➤ Lecture

La lecture (tableau 4) se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait végétal (Ponce *et al.*, 2003).

Tableau 4 : Estimation de la sensibilité des souches aux extrait (Ponce *et al.*, 2003).

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

Résultats et Discussion

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.

III.1 Capacité antioxydante

III.1.1 Effet Scavenger du radical DPPH

Le stress oxydative a été relié à plusieurs problèmes de santé comme l'artériosclérose, le cancer, la maladie d'Alzheimer, maladie de Parkinson, le diabète et l'asthme (Edris, 2007). La balance cellulaire des radicaux libres est maintenue par différents antioxydants (Raut et Karuppayil, 2014).

Dans les matrices alimentaires, les cibles les plus oxydables sont les lipides, plus précisément les acides gras polyinsaturés (LH). L'auto-oxydation des lipides est généralement initiée à l'interface des émulsions alimentaires eau-lipide par transition des traces de métaux (Fe^{2+} , Cu^{+}) à faible valence (Coupland et Mc Clements, 1996).

Selon Larson (1997), un antioxydant, qui inhibe la peroxydation lipidique, peut agir en fonction de plusieurs mécanismes, les plus importants sont :

- Le piégeage rapide des radicaux lipidiques peroxydes (LOO) qui propagent la chaîne de peroxydation (inhibition de la propagation).
- Le piégeage des espèces oxydantes hydrophiles formées dans la phase aqueuse agissent comme initiateurs de la peroxydation (par exemple : O_2^- HO). Les antioxydants hydrophiles tels que les ascorbates et les polyphénols peuvent se comporter comme des inhibiteurs de l'initiation.
- La régénération d'un puissant antioxydant coupeur de chaîne par réduction du radical correspondant.

Le pouvoir antioxydant des molécules peut être évalué soit *in vivo*, sur des organismes vivants, soit *in vitro*, en utilisant des tests qui miment le phénomène physiologique. Pour évaluer l'activité antioxydante, *in vitro*, des aliments, extraits naturels et antioxydants commerciales, différentes méthodes ont été développées (Alam *et al.*, 2013).

D'après Miguel (2010) et Krishnaiah *et al.* (2011), plusieurs méthodes ont été développées pour l'évaluation de l'activité antioxydante d'un extrait indépendamment de la teneur quantitative du composé individuel à qui l'activité anti-oxydante est attribuée. Plusieurs méthodes existent, simples, de coût abordable et qui ont l'habileté d'identifier

l'activité effective d'un composé particulier ou d'un extrait complexe. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante peuvent être classées en trois groupes :

- Méthodes indirectes : phénols totaux, réduction du Fe³⁺, pouvoir antioxydant réduisant le fer ferrique (FRAP : the Ferric Reducing/ Antioxidant Potential), réaction BriggsRausher (BRR) et le linoléate de méthyle.
- Méthodes utilisant les métabolites de l'oxydation lipidique : rancimat, produits volatils, acides thiobarbituriques (TBA).
- Méthodes basées sur le piégeage d'un radical : TRAP (Total Reactive Antioxidant Potential), ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), DPPH (DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl), PCL (Photo-ChimiLuminescence), spectroscopie RMN19F.

Parmi la grande variété de méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante, seules quelques-unes (TEAC, DPPH, PCL, ORAC) sont aisément adaptables à la détermination de l'activité des molécules hydrophiles et des molécules lipophiles (Bousbia, 2011).

Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération de formation de radicaux libres. Ces antioxydants peuvent agir selon trois mécanismes majeurs, par transfert d'atome d'hydrogène, par transfert d'électron ou bien par inhibition d'enzymes d'oxydations (Miguel, 2010).

Ainsi, compte tenu des différents facteurs impliqués, tels que les propriétés physicochimiques des molécules, il est recommandé d'utiliser plusieurs tests pour confirmer une activité antioxydante (Prior *et al.*, 2005 ; Miguel, 2010 ; Alam *et al.*, 2013).

L'utilisation des antioxydants de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées. Dans cette partie d'étude nous avons procédé à l'évaluation du pouvoir antiradicalaire avec le DPPH et du pouvoir réducteur (FRAP) de l'extrait aqueux qui est l'infusion de *Chamaemelum nobile L.*

Tous les résultats rapportés ici appartiennent aux auteurs cités selon la nature de l'analyse décrite.

L'activité antioxydante de l'infusion de la plante étudiée et de l'antioxydant standard (BHT) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH) à la couleur jaune (DPPH-H) photométrable à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires.

Les résultats présentés dans la Figure 6 de l'activité antiradicalaire de l'infusion de la *Chamaemelum nobile L.* (Hajjaj, 2017) montrent que l'extrait aqueux de la plante étudiée présente un très bon pouvoir antioxydant. Tous les extraits présentent des activités antioxydantes inférieures que celle de la référence (BHT) qui est inhibé avec $98.73 \pm 1.3 \%$. En effet, à la concentration de $100 \mu\text{g/mL}$ les extraits aqueux testés réduisent avec un pourcentage important du radical DPPH, avec $72.37 \pm 0.89\%$.

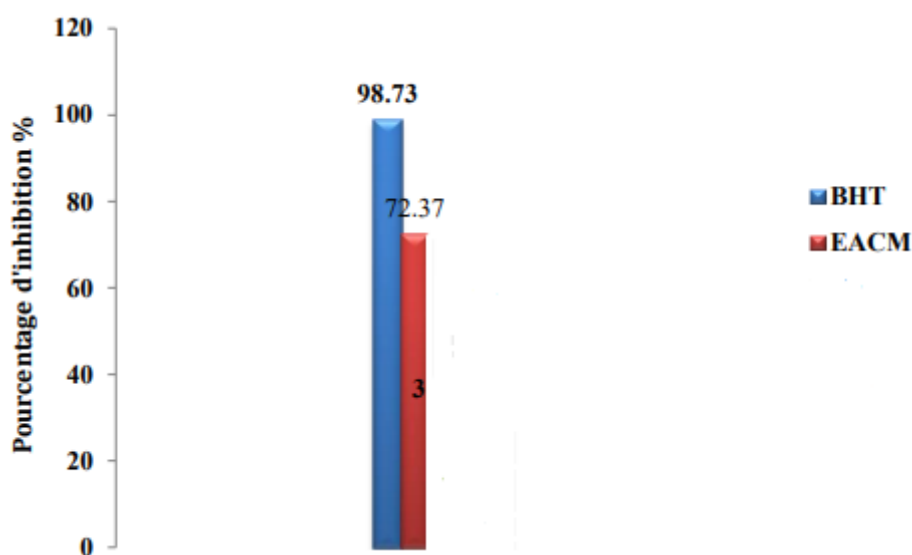


Figure 6 : Activité antiradicalaire du DPPH : pourcentage d'inhibition de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile L.* (Hajjaj, 2017).

L'IC50 (inhibitory concentration 50%) ; concentration inhibitrice à 50 %) est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Les valeurs d'IC50 des extraits de la *Chamaemelum nobile L.* sont représentées dans le tableau 5.

Les résultats (Hajjaj, 2017) obtenus montrent que l'extrait aqueux présente un effet antioxydant très important vis à vis du radical DPPH. En effet, La concentration inhibitrice piégeant 50 % du radical DPPH (IC50) est de 29.75 ± 0.58 $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait aqueux de la *Chamaemelum nobile L.* et 6.1 ± 0.6 $\mu\text{g/mL}$ pour le BHT. Tandis que, l'huile essentielle de cette plante étudiée possède un IC50 très élevé.

Tableau 5: Activité antiradicalaire du DPPH : IC50 de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile L.* (Hajjaj, 2017).

Les extraits	IC50 $\mu\text{g/ml}$
EACN	29.75 ± 0.58
BHT	6.1 ± 0.6

Ce pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux est expliqué par la présence des composés phénoliques notamment les flavonoïdes présents dans la plante étudiée, et qui est connus comme substances antioxydante ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène.

L'étude statistique a montré une différence significative entre les pourcentages d'inhibition du DPPH des extraits condensés de *Chamaemelum nobile* selon le diamètre d'extraction utilisé ($p < 0,05$) (figure 6).

En effet, d'après Silva *et al.* (2007), la taille des particules est un paramètre important lors de l'extraction des composés phénoliques, cependant les meilleurs rendements de ces derniers sont obtenus en utilisant les plus fines particules, probablement en raison de l'augmentation de la surface d'échange entre le solvant d'extraction et la matière sèche. Réduire la taille des échantillons par mouture augmente leurs surfaces d'échanges, ce qui permet un meilleur contact avec le solvant d'extraction (Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003).

Il s'avère de ce qui précède qu'avec les fines particules (125 μm , déterminé sous microscope), les composés chimiques sont plus facilement transférés de la matière végétale vers le solvant d'extraction. Cela s'expliquerait par le fait que le solvant se diffuse plus facilement à l'intérieur des petites particules, pour extraire les molécules de polyphénols grâce à la création d'une surface de contact plus grande avec la diminution de la taille des particules et aussi à l'ouverture de plus grands nombres de ports, sans pour autant que celle-ci soit trop

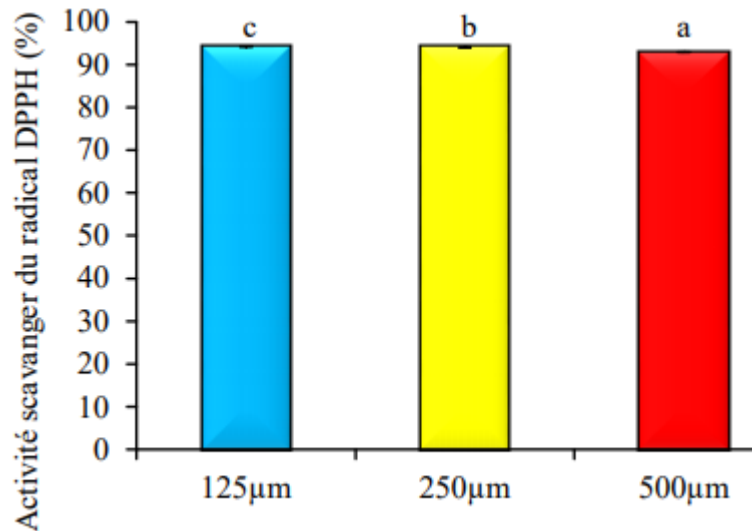


Figure 7 : l'activité «scavenger» du radical DPPH de *Chamaemelum nobile L.* (Kitoune et Outamazirt, 2018).

fine, afin d'éviter le phénomène de colmatage de cette dernière, et facilitant ainsi le contact avec le solvant (Virginie *et al.*, 2015).

Les résultats obtenus par Kitoune et Outamazirt (2018) dans la figure 7 montrent que tous les extraits de *Chamaemelum nobile L.* ont exhibé d'importantes capacités inhibitrices du DPPH avec des pourcentages d'inhibition du DPPH supérieurs à 92.94 %. L'extrait préparé ayant le diamètre 125µm a exercé l'activité antiradicalaire DPPH la plus élevée, avec un pourcentage de 94,22%, suivi par l'extrait préparé ayant le diamètre 250µm avec un pourcentage de 94%, alors que le plus faible pourcentage qui est de 92,94 % a été trouvé dans l'extrait obtenu en utilisant la poudre du diamètre 500µm.

La plus forte activité « scavanger » du radical DPPH constatée avec le diamètre 125µm, pourrait être due à la richesse de cet extrait en composés phénoliques, flavonoïdes et en tanins condensés.

III.1.2 Test du blanchissement du β-carotène

La capacité antioxydante des extraits étudiés a été également évaluée par le système β-carotène/acide linoléique. Les radicaux libres provenant de l'oxydation de l'acide linoléique attaquent le β-carotène et induisent sa décoloration. La présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement de la β-carotène (Naidu *et al.*, 2011).

La figure 8 représente les travaux de Benbrinis (2012) sur les cinétiques de blanchissement du β -carotène en présence et en absence des extraits de *S. chamaecyparissus* ou camomille de Mahon, ainsi que du BHT et BHA. Les absorbances initiales des contrôles négatifs aqueux et méthanolique sont 0,970 et 1,007 atteignant, après 120 min, des valeurs minimales de 0,025 et 0,031 respectivement indiquant une peroxydation totale du β -carotène, tandis que les absorbances des extraits aqueux et méthanolique varient de 0,933 et 0,924 au temps 0 à des valeurs finales de 0,823 et 0,837 respectivement indiquant une forte activité antioxydante par rapport au contrôles négatifs. Cependant, les absorbances du BHT et du BHA restent stables tout au long des 120 minutes. Les résultats montrent que les extraits aqueux et méthanolique ont presque les mêmes activités antioxydantes à raison de 80% et 88%, respectivement.

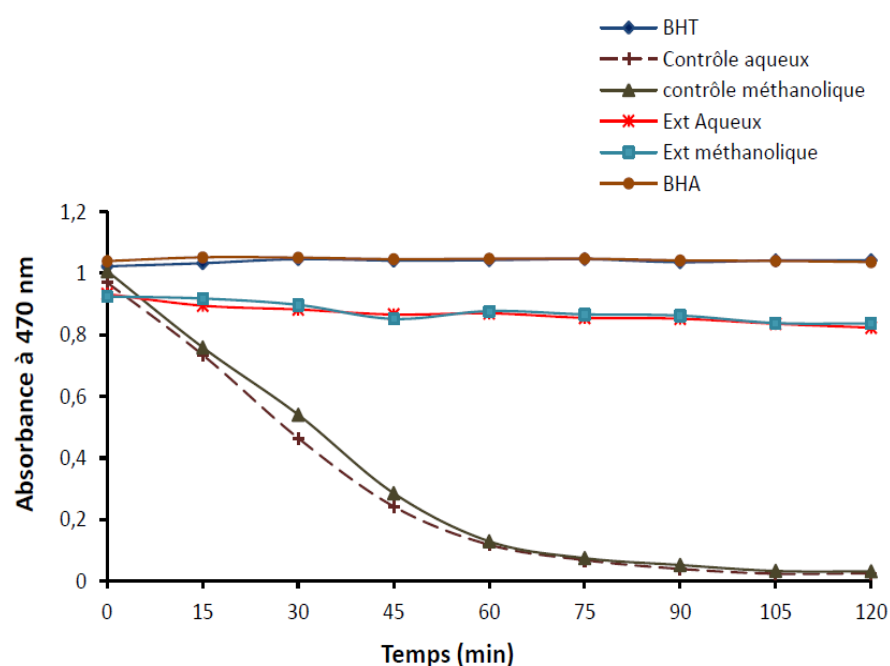


Figure 8 : Cinétique de blanchissement du β -carotène à 470 nm en présence et en absence des extraits de *Santolina chamaecyparissus* et de BHT et BHA. Chaque valeur représente la moyenne de trois essais \pm SD (Benbrinis, 2012).

III.1.3 Pouvoir réducteur

Dans le travail de Hajjaj (2017), leurs résultats obtenus montrent que la capacité des extraits aqueux de *Chamaemelum nobile L* à réduire le fer est largement supérieure (pouvoir de réduire l'ion Fe^{+3} le plus intéressant).

L'extrait aqueux de la camomille présente une activité antiradicalaire significative de $98.77 \pm 1.45 \%$.

Ces résultats pourront être expliqués que l'extrait aqueux de la camomille présente un pouvoir réducteur important renferme des molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort (Figure 9).

Les polyphénols contenus dans l'extrait de la camomille est probablement responsables de l'activité antioxydante de ces extraits d'autant plus que l'activité antioxydante de l'extrait aqueux trouvé est toujours supérieure que celle de l'huile essentielle.

L'activité antioxydante attribuée aux polyphénols s'explique en partie par leur capacité à capter des radicaux libres et de complexer des métaux.

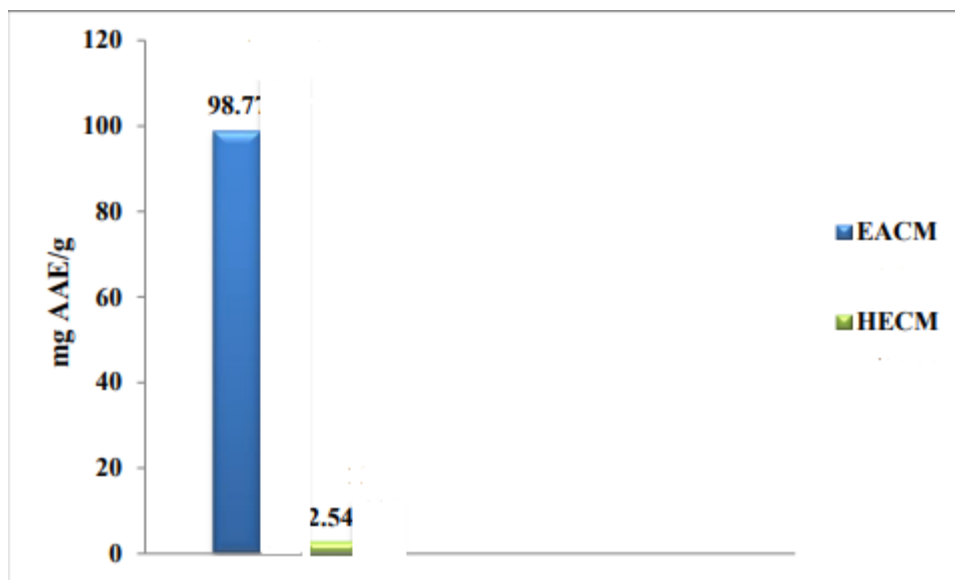


Figure 9 : Pouvoir réducteur du fer d'extrait de la *Chamaemelum nobile L*. (Hajjaj, 2017).

Dans le travail de Kitoune et Outamazirt (2018), l'analyse des résultats de pouvoir réducteur de différents extraits aqueux et organiques de *Chamaemelum nobile L.* possèdent un pouvoir réducteur plus ou moins important, et présentent des différences significatives selon le solvant d'extraction ($p < 0,05$) (figure 10).

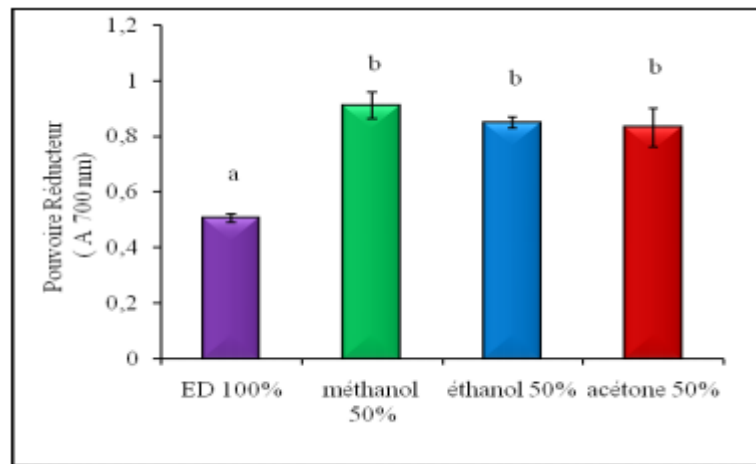


Figure 10 : Effet d'extraction sur le pouvoir réducteur de *Chamaemelum nobile L.* (Kitoune et Outamazirt, 2018).

D'après Kitoune et Outamazirt (2018), il a été remarqué que l'extrait méthanolique a révélé le pouvoir réducteur le plus important de l'ordre de 0,91, suivi par les extraits éthanolique et acétonique avec des valeurs de 0,83 et 0,85, respectivement, tandis que l'extrait aqueux a révélé le plus faible pouvoir réducteur qui est de l'ordre 0,51 (figure 10).

Les études effectuées par Jayaprakasha *et al.* (2008) ont montrés que le pouvoir réducteur dépend de la teneur en composés phénoliques des échantillons et de la position et du nombre de groupements hydroxylés.

Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de composés donneurs d'électrons qui entraînent la réduction de Fe^{3+} en Fe^{2+} . La réduction du chlorure ferrique est souvent utilisée comme indicateur d'activité des donneurs d'électrons qui est un mécanisme important pour l'action antioxydante des polyphénols (Yang *et al.*, 2009).

III.2 Activité antibactérienne

Lors du test antimicrobien, les travaux de Djoubani *et al.* (2017), ont montré que les différents extraits polyphénoliques obtenus à partir de la *Chamaemelum nobile L.* agissent différemment vis-à-vis des souches testées.

Les résultats relatifs aux diamètres des zones d'inhibition de l'effet des différents extraits polyphénoliques sont représentés dans les tableaux allant de 6 à 8 et les figures 11 à 13.

Tableau 6 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile L.* (Djoubani *et al.*, 2017).

Les souches	Moyenne de diamètre d'inhibition (mm)	Témoins
<i>Staphylococcus Aureus</i> (Gram positif)	10±1 Sensible	6±0 Résistante
<i>Bacillus Thuringiensis</i> (Gram positif)	11.33±0.83 Sensible	6±0 Résistante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram négatif)	12.66±0.38 Sensible	6±0 Résistante
<i>Escherichia coli</i> (Gram négatif)	12.66±1.16 Sensible	6±0 Résistante
<i>Fusarium sp.</i> (Champignon)	6±0 Résistante	6±0 Résistante
<i>Candida albicans</i> (Levure)	6±0 Résistante	6±0 Résistante

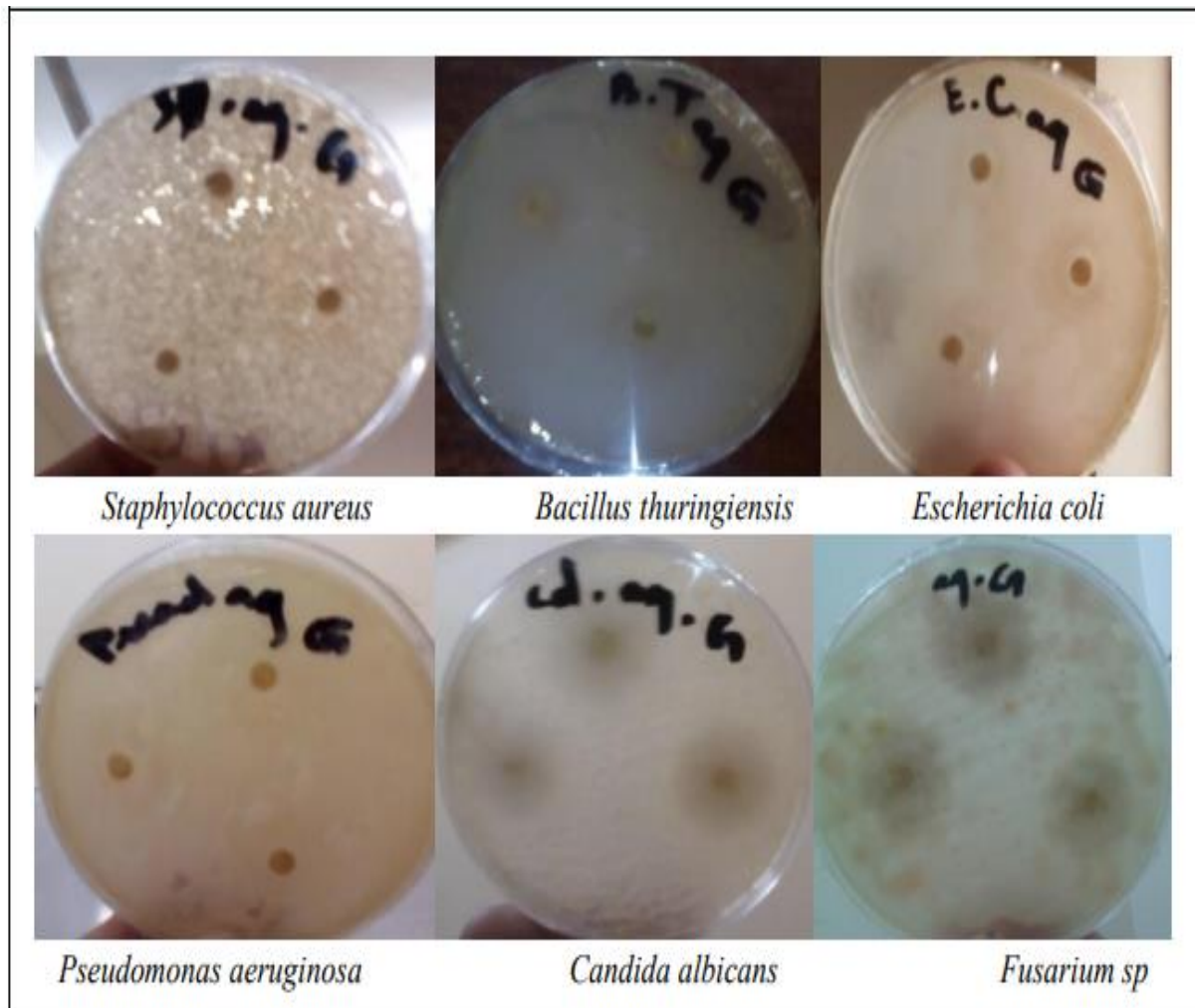


Figure 11: photos des résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile L.* (Djoubani *et al.*, 2017).

D'après l'antibiogramme réalisé par Djoubani *et al.* (2017), on note que l'extrait aqueux de plante ayant une activité modérément inhibitrice vis-à-vis à toutes les souches bactériennes a caractères Gram positif et Gram négatif, dont la moyenne de diamètre d'inhibition variant entre 10-12 mm pour *Chamaemelum nobile L.* En ce qui concerne les flores fongique, *Candida albicans* et *Fusarium sp* ont montré une résistance à l'extrait aqueux.

Tableau 7 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Chamaemelum nobile L.* (Djoubani *et al.*, 2017).

Les souches	Moyenne de diamètre d'inhibition (mm)	Témoins
<i>Staphylococcus Aureus</i> (Gram positif)	6±0 Résistante	6±0 Résistante
<i>Bacillus Thuringiensis</i> (Gram positif)	10±1.5 Sensible	6±0 Résistante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram négatif)	8.66±0.83 Sensible	6±0 Résistante
<i>Escherichia coli</i> (Gram négatif)	6±0 Résistante	6±0 Résistante
<i>Fusarium sp.</i> (Champignon)	6±0 Résistante	6±0 Résistante
<i>Candida albicans</i> (Levure)	6±0 Résistante	6±0 Résistante

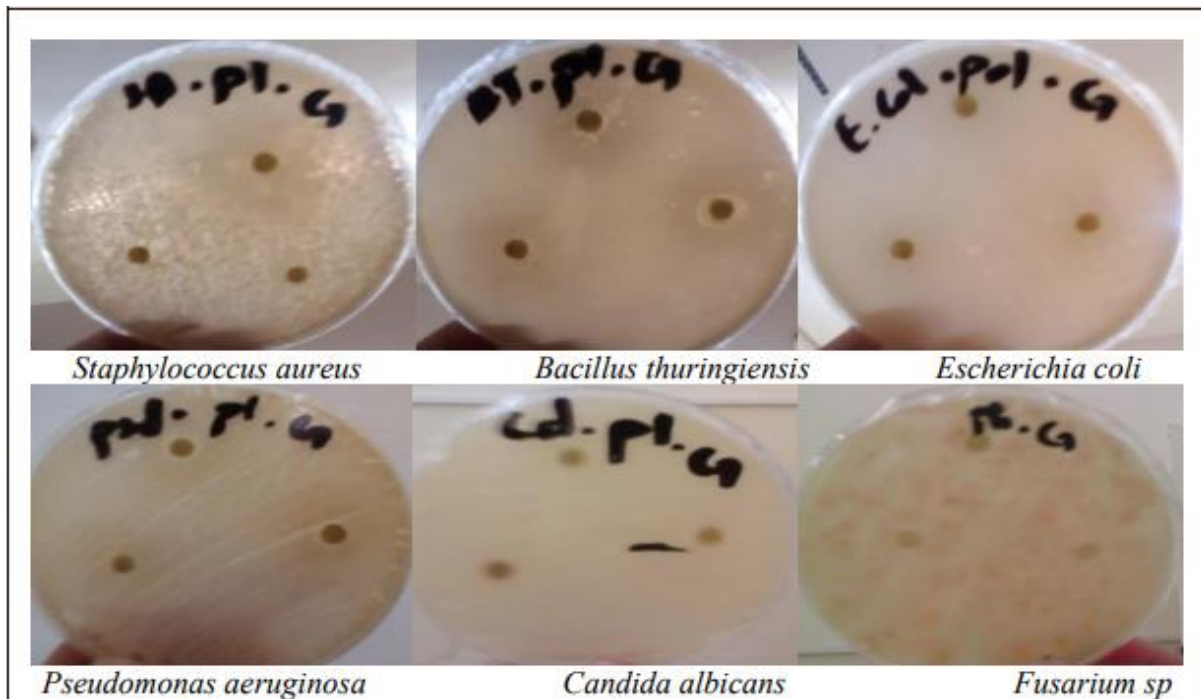


Figure 12 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *Chamaemelum nobile L.* (Djoubani *et al.*, 2017).

Les résultats ci-dessus de Djoubani *et al.* (2017) montrent que l'extrait méthanolique à une activité modérément inhibitrice sur *Bacillus thuringiensis* avec une moyenne de diamètre d'inhibition de 10 mm pour *Chamaemelum nobile L.* par ailleurs, on note que *Chamaemelum nobile L.* possède une faible activité inhibitrice avec une valeur élevée de de 8.66 mm contre *Pseudomonas aeruginosa*, Pour le reste des souches microbiennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Fusarium sp.* et *Candida albicans*), elles se sont révélées résistantes pour cette espèce végétales.

Tableau 8 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique de *Chamaemelum nobile* L. (Djoubani *et al.*, 2017).

Les souches	Moyenne de diamètre d'inhibition (mm)	Témoins
<i>Staphylococcus Aureus</i> (Gram positif)	6±0 Résistante	6±0 Résistante
<i>Bacillus Thuringiensis</i> (Gram positif)	8.66±.033 Sensible	6±0 Résistante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram négatif)	10±1.5 Sensible	6±0 Résistante
<i>Escherichia coli</i> (Gram négatif)	6±0 Résistante	6±0 Résistante
<i>Fusarium sp.</i> (Champignon)	6±0 Résistante	6±0 Résistante
<i>Candida albicans</i> (Levure)	6±0 Résistante	6±0 Résistante

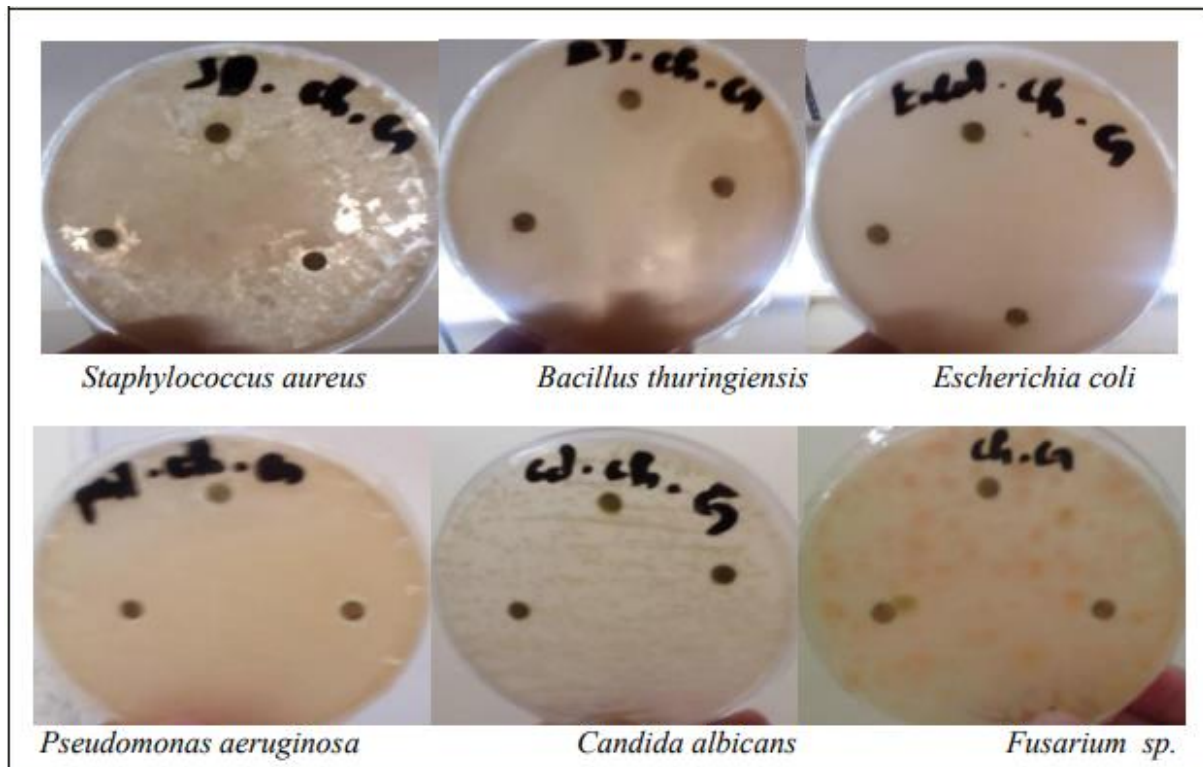


Figure 13 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait chloroformique de *Chamaemelum nobile L.* (Djoubani *et al.*, 2017).

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

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

On ce qui concerne les témoins (eau, chloroforme, méthanol), Djoubani *et al.* (2017) ont trouvé qu'ils n'ont aucun effet sur les souches microbiennes testées.

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

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

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

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

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

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

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

Conclusion

Conclusion

Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'année un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs. Une des raisons principales, est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes, ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'ostéoporose ou les maladies inflammatoires.

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

Les différents résultats de la littérature rapportés dans ce mémoire peuvent être résumés comme suit :

En premier lieu, l'évaluation du pouvoir antiradicalaire avec le DPPH et du pouvoir réducteur (FRAP) de l'extrait aqueux qui est l'infusion de *Chamaemelum nobile L.*

L'activité antiradicalaire de l'infusion de la *Chamaemelum nobile L.* montre que l'extrait aqueux de la plante étudiée présente un très bon pouvoir antioxydant. Tous les extraits présentent des activités antioxydantes inférieures que celle de la référence (BHT) qui est inhibé avec $98.73 \pm 1.3 \%$. En effet, à la concentration de $100 \mu\text{g/mL}$ les extraits aqueux testés réduisent avec un pourcentage important du radical DPPH, avec $72.37 \pm 0.89\%$.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux présente un effet antioxydant très important vis à vis du radical DPPH. En effet, La concentration inhibitrice piégeant 50 % du radical DPPH (IC50) est de $29.75 \pm 0.58 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait aqueux de la *Chamaemelum nobile L.* et $6.1 \pm 0.6 \mu\text{g/mL}$ pour le BHT.

L'étude statistique a montré une différence significative entre les pourcentages d'inhibition du DPPH des extraits condensés de *Chamaemelum nobile* selon le diamètre d'extraction utilisé. Il s'avère de ce qui précède qu'avec les fines particules ($125 \mu\text{m}$), les composés chimiques sont plus facilement transférés de la matière végétale vers le solvant d'extraction (y compris l'eau), avec des pourcentages d'inhibition du DPPH supérieurs à 92.94% .

L'extrait aqueux de la camomille présente une activité antiradicalaire significative de 98.77 ± 1.45 %.

L'antibiogramme réalisé a montré que l'extrait aqueux de *Chamaemelum nobile* L ayant une activité modérément inhibitrice vis-à-vis à toutes les souches bactériennes a caractères Gram positif et Gram négatif. En ce qui concerne les flores fongique, *Candida albicans* et *Fusarium sp* ont montré une résistance à l'extrait aqueux.

Enfin, tous ces résultats montrent la richesse de *Chamaemelum nobile* L. en composés phénoliques qui sont derrière ses actions positives, ce qui montre l'importance de son utilisation en médecine locale sous forme d'une simple préparation « fait-maison » anti-inflammatoire et antimicrobienne.

Références bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Alam, M. N., Bristi, N. J., Rafiquzzaman, Md. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2): 143–152.

Amsterdam, J.D., Soeller, I., Rockwell, K., Li, Y., Mao, J.J., Shults, J. (2009). A Randomized. Double-Blind. Placebo-Controlled Trial of Oral *Matricaria recutita* (Chamomile) Extract Therapy for Generalized Anxiety Disorder. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 29, Number 4.

B

Babenko, N. A., Shakhova, E.G. (2006). Effects of *Chamomilla recutita* flavonoids on age-related liver sphingolipid turnover in rats. *Experimental Gerontology*, 41(1): 32-39.

Bartosz G. 2003.Generation of reactive oxygen species in biological systems.*Comments on Toxicology*, 9(5): 21.

Belhattab, R. (2007). Composition chimique et activité antioxydante, antifongique et antiaflatoxigène d'extraits d'*Origanum glandulosum* Desf. et *Marrubium vulgare* L (famille des Lamiaceae). Thèse de doctorat d'état. Dépt Biologie, UFA Sétif.

Bellakhdar, J. (2006). Plantes médicinales au Maghreb et soins de base, Précis de Phytothérapie Moderne. Editions Le Fennec. Casablanca, Maroc. 385p.

Benbrinis, S. (2012). Évaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme de Magister en biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie.

Benghanou, M. (2012). La phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier de la santé publique. Institut de formation paramédical CHETTIA Alger. Algérie. 56.

Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse de doctorat en chimie. Université d'Avignon et des pays de Vaucluse, 176p.

Billerbeck, V.G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*. 5: 249 – 253.

Billing, J., Sherman, P. W. (1998). Antimicrobial Functions of Spices. Why Some Like it Hot. *Q. Rev. Biol.* 73(3): 49.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 28: 25-30.

Broadasky, T.F., Lewis, C., Eble, T.E. (1976). Bio autographic thin layer chromatophic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. Clindamycin in the rat. *J. Pharm. Med.* 123(33): 44.

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie.phytochimie. Plantes médicinales*. 3eme Ed.Tec & Doc/Lavoisier, Paris. Pp:521.

C

Cassella, S., Cassella, J.P., Smith, I. (2002). Synergistic antifungal activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils against dermatophyte infection. *The International Journal of Aromatherapy*, 12(2): 15.

Cavallo, J.D., Chardon, H., Chidias, C., Choutel, P., Courvalin, P. (2006). Communiqué du comité français de l'antibiogramme. *Société française de microbiologie*. 2^{ème} Ed, 65-145.

Chang, S. M., Chen, C.H. (2016). Effects of an intervention with drinking chamomile tea on sleep quality and depression in sleep disturbed postnatal women: a randomized controlled trial. *Journal of Advanced Nursing*, 72(2): 306–315.

Conforti, F., Sosa, S., Marrelli, M., Menichini, F., Statti, G.F., Uzunov, D., Tubaro, A. Loggia, R.D. (2008). In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(1): 144-151.

Coupland, J.N., McClements, D.J. (1996). Lipid oxidation in food emulsions. *Trends Food Sci Technol*, 7: 83–91.

Cowan, M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin.Microbiol. Rev.*12: 564-582.

D

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2): 174-181.

Deba, F., Xuan, T.D., Yasuda, M., Tawat, S. (2008). Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oil from *Bidens pilosa* L. Var. *Radiata*, *Food Chemistry*, 19: 356-352.

Dezso, C. (2011). Assessment report on *Chamaemelum nobile* L. All., flos, Committee on Herbal Medicinal Products, 19p.

Djoubani, K., Hamadouche, N., Boudraa, O. (2017). Evaluation du pouvoir antimicrobien de plusieurs extraits Polyphénolique de deux espèces végétales *Chamaemelum nobile* L. et *Matricaria chamomilla* L., Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme de Master en Biotechnologie Microbienne. Université M'hamed Bougara Boumerdès, Boumerdès, Algérie.

E

Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother. Res*, 21: 308–323.

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

Escribano-Bailon, M.T., Santos-Buelga, C. (2003). Extraction from foods. *Methods in polyphenol analysis*, 1-16.

F

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 11: 108-115.

Falleh, H., Kousri, R., Chaieb, K., Karray-Boutaoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. Organs, and their biological activities. *C.R.Biologies*, 331: 372-379.

G

Gardiner, P. (1999). Chamomile (*Matricaria recutita*, *Anthemis nobilis*). The Longwood Herbal Task Force, 21p.

Gaussen, H., Leroy, H. F. (1982). Précis de Botanique (végétaux supérieurs). 2eme Ed, 426p.

Gherboudj, O. (2014). Etude phytochimique et activité antioxydante de *matricaria pubescens* (desf.) sch. bip. et *chrysanthemum deserticolum* batt. & Trab.(Asteraceae). Thèse de Doctorat en Chimie pharmaceutique. Université Constantine. Constantine. Algerie, 219p.

Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M., Orecchioni, A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier. 2eme Ed, TEC & DOC. Paris, 275p.

Gulcin I., Mshvildadze V., Gepdiremen A., Elias R. (2003). Antioxidant activity of saponins isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F. *Planta Med.* 70: 561-563.

Gohar, A., Zaki, A.A. (2012). Assessment of some Herbal Drugs for Prophylaxis of Peptic Ulcer. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(3): 1081-1086.

Gopal-Rao, G. (1999). Risk Factors for the Spread of Antibiotic-Resistant Bacteria. *Drugs*, 55: 323-330.

H

Hajjaj, G. (2017). Screening phytochimique. Etude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricaria chamomilla* l. et de *l'ormenis mixta* l. These de doctorat présenté pour Formation : Sciences du Médicament. Université Mohammed V. Rabat. Maroc.

Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol*, 86: 985–986.

Hayouni, E.A., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem.*

Hopkins, W.G. (2003). Physiologie végétale. 2eme Ed américaine, de Boeck et Lancier SA, Paris, 514p.

Hynes, M.J., O’Coinceanainn, M. (2001). The kinetics and mechanisms of the reaction of iron (III) with gallic acid, gallic acid methyl ester and catechin. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 85: 131–142.

I

Iserin, P., Masson, M., Restellini, J.P., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., Zha, E. (2001). *Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins*. 2eme Ed de VUEF, Hong Kong, 335p.

J

Jayaprakasha, G.K., Girenavar, B., Patil, S. B. (2008). Radical scavenging activities of Rio Red grape fruits and Sour orange fruit extracts in different in vitro model systems. *Bioresource Technology*, 99: 4484–4494.

Jones, W.P., Kinghorn, A.D. (2005). Extraction of plant secondary metabolites. *Natural Product Isolation*. Humana Press (Totowa), 323- 411.

K

Kartal, N., Sokmen, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chem*, 100: 584-589.

Khanbabae, K., Ree, T.R. (2001). Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18: 641-649.

Kitoune, I., Outamazirt, A. (2018). Optimisation de l’extraction des extraits phénoliques bruts et l’activité antioxydante de *Chamaemelum nobile*. Mémoire présenté pour l’obtention du Diplôme de master en Biochimie Fondamentale. Université A. MIRA. Bejaïa. Algerie.

Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and bioproducts processing*, 89: 217–233.

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

L

Larson, R.A. (1997). Naturally occurring antioxidants. Ed. Boca Raton. Lewis publishers, CRC.

Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K., Biro, L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J.Acta.biologica.Szegediensis*, 47(14): 119-125.

M

Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 4-5.

Manach, C., Scalbert, C., Morand, C., Remesy, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5): 727-747.

Meena, M.R., Sethi, V. (1994). Antimicrobial activity of essential oils from species. *J of foodSci. Tech.Mysore*, 31(1): 68-70.

Messai, A. (2011). Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est Algérien (*Artemisia herba alba*). Thèse de Doctorat des sciences en Chimie Organique. Université Mentouri. Constantine. Algerie.

Mezache, N. (2010). Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille Asteraceae. *Senecio giganteus* Desf, et *Chrysanthemum myconis* L. Thèse doctorat. Université Mentouri. Constantine. Algerie.

Mezhoudi, S., Moulla, A. (2015). Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et l'activité antioxydant des polyphénols de deux espèces de Camomille de la région de Boumerdès. Master Académique en biologie. Université M'Hamed Bougara Boumerdès. Boumerdès. Algerie.

Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol*, 52: 673-839.

Miguel, M.G. (2010). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules*, 15: 9252-9287.

Mika, A., Minibayeva, F., Beckett, R., Lüthje, S. (2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochemistry Reviews*, 3: 173-193.

Miraj, S., Alesaeidi, S. (2016). A systematic review study of therapeutic effects of *Matricaria recuita* chamomile (chamomile). *Electronic Physician*, 9: 3024-3031.

Mirunalini, S., Krishnaveni, M. (2011). Coumarin: A Plant derived Polyphenol with wide Biomedical Applications. *International Journal of Pharm Tech Research*, 3(3): 1693-1696.

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of science technology*. 26(2): 211-219.

Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Manuel Dominguez, J., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J., Carlos Parajo, J. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2): 145-171.

Mourice, N. (2013). *Chamaemelum nobile* (camomille romain). *Bulletin d'information, Hunzaroma Inc.*

Moussaid, M., Elamrani, A.A., Berhal, C., Moussaid, H., Bourhim1, N., Benaissa, M. (2012). Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two plants from the Lamiaceae family: *Marrubium vulgare* L. and *Origanum majorana* L. *International Journal of Natural Products Research*, 1(1): 11-13.

Mozaffarian, D. (2016). Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity. *Dietary and Policy Priorities*, 133: 187-225.

N

Naidu, M., Shyamala, B.N., Pura Naik, J., Sulochanamma, G., Srinivas, P. (2011). Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2): 451–456.

Naili, M.B., Alghazeer, O.A., Saleh, N.A., Al-Najjar, A.Y. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Asteraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab. J. Chem*, 3: 79–84.

Nelly, C.B. (2013). Price en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie. Thèse d'Etat de docteur en pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier. Faculté des sciences pharmaceutiques. Toulouse. France. 192p.

O

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

Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44: 307–315.

P

Paris, M., Hurabielle, P. (1981). Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed Masson. Paris. 102p.

Pelt, J. M. (1980). Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin. Paris, 221p.

Pierre, M., Lys, M. (2007). Secrets des plantes pour se soigner naturellement. Editions Artémis. Slovaquie. 89-198.

Ponce, A.G., Fritz, R., Del valle, C., Roura, S.I. (2003). Antimicrobial activity of oils on the native microflora of organic Swiss chard. Society of Food Science and Technology (Elsevier), 36: 679-684.

Pottier, G. (1981). Artemisia herba-alba. Flore de la Tunisie: angiospermes dicotylédones–gamopétales, 1012p.

Pourrut, B. (2008). Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat à l'Institut National Polytechnique de l'Université de Toulouse. Toulouse. France.

Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(10): 4290-4302.

Q

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

R

Rafraf, M., Zemestani, M., Asghari-Jafarabadi, M. (2014). Effectiveness of chamomile tea on glycemic control and serum lipid profile in patients with type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest*.

Raut, J. S., Karuppayil, S.M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62: 250–264.

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

Riza, E., Linos, A., Petralias, A., Martinis, L., Duntas, L., Linos, D. (2015). The effect of Greek herbal tea consumption on thyroid cancer: a case-control study. *European Journal of Public Health*, 1–5.

Rodriguez-Fragoso, L., Reyes-Esparza, J., Burchiel, S.W., Herrera-Ruiz, D., Torres, E. (2007). Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 22: 125–135.

Roginsky, V., Lissi, E.A. (2005). Review of method to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*, 92: 235-254.

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

S

Sanchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International*, 8(3): 121–137.

Sarni-Manchado, P., Veronique, C. (2006). Les polyphénols en agroalimentaires. *Collection sciences et techniques agroalimentaires*. Édition TEC et DOC, Paris. France, 398.

Seyoum, A., Asres, K., El-Fiky, F.K. (2006). Structure- radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67: 2058-2070.

Shenefelt, P.D. (2011). Herbal Treatment for Dermatologic Disorders. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*, 2nd edition, 13(6): 304–395.

Shon, MY, Kim, TH, Sung, NJ. (2003). Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* extracts. *Food Chem*, 82(4): 593-597.

Shukla, S., Gupta, S. (2009). Apigenin: A Promising Molecule for Cancer Prevention. *Apigenin and Cancer Prevention*, 27: 962–978.

Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H.A., Tepe, B., Sokmen, M., Ahini, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extract of *Thymus eigu* M. Zogary and P.H.Davis. *J. Agric Food. Chem*, 52: 1132-1137.

Srivastava, JK, Gupta, S, Shankar, E. (2007). Antiproliferative and apoptotic effects of chamomile extract in various human cancer cells. *J Agric Food Chem*, 55: 9470–9478.

Silva, E., Rogez, H., Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Ingaedulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 55: 381-387.

T

Teixeira da Silva, J. A. (2004). Mining the essential oils of the Anthemideae. *Afr. J. Biotechnol*, 3: 706-720.

Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H.A., Sokmen, A. (2006). Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem*, 95: 200-204.

U

Ulanowska, K., Majchrzyk, A., Moskot, M., Jak-bkiewicz-Banecka, J., WÂgrzyn, G. (2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologic*, 62: 132-135.

Urquiaga, I., Leighton, F. (2000). Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res*, 33: 55-64.

V

Virginie, G., Espérance, M.S., Guévara, N., Reine, B.A.G., Pascal, A.D, Dominique, S.C. (2015). Study and evaluation of granulometry influence on the natural polyphenols kinetic extraction from *Pterocarpus erinaceus* acclimated in Benin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 12: 325p.

W

Wichtl, M., Anton, R. (2003). *Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. 2eme Ed, EMInter/Tec & Doc. Paris, 369-73.

X

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

Y

Yang, X.M., Yu, W., Ou, Z.P., Liu, W.M, Ji, X.L. (2009). Antioxidant and immunity activity of water extract and crude polysaccharide from *Ficus carica* L. fruit. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64: 167-173.

Z

Zick, S.M., Wright, B.D., Sen, A., Arnedt, J.T. (2011). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11: 78p.