

الجمهورية الجزائرية الشعبية الديمقراطية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHESCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثلجي الاغواط
UNIVERSITE AMAR THELIDJI –LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Option : Parasitologie

Extraction et valorisation des substances bioactives de huit plantes aromatiques
de la région de Laghouat

Présentée par :

M^{elle} MILOUDI Djouairia

M^{elle} RAYANE Fatiha Nadia

Soutenu publiquement devant le jury composé :

Président (e) : CHAIBI Rachid

Professeur Université de Laghouat.

Examineur : KOUADRI Youcef

MCB Université de Laghouat.

Rapporteur : HAMIDA Lamine

MAB Centre Universitaire d'Aflou.

Co-rapporteur : BENHASSINE Mohamed El Amine **MAA** Université de Laghouat.

Année universitaire : 2022/2023.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous remercions Allah le tout puissant, de nous avoir accordé la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et notre grande gratitude à notre encadrant Mr. HAMIDA Lamine pour son confiance, son qualité d'encadrement professionnelle et son patience ainsi que pour les précieuses informations qu'il nous a prodigués avec intérêt et compréhension malgré son charge professionnelle.

A notre Co-encadrant Mr. BENHASSINE Mohamed El Amine pour son aide et connaissances qu'il nous a offrir dans le traitement des résultats.

Nous tenons à remercier Dr. CHAIBI Rachid de nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury.

À Dr. KOUADRI Youcef, merci d'avoir accepté avec tant d'enthousiasme de nous faire partager vos impressions avisées lors de l'examinassions de ce travail.

Un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, d'une façon ou d'une autre, à l'aboutissement de ce travail.

DEDICACE

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail :

Aux deux être le plus chers au monde,

Qui se sont sacrifiées pour que je grandisse avec un savoir-faire et souffert nuit et jour pour nous couvrir de leur amour, Et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras,

Qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, sans Lesquels je n'y serais jamais parvenue et qui je ne remerciais jamais assez,

Mes très chers parents.

À Mes chères sœurs

Pour l'amour, la tendresse, le soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études

À tous les membres de ma famille...

À tous mes amis...

A toutes les personnes que j'aime et qui m'aiment

A moi-même

Puisse dieu vous donne santé, bonheur, richesse et surtout la réussite.

Djouairia ♥



DEDICACE

*C'est avec profonde gratitude et sincères mots,
que je dédie ce modeste travail de fin d'étude à mes
chers parents ; qui ont sacrifié leurs vie pour ma
réussite et m'ont éclairé le chemin par leurs conseils
judicieux.*

*J'espère qu'un jour, je pourrais leurs rendre un peu de
ce qu'ils ont fait pour moi, que dieu leurs prête bonheur
et longue vie.*

*A mes sœurs, mes amis, tous mes professeurs qui m'ont
enseigné et à tous qui sont chers.*

Fatima ♥



ملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تثمين المواد النشطة الحية وتقييم فعالية مستخلصات ثمانية نباتات عطرية ضد اليرقات في منطقة الأغواط.

تظهر نتائج القياس الكمي للفينول أن محتويات هذه المركبات تتراوح بين 0.132 ± 0.959 و 0.446 ± 7.098 . ملغرام. تم الحصول على أعلى تركيز للفينول في *Syzgium aromaticum*

المستخلصات الثلاثة؛ *Juniperus phoenicea*, *Rosmarinus officinalis* و *lavandula angustifolia mill*

أظهرت أعلى نسبة من المرود (20.11؛ 19.52 و 16.76% على التوالي)

تشير العلاقة بين تركيز المستخلص الفينولي للنباتات ووفيات اليرقات *Culex pipiens* الى وجود علاقة طردية بين الوفيات والتركيز.

تم تسجيل أعلى مرود من الزيت العطري (*Lavandula angustifolia mill* (0.02096%) في حين ان مرود *Mentha spicata* (0.01262%) اقل منه.

الكلمات المفتاحية: مبيدات اليرقات، الفينول، المستخلصات، الاغواط.

Résumé

L'objectif principal de ce travail est la valorisation des substances bioactives et l'évaluation des activités larvicides des extraits de huit plantes aromatiques dans la région de Laghouat. Les résultats de la quantification des phénols totaux, montre que les teneurs de ces composés varient entre $0,959 \pm 0,132$ et $7,098 \pm 0,446$ mg. La concentration la plus élevée des phénols a été obtenue dans *syzgium aromaticum*. Les trois extraits ; de *Juniperus phoenicea*, *Rosmarinus officinalis* et *lavandula angustifolia mill* ont révélés des RD% plus élevés (20,11 ; 19.52 et 16.76%, consécutivement).

La relation entre la concentration de l'extrait phénolique des plantes et la mortalité des larves de *culex pipiens* fait ressortir de l'existence d'une corrélation hautement positive entre la mortalité et la concentration. Le rendement le plus élevé d'huile essentielle est enregistré pour *Lavandula angustifolia mill* (0.02096%), tandis que celui du *Mentha spicata* est inférieur (0.01262%).

Mots clés : larvicides, phénols totaux, extraits, Laghouat.

Summary

The main objective of this work is the valorization of bioactive substances and the evaluation of larvicidal activities of extracts of eight aromatic plants in the Laghouat region.

The results of the quantification of total phenols show that the levels of these compounds vary between 0.959 0.132 and 7.098 0.446 mg. The highest concentration of phenols was obtained in *syzgium aromaticum*.

The three extracts of *Juniperus phoenicea*, *Rosmarinus officinalis* and *lavandula angustifolia mill* showed higher RD levels (20.11; 19.52 and 16.76%, consecutively).

The relationship between the concentration of phenolic extract from plants and the mortality of *culex pipiens* larvae shows a highly positive correlation between mortality and concentration.

The highest yield of essential oil is recorded for *Lavandula angustifolia mill* (0.02096%), while that of *Mentha spicata* is lower (0.01262%).

Keywords: larvicidal, total phenols, extracts, Laghouat.

LISTE DES ABREVIATIONS

Abs : Absorbance.

AFNOR : Association française de normalisation.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

CuSO₄ : Sulfate de cuivre.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

EAG : Equivalent de l'acide gallique.

ECT : Equivalent de la catéchine.

EQ : Equivalent de la quercitine.

FeCl₃ : Chlorure de fer.

HCl : chlorure d'hydrogène.

HEs : huiles essentielles.

H₂SO₄: Acide sulfurique.

ISO : Organisation internationale de normalisation.

MAP : plantes médicinales et aromatiques.

MeOH : méthanol.

MS : Matière sèche.

NaCl : chlorure de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NH₂OH : Hydroxylamine.

nm : nanomètre.

ONM : Office National de la Météorologie.

PAs : Plantes aromatiques.

Rd(%): Rendement (%).

RHE : Rendement en huiles essentielles.

UV : Ultraviolet.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte de la wilaya de Laghouat.....	12
Figure 2 : Site de prélèvement « l'Assafia » (originale,2023).....	13
Figure 3 : Site de prélèvement "EL Kheng" (originale, 2023)	13
Figure 4 : Site de prélèvement "Ain Madhi" (originale ; 2023)	14
Figure 5 : Diagramme Ombrothermique de GAUSSEN de la région de Laghouat (2008-2022)	15
Figure 6 : <i>Mentha Spicata</i> (originale, 2023)	16
Figure 7 : <i>Lavandula Angustifolia Mill</i> (originale ; 2023)	17
Figure 8 : <i>Rosmarinus Officinalis</i> (originale ; 2023).....	18
Figure 9 : <i>Syzgium Aromaticum</i> (originale;2023)	19
Figure 10 : <i>Juniperus Phoenicea</i> (originale ; 2023).....	20
Figure 11 : <i>Thymus Vulgaris</i> (originale;2023)	21
Figure 12 : <i>Mentha Pulegium</i> (originale;2023)	22
Figure 13 : <i>Salvia Verbenaca</i> (originale; 2023)	23
Figure 14 : La préparation de la poudre de plante (originale ; 2023).....	24
Figure 15 : Préparation des extraits par la macération (originale; 2023)	25
Figure 16 : Protocole expérimental d'obtention des extraits phénoliques (originale ; 2023)	26
Figure 17 : Préparation de standard de phénols totaux (originale ; 2023).....	29
Figure 18 : Dosage des flavonoïdes (originale; 2023).....	30
Figure 19 : Dosage des tanins (originale; 2023).....	31
Figure 20 : Clevenger (originale;2023)	32
Figure 21 : Rendements des plantes aromatiques étudiées (%).....	41
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	43
Figure 23: Courbe d'étalonnage de quercétine.....	43
Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.	44
Figure 25 : Classification Ascendante Hiérarchique (CAH).	47
Figure 26 : L'analyse factorielle des correspondances (AFC).	47
Figure 27: Huiles essentielles des deux plantes (original 2023).....	48
Figure 28: Relation concentration-mortalité chez le <i>Rosmarinus officinalis</i>	50
Figure 30 : Relation concentration-mortalité chez le <i>Juniperus phoenicea</i>	51
Figure 32: Relation concentration-mortalité chez <i>Salvia verbenaca</i>	52
Figure 33: Relation concentration-mortalité chez <i>Lavandula angustifolia Mill</i>	52

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Moyennes mensuelles et annuelles des Températures de la station de Laghouat (2008 à 2022)	14
Tableau 2 : Moyennes mensuelles et annuelles des précipitations du (2008 à 2022)	15
Tableau 3: Criblage phytochimique des plantes étudiées.....	35
Tableau 4: Rendements des extraits méthanoliques.....	41
Tableau 5 : Teneurs en composés phénoliques des plantes étudiées.....	44
Tableau 6: Propriétés organoleptiques des deux plantes.....	48
Tableau 7: Rendement en HEs de deux plantes.....	49

SOMMAIRE

<i>REMERCIEMENTS</i>	I
<i>DEDICACE</i>	II
	IV
Résumé	IV
LISTE DES ABREVIATIONS	VI
LISTE DES FIGURES	VIII
LISTE DES TABLEAUX	IX
SOMMAIRE	X
INTRODUCTION	1
<i>CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LES PLANTES AROMATIQUES</i>	4
I. Généralités sur les plantes aromatiques	5
1. Définition	5
2. Intérêts et utilisations	5
3. Métabolisme des plantes	5
3.1. Métabolites primaires	6
3.2. Métabolites secondaires	6
4. Huiles essentielles	8
4.1. Répartition et localisation	8
4.2. Fonction dans la plante	9
4.3. Propriétés physico-chimiques	10
<i>CHAPITRE II MATÉRIEL ET MÉTHODES</i>	11
I. Matériel et méthodes	12
1. Présentation des régions d'étude	12
1.1. Situation géographique des régions d'étude	12
1.2. Considération bioclimatique	14
1.3. Synthèse climatique	15
2. Présentation de modèle biologique	16
2.1. Menthe verte <i>Mentha spicata</i> Cronquist (1981)	16
2.2. Lavande <i>Lavandula angustifolia</i> Mill Cronquist (1981)	17
2.3. Romarin <i>Rosmarinus officinalis</i> Tropicos (1982)	18

2.4.	Giroflier (<i>Syzygium aromaticum</i>) (Sophie B 2015)	18
2.5.	Genevrier <i>Juniperus phoenicea</i> (Haluk et Roussel., 2000)	19
2.6.	Thyms <i>Thymus vulgaris</i> (Carl Linnæus1753)	20
2.7.	Menthe pouliot <i>Mentha pulegium</i> (Carl Linnæus 1753)	21
2.8.	<i>Salvia Salvia verbenaca</i> (Carl Linnæus 1753)	22
II.	Matériel végétal	23
1.	Préparation de la poudre de plante	23
2.	Préparation des extraits	24
2.1.	Macération à froid	24
III.	Dosages et quantification de quelques métabolites secondaires	28
1.	Dosage des phénols totaux	28
a)	Principe	28
b)	Protocole	28
2.	Dosage des flavonoïdes	29
a)	Principe	29
b)	Protocole	29
3.	Dosage des tanins	30
a.	Principe	30
b.	Protocole	30
4.	Rendement d'extraction :	31
IV.	Les huiles essentielles	31
1.	Préparation des échantillons	31
2.	Préparation des huiles essentielles	32
V.	Analyse	33
	<i>CHAPITRE III RÉSULTATS ET DISCUSSION</i>	34
I.	Résultats et discussion	35
1.	Criblage phytochimique	35
2.	Rendement d'extraction	41
3.	Résultats de la quantification des composés phénoliques	42
a.	Dosage de polyphénols totaux	42
b.	Dosage des flavonoïdes	43
c.	Dosage des tanins	44
4.	Teneurs en composés phénoliques	44
5.	Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)	46
6.	L'analyse factorielle des correspondances (AFC)	47

7. Résultat d'extraction des huiles essentielles	47
a. Caractères organoleptiques	48
b. Rendement en huile essentielles	49
c. Activité larvicide	49
CONCLUSION	54
<i>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i>	56
Annexe	69

INTRODUCTION

Introduction

L'existence de systèmes de médecine à base de plantes peut être attestée depuis le Paléolithique moyen, il y a près de 60 000 ans, suites aux découvertes effectuées sur le site archéologique de Shanidar IV, en Iraq. Les premières traces écrites témoignant de l'existence de ce type de médecine datent de 2 600 ans avant notre ère. Les Sumériens, installés en basse Mésopotamie, utilisaient des plantes médicinales et aromatiques telles que le cèdre (*Cedrus spp.*, *Pinaceae*), le cyprès (*Cupressus sempervirens L.*, *Cupressaceae*), la myrrhe (*Commiphora spp.*, *Burseraceae*) ou le jus de pavot (*Papaver somniferum L.*, *Papaveraceae*) (Gurib-Fakim, 2006)

Le développement d'un nouveau traitement, moins ou pas toxique, plus efficace, moins cher, accessible aux populations les plus démunies particulièrement touchées par les maladies, est devenu une priorité (Kaszkin et al., 2004). Parmi les stratégies recommandées par l'OMS, le développement de nouveaux médicaments dérivés des produits issus de la biodiversité, en se basant sur les connaissances de la médecine traditionnelle représente une approche prometteuse (Verpoorte et al., 2012). En effet, le règne végétal regorge de molécules bioactives qui disposent d'une panoplie d'activités biologiques. De nos jours, la recherche scientifique a démontré que ces molécules représentent clairement une source potentielle de médicaments antiparasitaires (Williamson 2001).

L'Algérie possède une richesse non négligeable en plantes aromatiques et médicinales qui susceptible d'être utilisées dans différents domaines tels qu'en pharmacie, parfumerie, cosmétique et en agroalimentaire pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes.

Des métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, généralement dans une grande diversité structurale. Dans la nature, de nombreux métabolites secondaires jouent un rôle important dans la protection des plantes comme antibactériens, antiviraux, antifongiques, insecticides et également contre les herbivores en réduisant leur appétit pour ces plantes. Ils peuvent également attirer certains insectes pour favoriser la dispersion des pollens et des graines, ou repousser les prédateurs indésirables (Bakkali et al., 2008).

Les plantes aromatiques sont prometteuses et constituent une grande source d'antioxydants et d'antibactériens naturels pour l'industrie agroalimentaire. En effet, l'oxydation des lipides dans les produits alimentaires induit non seulement une diminution de la valeur nutritive de l'aliment, mais aussi des effets reconnus nuisibles pour le consommateur et qui peuvent être

associés à des risques de cancer chez l'homme. La présence d'antioxydants dans l'alimentation est devenue essentielle pour la qualité et la sécurité de l'aliment. Les effets négatifs des antioxydants synthétiques encouragent à leur substitution par des agents naturels.

Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE) connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire. La composition chimique des HE est assez complexe, les composés terpéniques et aromatiques représentant les principaux constituants. On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles. La nature de la fonction chimique du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques.

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis longtemps dans le processus de stress oxydatif et la lutte contre les maladies infectieuses. Mais la découverte des antioxydants synthétiques et des antibiotiques a provoqué le déclin de la médecine à base de plantes et l'a reléguée à un rang secondaire.

Les huiles essentielles (HEs) sont des produits naturels précieux utilisés comme matières premières dans de nombreux domaines, notamment les parfums, les cosmétiques, aromathérapie, la phytothérapie, les épices et la nutrition. L'aromathérapie est l'utilisation thérapeutique de parfums ou du moins de simples volatils pour guérir, atténuer ou prévenir les maladies, les infections et les indispositions par inhalation (**Lahlou, M. 2004**). Dans ce but, l'utilisation des plantes représente un potentiel inestimable pour la recherche de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien. Ainsi les huiles essentielles et les extraits organiques, notamment les polyphénols, suscitent un intérêt croissant comme source potentielle de molécules bioactives pouvant être employées comme alternatives à certaines substances synthétiques (**Bruneton J.1999**).

L'objectif principal de cette étude est de contribuer au développement de la filière des plantes aromatiques comme ingrédients de lutte biologique contre les insectes et de quantifier les composés phénoliques totaux, les flavonoïdes et les tanins.

CHAPITRE I :
GÉNÉRALITÉS
SUR LES
PLANTES
AROMATIQUES

I. Généralités sur les plantes aromatiques

1. Définition

Les plantes aromatiques sont des végétaux qui contiennent suffisamment des molécules aromatiques, Ils sont utilisés sous forme de drogues brutes, qui sont des parties séchées des plantes aromatiques (racines, tiges, bois, écorce, feuilles, fleurs, graines et, dans certains cas, plantes entières) ou leurs extraits (**Namdeo, 2018**).

Les plantes aromatiques sont une source d'arôme, de parfums, de saveurs, de produits cosmétiques et de boissons diététiques (**Singh, 2008**).

Les plantes aromatiques fournissent des protéines, des fibres, des composants volatils (huile essentielle), des vitamines (complexe A, B et C), des minéraux (calcium, phosphore, sodium, potassium et fer) et des produits phytochimiques (substances bioactives présentes en petites quantités qui agissent, par exemple, comme antioxydants, bactéricides ou antiviraux) (**Costa et al., 2015**).

2. Intérêts et utilisations

Les plantes aromatiques plus leurs huiles essentielles sont amplement utilisées dans la vie quotidienne, depuis l'herbe sèche jusqu'à l'extrait. Des milliers de substances naturelles différentes des plantes aromatiques ont été identifiées autour du monde et beaucoup d'entre elles se sont avérées utiles dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies (**Khia et al., 2014**). Les PAs constituent une source précieuse de composés fonctionnels très utiles dans les industries agroalimentaires, source potentielle de médicaments et des produits de bien-être suscitant un intérêt croissant des industries pharmaceutiques et parapharmaceutiques, les industries cosmétiques, la parfumerie et autres utilisations (**Neffati et Sghaier, 2014**). En Algérie aussi, la production des PAs atteint des centaines des stères par année, un chiffre faible par rapport à la potentialité de l'Algérie (**Ilbert et al., 2016**).

Cette immense valeur dans plusieurs domaines de ces plantes vient de leurs richesses en teneurs très élevées des substances bioactives qu'elles synthétisent régulièrement dans leurs milieux de vie dont les huiles essentielles sont les composants majeurs. Ces substances sont adoptées par les plantes afin s'adapter et interagir avec leur environnement, et encore de tolérer les différentes conditions de cet environnement.

3. Métabolisme des plantes

Les progrès de la chimie végétale ont conduit à une connaissance de plus en plus précise des principes actifs rentrant dans la composition des végétaux. En outre, la variation dans la teneur

en principes actifs varie d'une plante à une autre et peut atteindre des proportions considérables (**Dillemann, 1961**). Ces substances actives sont générées par un processus métabolique dit secondaire. Ces substances qui s'agissent donc des métabolites secondaires, ne participent pas à la survie des cellules végétales contrairement aux métabolites primaires, qui effectuent le rôle métabolique essentiel en participant à la nutrition et la division cellulaire. Cependant, les métabolites secondaires jouent un rôle dans la protection de la plante contre les agents pathogènes et les différents ravageurs (bactéries, champignons, nématodes, insectes) et l'interaction de la plante avec son environnement abiotique (température et humidité, blessure) (**Pagare et al., 2015**). Comme cette étude s'intéresse aux substances actives qui font partie des métabolites secondaires, nous avons mettre l'accent sur ces derniers.

3.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules qui existent dans toutes les cellules végétales et sont nécessaires à la vie de la plante. Ce sont les glucides, les lipides et les acides aminés, les protides et les protéines. C'est à partir de ceux-ci que les métabolites secondaires sont formés, par différentes réactions chimiques (**Bruneton, 1999**). Ils jouent aussi un rôle essentiel dans la photosynthèse, la respiration, la croissance et le développement de la plante (**Croteau et al., 2000**).

3.2. Métabolites secondaires

Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphérique indirectement essentielles à la vie des plantes (**Bouguet, 2008**).

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante (**Hartmann, 2007**).

3.2.1. Classification des métabolites secondaires

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (**Krief, 2003**). Elles sont nombreuses, en voici quelques composantes qui représentent les éléments actifs des plantes :

3.2.1.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présents dans tous les organes de la plante.

L'élément structural de base est un noyau benzoïque auquel sont directement liés à un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthyle, ester, sucre...) (**Bruneton, 1999**).

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. Ils ont divers effets sur la physiologie végétale de par leurs actions antibactériennes et antifongiques (**Herbert, 1989**).

Parmi les composés phénoliques les plus importants en peut citer ;

a. Les coumarines

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus. Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Duraffourd et al., 1990**).

Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'infections cutanées (**Bruneton, 1999**).

b. Les tanins

Les acides tanniques sont des composés organiques complexes. Ils sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles. Usagée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir (**Dangles et al., 1992**). Ils sont solubles dans l'eau, avec des poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Dalton (**Bruneton, 1999**), d'après leurs structures et leurs propriétés, deux types de tanins sont distingués : Les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

c. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes (**Bruneton, 1999**). De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antioxydants et anti-cancéreuses (**Bruneton, 1999**).

3.2.1.2. Les alcaloïdes (les composés azotés)

Les alcaloïdes sont un groupe diversifié de composés à faibles poids moléculaires, contenant de l'azote dérivés principalement d'acides aminés et trouvés dans environ 20% des espèces végétales (**Roberts, 2013**).

Les alcaloïdes jouent un rôle défensif dans la plante contre les herbivores et les agents pathogènes. En raison de leurs activités biologiques puissantes, bon nombre d'alcaloïdes connus ont été exploités comme produits pharmaceutiques, stimulants, narcotiques et poisons (**Wink, 1998**)

3.2.1.3. Les terpènes

Les terpènes, ou isoprénoïdes, sont l'une des classes les plus diverses de métabolites secondaires. Leur squelette carboné est constitué d'unités isopréniques reliées, c'est ce que l'on appelle la règle de l'isoprène. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles. (**Brielmann et al., 2006**). Ils sont des arômes et des parfums, des antibiotiques, des hormones végétales et animales, des lipides membranaires, des attracteurs d'insectes, des anti alimentaires et des médiateurs des processus essentiels de transport d'électrons (**Crozier et al., 2008**)

4. Huiles essentielles

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

Plusieurs définitions de L'huile essentielle existent mais celle retenue par l'Association Française de Normalisation (**AFNOR, 2000**), la norme ISO (2013) et adoptée par la PHARMACOPÉE EUROPÉENNE (2008), est la suivante : « Les huiles essentielles sont des produits odorantes et volatils généralement de composition complexe obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (**Nicolas, 2013 ; Zuzarte et Ligia, 2015**).

4.1. Répartition et localisation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (**Bruneton, 2009**). Les familles botaniques les plus courantes produisant les huiles essentielles sont : Abiétacées (pins, sapins, cèdres), Apiacées (anis, fenouil) Astéracées (absinthe, armoise blanche, camomille), Cupressacées (genévrier), Lamiacées (romarin, lavande, thym, origan), Lauracées (cannelle, laurier), Myrtacées (eucalyptus, giroflier, myrte), Poacées (citronnelle),

Rutacées (citron, mandarine, pamplemousse) (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013 ; Maffei, 2010).

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices spécifiques. Ce sont des structures histologiques spécialisées servant à leur synthèse et à leur stockage. Ces cellules sont le plus souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante recouvertes d'une cuticule (Bruneton, 2009 ; Maffei, 2010 ; Anton et Lobstein, 2005).

Les cellules sécrétrices sont rarement à l'état isolé, mais le plus souvent regroupées dans des poches sécrétrices (*Myrtacées*, *Rutacées*), dans des canaux sécréteurs (*Apiacées*, *Astéracées*) ou dans des poils sécréteurs (*Lamiacées*) (Hammer et al., 2008 ; Ahmadi et al., 2002 ; Morone-Fortunato et al., 2010).

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (Anton et Lobstein, 2005).

Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce et dans un même organe (Karray-Bouraoui et al., 2009 ; Oussalah et al., 2006).

Les huiles essentielles sont issues de la sécrétion naturelle élaborée dans divers organes végétaux : les sommités fleuries (menthe, lavande), les feuilles (eucalyptus, laurier) et moins habituellement dans les rhizomes (gingembre), les fruits (anis), les écorces (agrumes, cannelle) et les graines (muscades) (Cava et al., 2007 ; Wannes et al., 2010).

4.2. Fonction dans la plante

La fonction biologique des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure (Bruneton, 2009). Il est toutefois vrai semblable qu'ils ont une fonction écologique lors des interactions végétales, comme agent allélopathique, afin de réduire la compétition des autres espèces de plantes par l'inhibition de la germination des graines. En effet, le 1,8-cinéole et le camphre, libérés dans l'atmosphère sont absorbés par le sol sec, inhibant la germination des graines des espèces spontanées (Zuzarte et Ligia, 2015 ; Thompson et al., 2003 ; Guignard et Dupont).

Elles interviennent aussi lors des interactions végétal- animal, comme agent de protection contre les prédateurs : insectes, champignons et bactéries par leurs propriétés antiseptiques, insecticides, fongicides et bactéricides (Bakkali et al., 2006 ; Vigan, 2009; Carson et

Hammer, 2011 ; Unsicker et al., 2009).

Elles sont aussi efficaces contre les herbivores par le goût et les effets défavorables sur le système nerveux (**Porter, 2001 ; Guignard et Dupont**). Par leurs odeurs caractéristiques, les huiles essentielles interviennent également dans l'attraction des pollinisateurs (insectes et oiseaux) qui participent dans la dispersion du pollen ce qui favorise la pollinisation (**Bakkali et al., 2006; Carson et Hammer, 2011; Cseke et al., 2007**). Les huiles essentielles protègent aussi, la plante contre les stress photo-oxydatif (**Pichersky Et Gershenzon, 2002**). Les constituants des huiles essentielles sont considérés comme des modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaire, protégeant la plante contre les facteurs atmosphériques (**Yan Et Chen, 2007**).

Certains auteurs considèrent que l'huile essentielle est une source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques. D'autre part, elle conserve l'humidité nécessaire à la vie des plantes exposées à des climats désertiques (**Bekhechi et al., 2010**).

4.3. Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire. Elles sont volatiles, odorantes et inflammables, liquides à température ambiante. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est le plus souvent inférieure < 1 .

Toutes les huiles essentielles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active). Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (**Bruneton, 1999 ; Degryse et al., 2008**).

Ce sont des produits stimulants, employés à l'intérieur du corps, quelque fois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté (**Bekhechi et Abdelomahid, 2010**).

CHAPITRE II
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

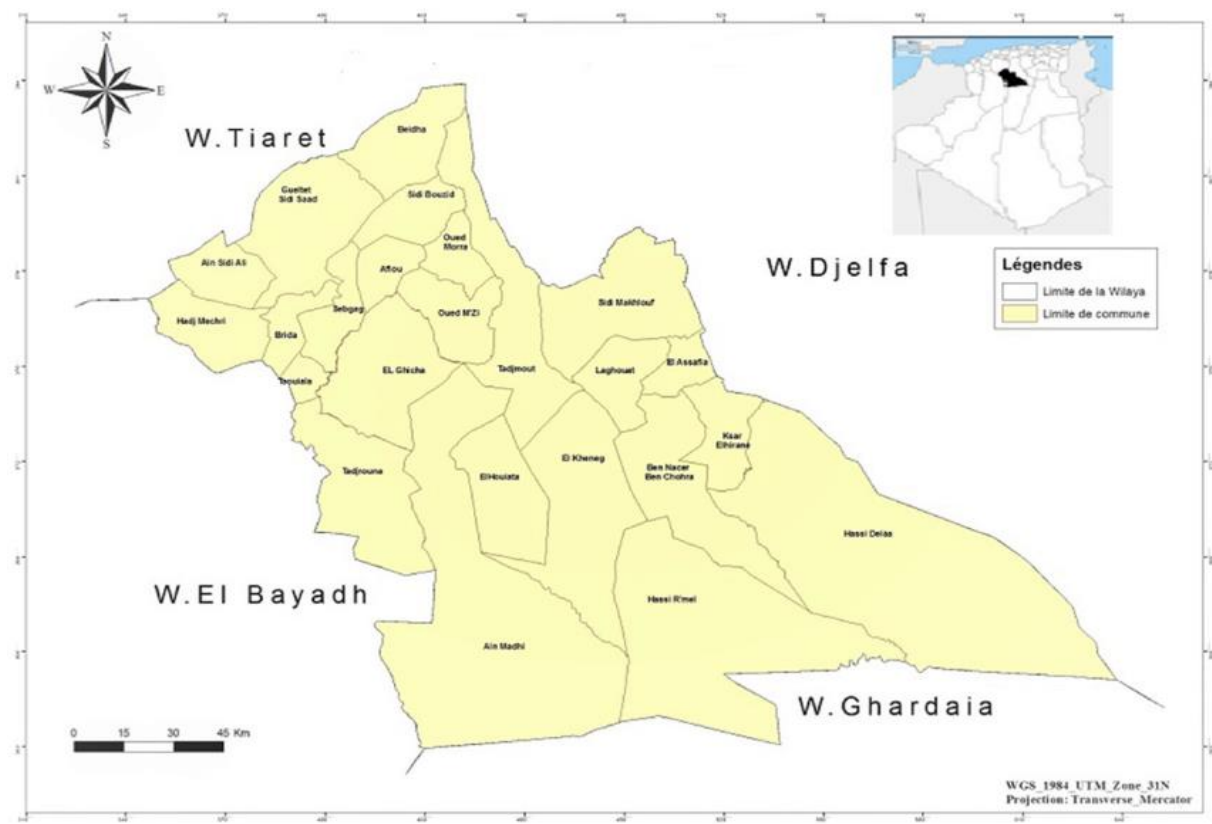
I. Matériel et méthodes

1. Présentation des régions d'étude

1.1. Situation géographique des régions d'étude

❖ Laghouat

La wilaya de Laghouat est située au cœur du pays à 400 km au sud de la capitale Alger, la wilaya s'étend sur une superficie de 25.052 km². Située à plus de 750 mètres d'altitude sur les hauts plateaux, la wilaya de Laghouat est traversée par la chaîne de l'Atlas Saharien avec des sommets qui dépassent les 2.000 mètres ("**Djebel AMOUR**" **2.200 mètres**). Laghouat est limitée au Nord et à l'Est par la Wilaya de Djelfa, au Nord-Ouest par les Wilayas de Tiaret et El Bayadh et au Sud par la wilaya de Ghardaïa.



Source : CDF, (2020).

Figure 1 : Carte de la wilaya de Laghouat.

Site de l'Assafia

Assafia est une commune de la wilaya de Laghouat en Algérie à 33° 50' 00" nord, 2° 59' 00" et de Latitude: 33,8333 et Longitude: 2,98333 à altitude 755 m



Figure 2 : Site de prélèvement « l'Assafia » (originale,2023)

Site d'El kheng

Kheneg ou El Kheng est une commune de la wilaya de Laghouat en Algérie à $33^{\circ} 44' 41''$ nord, $2^{\circ} 47' 39''$



Figure 3 : Site de prélèvement "EL Kheng" (originale, 2023)

Site d'Ain Madhi

Aïn Madhi est une commune algérienne et un ancien ksar fortifié, de la wilaya de Laghouat. La commune est située au sud-ouest de la wilaya de Laghouat, à 66 km à l'ouest de Laghouat dans le Sud du pays. A altitude 985 m et à $33^{\circ} 47' 38''$ nord, $2^{\circ} 18' 04''$



Figure 4 : Site de prélèvement "Ain Madhi" (originale ; 2023)

1.2. Considération bioclimatique

a. Le climat

Pour caractériser l'état climatique de la région d'étude et mettre en évidence les impacts probables de ces facteurs sur la bio écologie des organismes vivants, on a pris en considération les observations homogènes sur une période de 14 ans (du 2008 à 2022) recueillies au niveau de la station météorologique d'El kheneg (ONM, 2022).

b. Température

La température est l'un des éléments importants pour la caractérisation du climat (Ramade, 1984 ; Dajoz, 1985). Les températures de la région d'étude collectées durant la période allant de 2008 à 2022 sont récapitulées dans le Tableau 1.

Tableau 1: Moyennes mensuelles et annuelles des Températures de la station de Laghouat (2008 à 2022)

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jua	Jul	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc	Moy
T(°c)	8.72	10.02	13.49	18.05	22.84	28.17	32,38	31.07	25.9	19.42	12.59	9.28	19.33

Source : ONM, (2023).

Les moyennes annuelles des températures présentent généralement des valeurs thermiques, la région de Laghouat à une valeur de 19.33°C. Pour la région de Laghouat le mois Juillet est le mois le plus chaud avec une moyenne de 32.38°C.

c. Précipitations

Les précipitations de la région d'étude collectées durant la période allant de 2008 à 2022, on constate à Laghouat que le mois le plus arrosé est le mois de Septembre et Octobre avec une pluviométrie de 25.66 et 21.73 respectivement.

Tableau 2 : Moyennes mensuelles et annuelles des précipitations du (2008 à 2022)

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jun	Jul	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc	Cum
P(mm)	6.44	9.01	9.76	13.25	12.10	10.10	6.23	12.94	25.66	21.73	13.13	7.43	147.49

Source : ONM, (2023).

1.3. Synthèse climatique

• Diagrammes Ombrothermiques

La région de Laghouat selon le Diagramme Ombrothermique de Gausson présente une période sèche durant toute l'année.

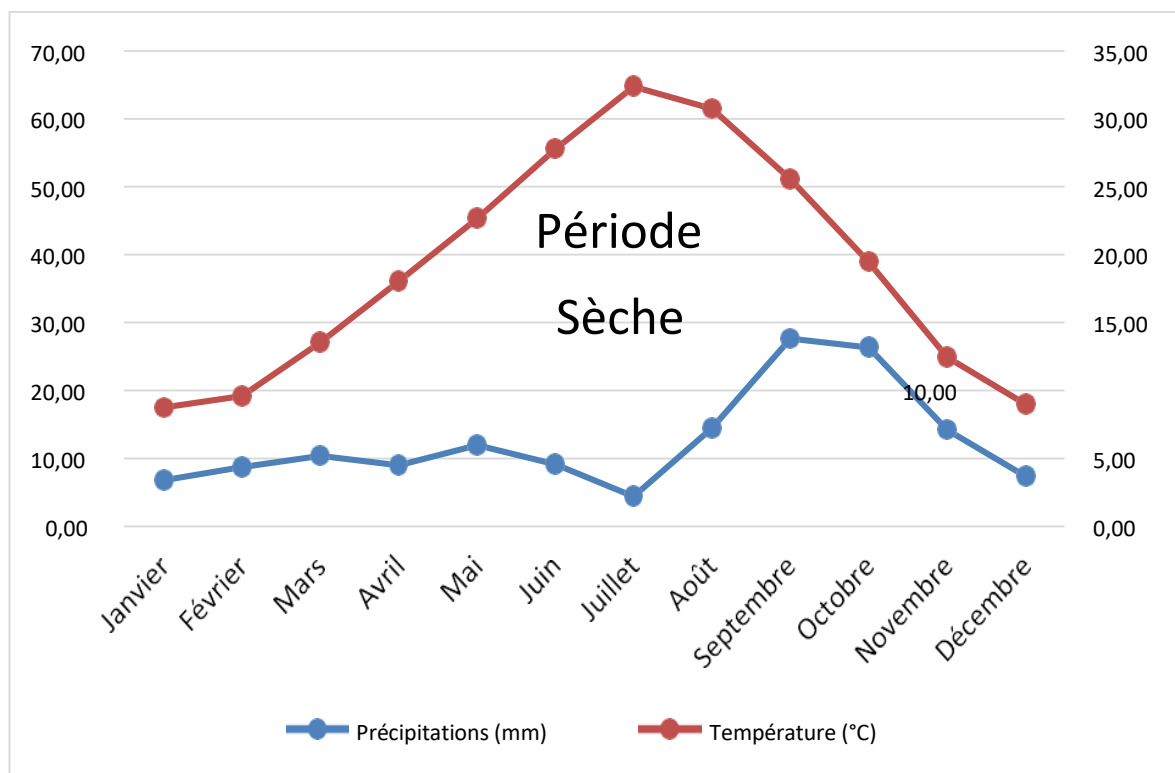


Figure 5 : Diagramme Ombrothermique de GAUSSEN de la région de Laghouat (2008-2022)

2. Présentation de modèle biologique

2.1. Menthe verte *Mentha spicata* Cronquist (1981)

La menthe verte (*M. spicata* L.) est une plante aromatique vivace stolonifère. Les feuilles sont d'un vert foncé, les plus jeunes sont d'un vert clair brillant. Elles sont sessiles, ovales, lancéolées à dents de scie et acuminées et glabres. Les inflorescences sont des épis allongés, de couleur blanche ou pourpre. Les étamines sont plus longues que la corolle et écartées entre elles. La menthe verte est très commune en Afrique du nord (**Paris et Moïse, 1965**) (figure 6).



Figure 6 : *Mentha Spicata* (originale, 2023)

Position systématique de la menthe verte selon Cronquist (1981)

Règne : *Plantae*.

Division : *Magnoliophyta*.

Classe : *Magnoliopsida*.

Ordre : *Lamiales*.

Famille : *Lamiaceae*.

Genre : *Mentha*.

Espèce : *Mentha spicata*.

2.2. Lavande *Lavandula angustifolia* Mill Cronquist (1981)

Lavandula officinalis ou *lavandula angustifolia* a été découverte par Linné, l'étymologie de lavande vient du latin «lavare» qui signifie laver, et l'adjectif « *Angustifolia* » vient du latin « *angustus* » qui signifie « étroite » et de « *folia* » ou « *folium* » qui désigne la feuille (Chenikher et al., 2020). C'est un arbrisseau buissonnant pouvant atteindre 1 m de hauteur, originaire des basses montagnes du bassin méditerranéen, elle pousse en altitude au-dessus de 1000 m sur des coteaux arides, calcaires et ensoleillés (figure7) (Aimene et Bellil, 2019).

Selon Laïb et Barkat (2011), *Lavandula angustifolia* Mill possède des tiges ligneuses, des feuilles étroites, linéaires et de couleur gris vert et ont une longueur variant entre 3 et 5 cm. Les fleurs de cette espèce sont bleu violet, apparaissant en épis associés à deux petites bractées ovales et pointues.



Figure 7 : *Lavandula Angustifolia* Mill (originale ; 2023)

Position systématique de lavande selon Cronquist (1981)

Règne : *Plantae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Asteridae*

Ordre : *Lamiales*

Famille : *Lamiaceae*

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula angustifolia* Mill

2.3. Romarin *Rosmarinus officinalis* Tropicos (1982)

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est un arbrisseau de la famille des Lamiacées qui peut atteindre 1.50 m de hauteur. Le romarin possède une odeur fraîche et « camphrée ». Ses feuilles persistantes sont vert intense, sombre sur le dessus et recouvertes d'un duvet blanchâtre en dessous. La tige couverte d'une écorce grisâtre se divise en de nombreux rameaux opposés. Les fleurs bleu violacé, visibles de janvier à mai, sont groupées en grappe à l'extrémité des rameaux. Le romarin pousse à l'état sauvage près du bassin méditerranéen principalement dans les garrigues, sur les terrains calcaires et les rocailles (figure8).



Figure 8 : *Rosmarinus Officinalis* (originale ; 2023)

Position systématique de Romarin selon Tropicos (1982)

Règne : *Plantae*.

Division : *Magnoliophyta*.

Classe : *Equisetopsida*.

Sous-classe : *Magnoliidae*.

Ordre : *Lamiales*.

Famille : *Lamiaceae*.

Genre : *Salvia*.

Espèce : *Rosmarinus officinalis*.

2.4. Giroflier (*Syzygium aromaticum*) (Sophie B 2015)

Comme le nom de clou l'indique, le bouton floral comporte une partie quadrangulaire, l'hypanthe, longue de 10 à 12 mm pour un diamètre de 2 à 3 mm et une tête globuleuse d'un diamètre de 4 à 6 mm, entourée par les quatre lobes divergents des sépales et constituée des 47 quatre pétales imbriqués qui enferment de très nombreuses étamines recourbées (Figure 9). La

poudre des clous de girofle peut être caractérisée par des fragments de parenchyme renfermant de grandes poches sécrétrices, de nombreux grains de pollen triangulaires à 3 pores dans les angles (**Bruneton, 1999**).



Figure 9 : *Syzygium Aromaticum* (originale;2023)

Position systématique de girofler selon (Sophie B 2015)

Règne : *Plantae*.

Classe : *Angiosperme*.

Sous-classe : *Tiporées*.

Ordre : *Myrtales*.

Famille : *Myrtaceae*.

Genre : *Syzygium*.

Espèce : *Syzygium aromaticum*.

2.5. Genevrier *Juniperus phoenicea* (Haluk et Roussel., 2000)

Généralement connu sous le genévrier de Phénicie , Arbuste ou petit arbre à rameaux épais couverts de feuilles vert foncé, squamiformes, fortement appliquées sur les rameaux, généralement en 4 rangs, longues et larges de 1 mm environ, marquées d'un sillon glanduleux sur le dos. Fruit globuleux, de 6-15 mm, terminal sur les rameaux, rouge à maturité (**Polunin et Huxley,1967**) (Figure10).C'est une espèce variable, caractérisée par une grande différenciation morphologiques et biochimiques , qui a permis de distinguer trois sousespèces : *J phoenicea* subsp *phoenicea* , *J. phoenicea* subsp *eu-mediterranea* et *J. phoenicea* var. *turbinata* . (**Greuter et al.,1984, Amaral 1986, Lebreton et Rivera 1989**).



Figure 10 : *Juniperus Phoenicea* (originale ; 2023)

Position systématique de juniperus selon (Haluk et Roussel., 2000)

Régne : *Plantae*.

Embranchement : *Spermaphytes*.

Sous-embranchement : *Gymnospermes*.

Classe : *Coniferopsides*.

Sous classe : *Coniferiidae*.

Ordre : *Cupressales*.

Famille : *Cupressacée*.

Sous-famille : *Cupressoïdées*.

Genre : *Juniperus*.

Espèce : *Juniperus phoenicea*.

2.6. Thyms *Thymus vulgaris* (Carl Linnæus1753)

Les thyms (*Thymus*) sont des plantes basses sous ligneuses à petites feuilles plus ou moins contractées, ponctuées et odorantes. Les inflorescences sont en faux verticilles, le calice est tubuleux à deux lèvres et la corolle est plus ou moins exserte à deux lèvres aussi et à 4 étamines saillantes. Ils poussent de façon spontanée sur les coteaux secs et rocaillieux et dans les garrigues (Quezel et Santa, 1963).



Figure 11 : *Thymus Vulgaris* (originale;2023)

Position systématique de *Thymus vulgaris* selon (Carl Linnæus1753)

Règne : *Plantae*.

Sous-règne : *Tracheobionta*.

Division : *Magnoliophyta*.

Classe : *Magnoliopsida*.

Sous-classe : *Asteridae*.

Ordre : *Lamiales*.

Famille : *Lamiaceae*.

Genre : *Thymus*.

Espèce : *Thymus vulgaris*.

2.7. Menthe pouliot *Mentha pulegium* (Carl Linnæus 1753)

La menthe pouliot est une plante vivace aromatique, fertile. La tige est dressée, ramifiée, quadrangulaire et rougeâtre. Elle peut atteindre jusqu'à 30-40cm de hauteur. Les organes d'élaboration de l'huile essentielle de cette plante sont les cellules épidermiques des feuilles et des fleurs qui évoluent en glande sécrétrice où s'accumule l'huile.



Figure 12 : *Mentha Pulegium* (originale;2023)

Position systématique de *Mentha pulegium* selon (Carl Linnæus 1753)

Règne : *Végétal*.

Embranchement : *Spermaphytes*.

Sous-embranchement : *Angiospermes*.

Classe : *Dicotylédones*.

Sous-classe : *Dialypétaes*.

Famille : *labiées, lamiacées*.

Genre : *Mentha*.

Espèce : *Mentha pulegium*.

2.8. *Salvia Salvia verbenaca* (Carl Linnæus 1753)

Ce sont des arbustes ou des plantes herbacées, elles peuvent être annuelles bisannuelles ou vivaces selon l'espèce, calice bilabée variable, à lèvre supérieure tridentée, et à lèvre inférieure bidentée, corolle bilabée. Elle comporte 2 étamines, chacune à filet court surmonter d'un long connectif à 2 branches inégales, l'une portant une loge de l'anthère et l'autre la plus courte une écaille, ou terminée en pointe (Kabouche, A., 2008) (Quezel, P. et Santa, S., 1963)



Figure 13 : *Salvia Verbenaca* (originale; 2023)

Position systématique de *Salvia verbenaca* selon (Carl Linnæus 1753)

Règne : *Plantae*.

Division : *Magnoliophyta*.

Classe : *Magnoliopsida*.

Ordre : *Lamiales*.

Famille : *Lamiaceae*.

Genre : *Salvia*.

Espèce : *Salvia verbenaca*.

II. Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est constitué de la partie aérienne de huit plantes aromatiques ; *Menthe spicata*, *Lavandula angustifolia* Mill, *Rosmarinus officinalis*, *Juniperus phoenicea*, *Salvia verbenaca*, *Thymus vulgaris* et *Mentha pulegium*. La partie aérienne de chaque plante a été récoltée dans la région de LAGHOUAT (au village asafia, Kheneg et Ain Madhi) Sauf le *Syzygium aromaticum* qu'on a acheté chez herboriste.

1. Préparation de la poudre de plante

Le matériel végétal a été séché, conservé à l'ombre à température ambiante pendant 18-30 jours et il est stocké tel qu'il est à l'abri de la lumière et de la chaleur. Puis, les huit plantes ont été découpées et broyées à l'aide d'un mortier pour obtenir une poudre fine.



Figure 14 : La préparation de la poudre de plante (originale ; 2023).

2. Préparation des extraits

2.1. Macération à froid

Cette technique d'extraction est la plus simple qui existe mais nécessite l'utilisation d'une très grande quantité de solvant. La préparation de l'extrait méthanolique a été effectuée par la macération à froid. Où 10 g de la poudre de chaque plante ont été ajoutés à 100 ml d'un méthanol. Après une agitation vigoureuse, les macéras ont été laissés pendant 24 h puis filtrés à travers un papier Wattman N°1. Cette opération a été répétée 2-3 fois pour ressortir le maximum des molécules bioactives de chaque plante (**Bett et al., 2000 ; Author, 2021**).

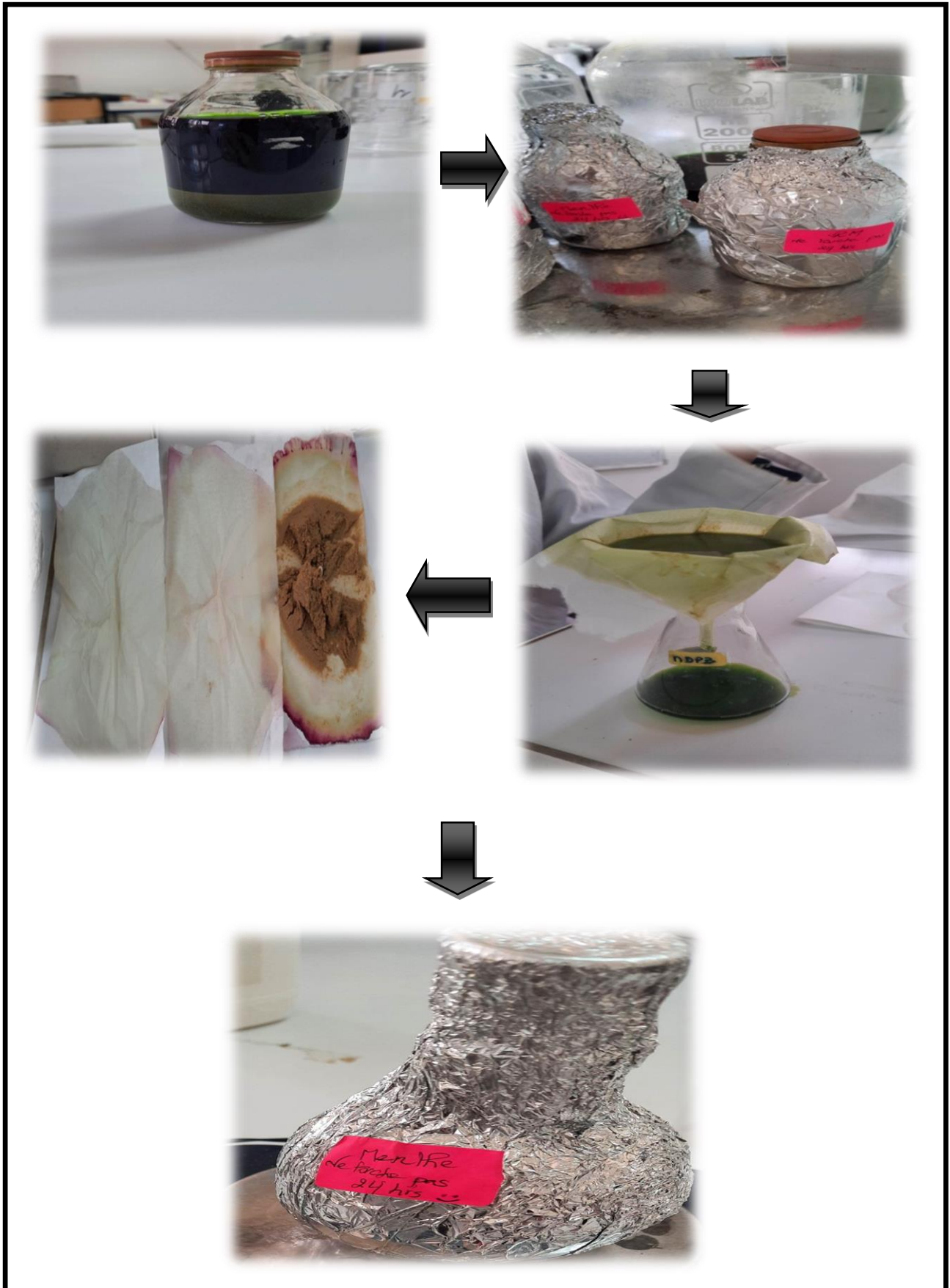


Figure 15 : Préparation des extraits par la macération (originale; 2023)

Après la filtration, Les filtrats sont mélangés et évaporés à basse température (40°C) avec un Rot à vapeur, Les extraits sont placés dans des étuves (24 heures). Le résidu est solubilisé avec DMSO et récupéré dans des tubes à essai hermétiquement fermés aluminisés (in Mbodj, 2003).

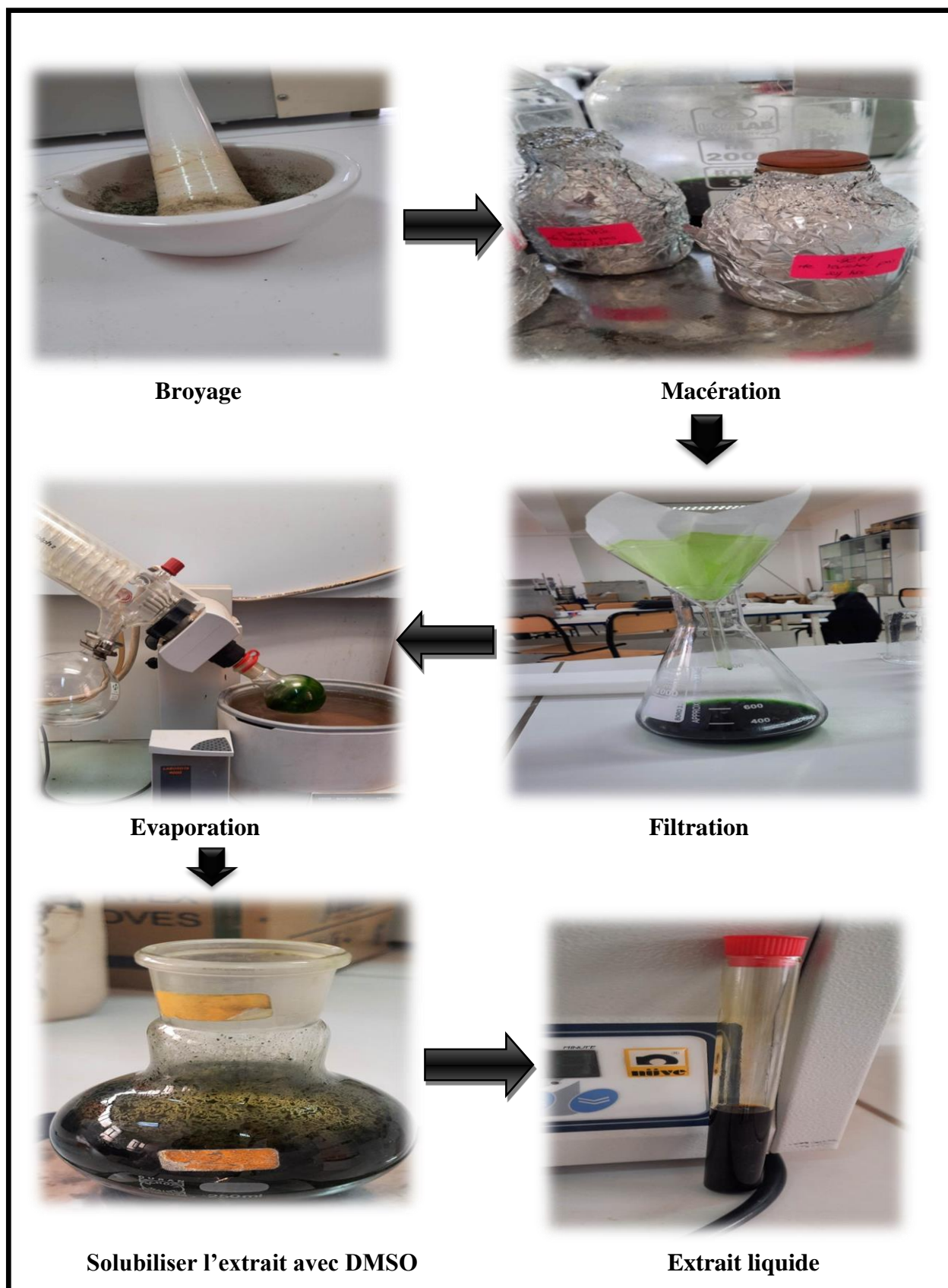


Figure 16 : Protocole expérimental d'obtention des extraits phénoliques (originale ; 2023)

2.1.1. Criblage phytochimique

Afin de mettre en évidence les différentes classes chimiques de métabolites primaires et, en particulier, secondaires présentes dans les extraits MeOH des espèces végétales étudiées, certains tests de caractérisation ont été établis. Le criblage phytochimique qualitatif réalisé est basé sur des réactions de précipitation et/ou de coloration à l'aide de réactifs spécifiques. En effet, il permet la mise en évidence la présence de quelques substances chimiques présentes dans nos extraits.

A. Métabolites primaires

A.1. Test de Biuret (protéines)

Les protéines ont été détectées selon le protocole suivant ; 5-6 gouttes de NaOH (5%) ont été additionnées à 2 ml d'extrait. Après agitation, 5-7 gouttes de CuSO₄ (2%) ont été rajoutées. L'apparition de couleur rose ou violette indique la présence des protéines (**Cherfia et al., 2017**).

B. Métabolites secondaires

B.1. Test au chlorure ferrique (composés phénoliques)

La détection des composés phénoliques a été effectuée suivant le protocole de (**N'guessan et al., 2009**). Où quelques gouttes de FeCl₃ (2%) ont été mélangées avec 2 ml de chaque extrait. L'apparition de la couleur verte bleue foncée indique la présence des polyphénols.

B.2. Tannins

1 ml d'extrait a été placé dans un tube et à l'aide d'une micropipette quelques gouttes de FeCl₃ ont été ajoutées. Puis, le mélange est agité vigoureusement. La couleur vire au bleu noir en présence de tannins galliques et au brun verdâtre en présence de tannins catéchiqes (**Qnais et al., 2007**).

B.3. Coumarines

2 ml d'extrait ont été versés dans un tube avec 3 ml de NaOH (10%). La formation de couleur jaune indique la présence des coumarines (**Békro et al., 2007**).

B.4. Anthocyanines

1 ml d'extrait a été ajouté dans un tube avec 3 ml de H₂SO₄ (10%) et 1 ml de NH₂OH (10%). La présence d'anthocyanines est confirmée par une coloration bleue violacée en milieu basique (**Aprodu et al., 2019**).

B.5. Flavonoïdes

1 ml d'extrait de chaque solution a été mélangé avec 1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à l'aide d'un vortex. L'apparition d'une couleur jaune indique la présence des flavonoïdes (Cherfia *et al.*, 2017).

III. Dosages et quantification de quelques métabolites secondaires

1. Dosage des phénols totaux

a) Principe

Le principe de ce dosage est adapté par Singleton et Ross (en 1965) avec le réactif de Folin-Ciocalteu (Giner-Chavez., 1996).

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué d'acide phosphotungestique $H_3PMo_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PW_{12}O_{40}$ qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite, dont l'absorption maximale à 760 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux.

La quantification des polyphénols totaux a été faite à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard Les résultats sont exprimés en milligramme équivalents de l'acide gallique par gramme de matière végétale sèche et en poudre (mg EAG/g MS).

b) Protocole

Un volume de 50 μ L de chaque extrait ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 500 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué) après 2 minutes plus 2 ml de carbonates de sodium Na_2CO_3 à 2% ont été ajoutées, puis les solutions ont été agitées immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc sur un spectrophotomètre UV/Visible (Shimadzu).

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique à différentes concentrations (10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 50 ; 60 ; 70 ; 80 ; 90 ; 100) μ L et exprimée en milligrammes par cent gramme de la matière sèche équivalent en acide gallique.

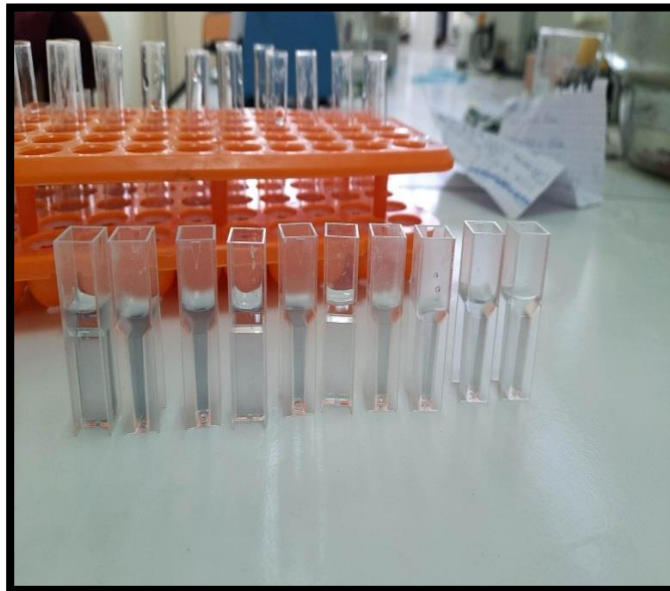


Figure 17 : Préparation de standard de phénols totaux (originale ; 2023)

2. Dosage des flavonoïdes

a) Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par **Lamaison et Carnat (1991)** en utilisant le trichlorure d'aluminium comme réactif (**Quettier-Deleu, 2000**). Le trichlorure d'aluminium forme un complexe acide stable avec le groupement carbonyle C4 et aussi les groupements hydroxyles C-3 et C-5 des flavones et flavonols, en plus il forme des complexes acides labiles avec les groupements dihydroxyles en ortho du cycle A ou B des flavonoïdes (**Mabry et al., 1970**), ce complexe est de coloration jaune absorbe fortement à une longueur d'onde de 430 nm. Le flavonol standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage est la quercétine.

b) Protocole

À partir d'une solution étalon méthanolique de la quercétine, une gamme des solutions diluées à différentes concentrations (20 ; 60 ; 100 ; 140 ; 180 ; 220) μL a été préparée en milieu aqueux pour établir la courbe d'étalonnage. 1000 μL de chaque solution diluée ou de l'extrait végétal dilué est mélangé avec 1ml de l' AlCl_3 , ces solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 20 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre de (Shimadzu) à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc (ce qui nous permet de tracer la courbe d'étalonnage de la quercétine et de doser les flavones dans les extraits végétaux).



Figure 18 : Dosage des flavonoïdes (originale; 2023)

3. Dosage des tanins

a. Principe

Ce test est basé sur la condensation des composés polyphénoliques avec la vanilline en milieu acide, il est spécifique des flavones3-ols. Les tanins totaux sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide. Ce test est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins en présence d'acide pour produire un complexe coloré qui absorbe à 500 nm (**Price et al., 1978**). La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère.

b. Protocole

D'abord on prépare le réactif de vanilline (8% d'HCl à 37% et 1% de vanilline préparés dans le méthanol) sont maintenus à 30°C avant le dosage. Ensuite on prend 200 µL d'extrait et mélangé avec 1 ml d'un mélange vanilline/acide chlorhydrique (1%/8%; V/V) dans tube à essais, les tubes sont placés dans un bain marie à 40°C pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 500 nm par spectrophotomètre contre un blanc. La catéchine est utilisée comme standard.

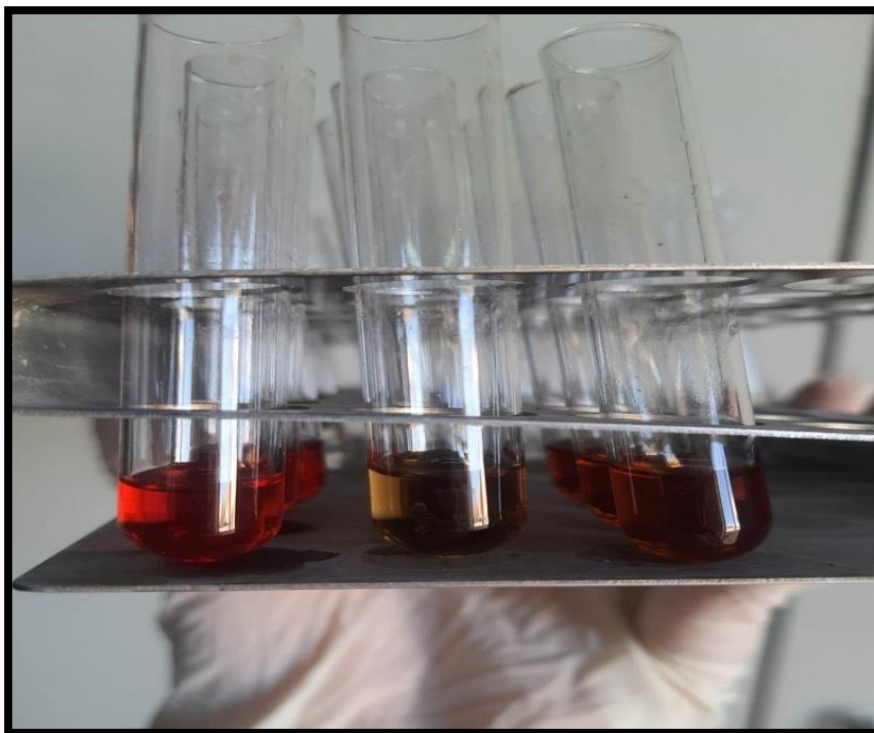


Figure 19 : Dosage des tanins (originale; 2023)

4. Rendement d'extraction :

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse des extraits obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter (**Muanda, 2010 ; Mayouf, 2019**).

Le pourcentage du rendement pour chaque extrait a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rd (\%)} = m / M \times 100 \text{ (**Muanda, 2010**)}.$$

Rd% : Rendement exprimé en %.

m : Masse en gramme de l'extrait sec (g).

M : Masse sèche initiale en gramme du matériel végétal testé (g).

IV. Les huiles essentielles

1. Préparation des échantillons

Les échantillons (feuilles, racines, tiges,) sont rincées et séchées dans un endroit sec, aérées à l'abri de la lumière pendant deux semaines.

2. Préparation des huiles essentielles

Les HEs ont été préparées par hydrodistillation, en utilisant un appareil de type Clevenger (Meyer-Warnod, 1984), dans un ballon de 5 litres contenant 2 litres d'eau distillée et 100 g de la matière végétale, surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur et 2 cm de diamètre reliée à un réfrigérant. Les extractions ont été répétées trois fois pour chaque HE afin de récupérer des volumes considérables. Après l'élimination des traces d'eau par du sulfate de sodium anhydre, les HEs obtenues ont été stockées dans des petits flacons opaques et mises dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'à leurs utilisations.

- 1- Sortie de l'eau
- 2- Réfrigérant
- 3- Entrée de l'eau
- 4- Distillat (eau + huile essentielle)
- 5- Colonne en verre
- 6- Support de fixation
- 7- Ballon à fond rond
- 8- Chauffe ballon

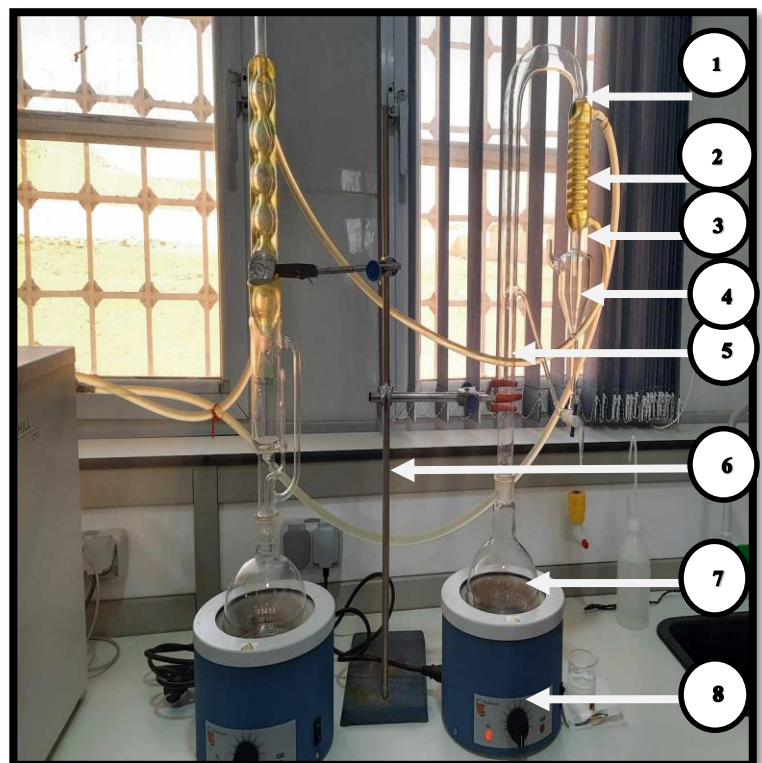


Figure 20 : Clevenger (originale;2023)

3. Rendement en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles, est exprimé par le volume de l'huile essentielle obtenue en millilitre par rapport à 100 g de la matière sèche.

Le rendement en huile essentielle est donné par l'équation suivante (Sahraoui et al., 2016):

$$\text{RHE (\%)} = (\text{MHE / MS}) * 100$$

RHE : rendement en huile essentielle (%)

MHE : masse d'huile essentielle (g).

MS : masse sèche de matière végétale (g).

V. Analyse

Afin d'obtenir une description statistique de notre échantillonnage et de pouvoir mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique, nous avons eu recours à deux tests les plus courants de la statistique descriptive multidimensionnelle englobant une analyse ascendante hiérarchique (CHA), une analyse factorielle des correspondances (AFC).

CHAPITRE III
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

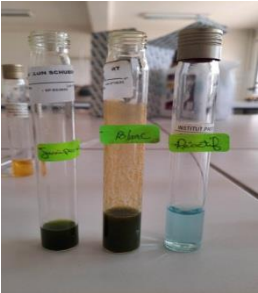
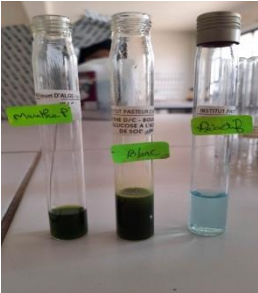
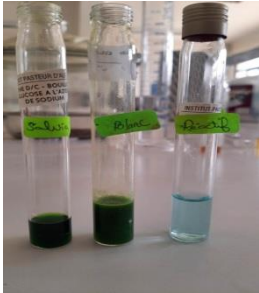
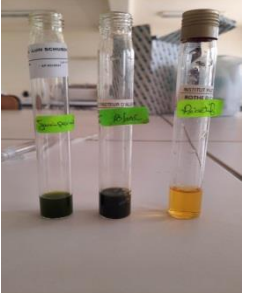

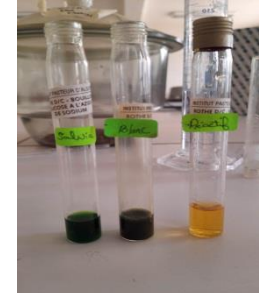
I. Résultats et discussion

1. Criblage phytochimique

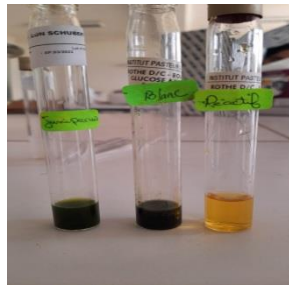
L'étude de la composition phytochimique des huit plantes ; *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* Mill, *Rosmarinus officinalis*, *Juniperus phoenicea*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris*, *Syzygium aromaticum* et *Salvia verbenaca* ont été réalisées. Où, la détection des métabolites primaires et secondaires a été complétée à l'aide de tests spécifiques pour chaque groupe chimique.

Les résultats étaient parfois confirmés à l'aide de normes et complétés par un changement de couleur. Tous les résultats obtenus à partir des tests phytochimiques sont représentés dans le tableau 3.

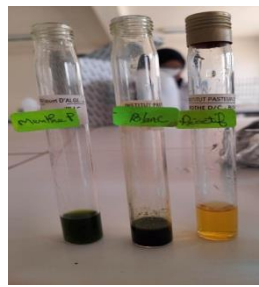
Tableau 3: Criblage phytochimique des plantes étudiées.

	<i>Juniperus phoenicea</i>	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Salvia verbenaca</i>
Protéines			
polyphénols			

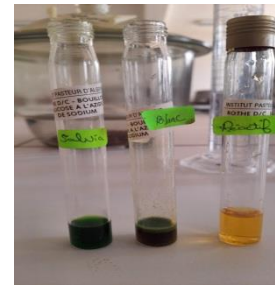
Tannins



tannins catechique ++

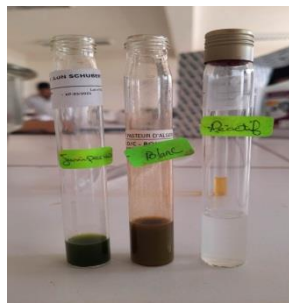


tannin gallique +

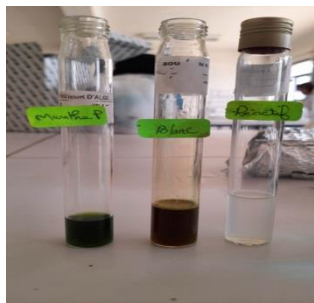


tannin catechique +

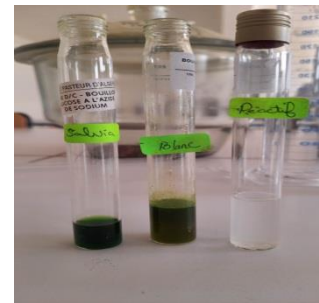
Coumarines



++



++



-

Flavonoïdes



+++

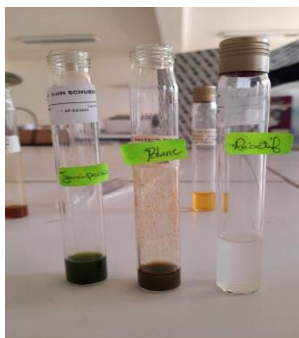


++

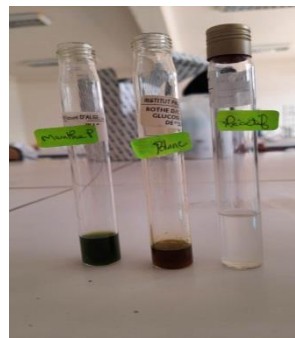


-

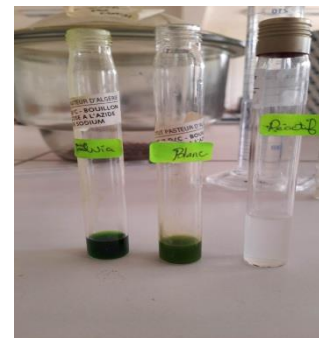
Anthocyanines



-



-



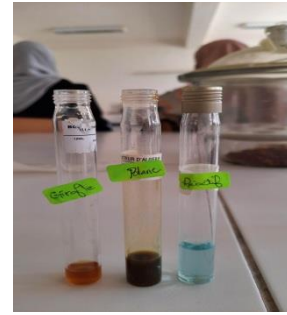
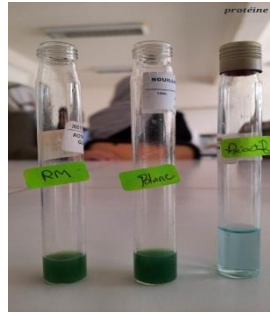
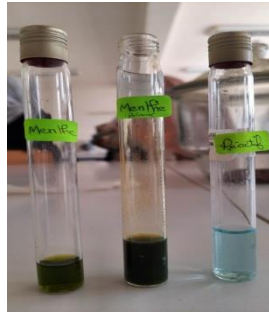
-

Mentha spicata

Rosmarinus officinalis

Syzgium aromaticum

Protéines

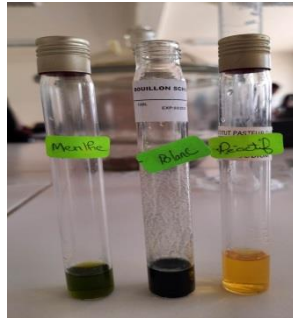


-

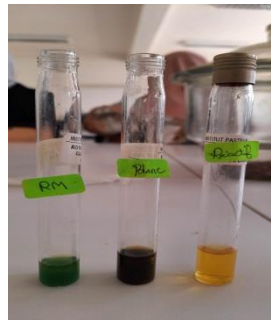
-

-

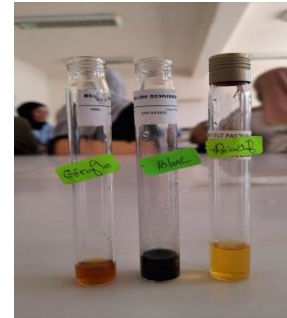
polyphénols



+++

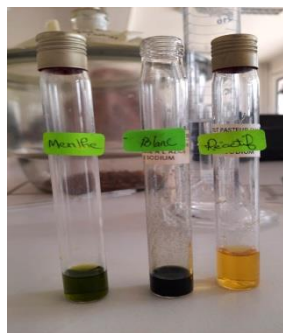


+

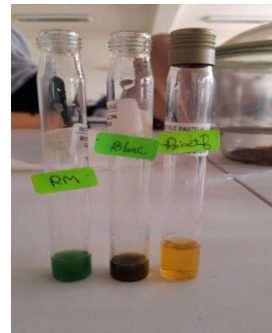


+++

Tannins



+++ (tanin gallique)

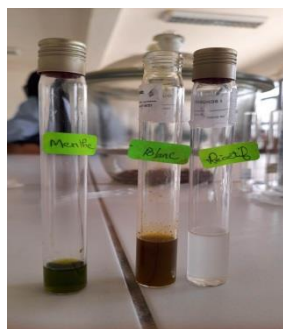


+++ (tanin catéchuque)



+++ (tanin gallique)

Coumarines



+++



+

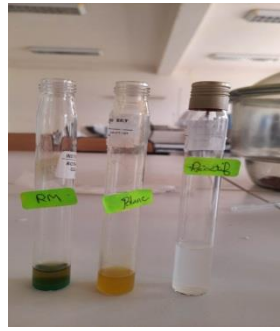


-

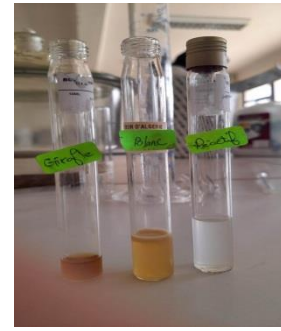
Flavonoïdes



+++

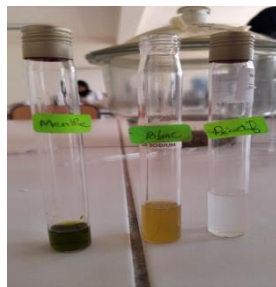


+

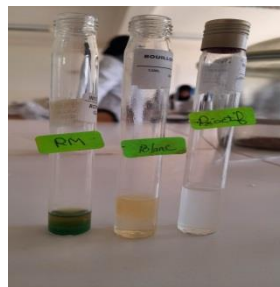


+

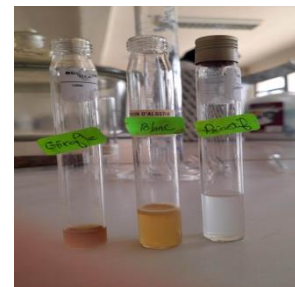
Anthocyanines



-



-



-

Lavandula angustifolia Mill

Thymus vulgaris

Protéines



-

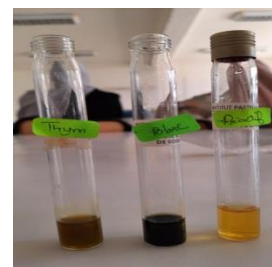


-

polyphénols

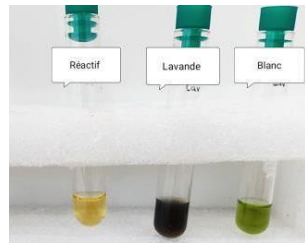


+++

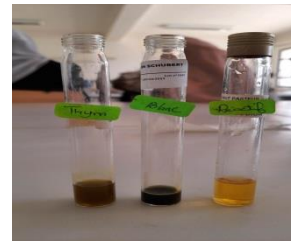


+++

Tannins



+++

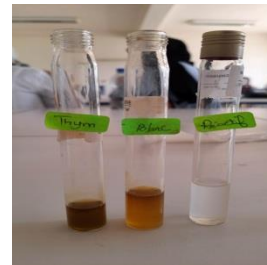


-

Coumarines



+

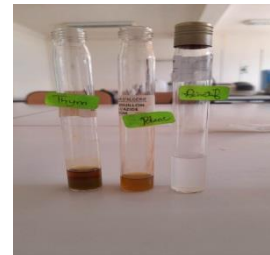


++

Flavonoïdes

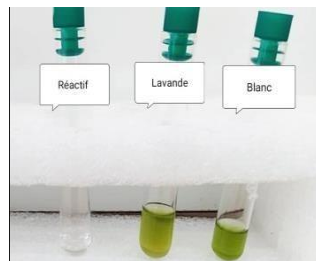


+



++

Anthocyanines



-



-

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif.

Les résultats du criblage phytochimique présentés dans le tableau 3 montrent la présence de différents groupes de métabolites secondaires dans les plantes étudiées tels que les polyphénols, les tannins, les coumarines, et les flavonoïdes.

En effet, les polyphénols et les tannins sont les composés les plus abondants dans les plantes ; ils sont présents en grandes quantités. En revanche ; les protéines et les anthocyanines, étaient absents dans les huit plantes.

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous avons noté que la *mentha spicata*, *Syzgium aromaticum*, *Lavandula angustifolia Mill* et *Thymus vulgaris* sont très riche en polyphénols.

Les flavonoïdes, dont leur présence est confirmé par l'apparition de la couleur jaune foncé en quantité importante dans *Mentha spicata* et *Juniperus phoenicea* et elles sont moyennement positif dans *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris*, et absolument négatif dans *Salvia verbenaca*.

Pour le test des tannins, le virage de la couleur au bleu noir, ce que signifie la forte existence des tannins galliques dans *Mentha spicata*, *Syzgium aromaticum* et *Mentha pulegium* et pour les tannins catéchiques sont indiqués par l'apparition d'un précipité brun verdâtre en forte présence dans *Rosmarinus officinalis*, *Salvia verbenaca*, et *Juniperus phoenicea*.

De même nous avons enregistré une présence importante des coumarines dans l'extrait méthanolique des plantes étudiées.

Cette variation des résultats du criblage phytochimique dans les travaux précédents est due à plusieurs facteurs en l'occurrence ; la période de récolte, la région, la partie de la plante utilisée et même le solvant d'extraction (**Whitehead et al., 2022**).

Nos résultats confirment l'étude réalisée par (**Jebali et al., 2021**) sur *M. Pulegium* et par (**Slimani et al., 2022**) sur *L. angustifolia Mill* qu'ont également révélé la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins. En plus **Dobros et al.,(2022)** ont montré la présence de coumarines dans *L. angustifolia Mill*.

En outre, nos résultats sont corroborés avec ceux de (**Harouak et al., (2022)**) qui ont pareillement enregistrés la détection des coumarines et l'absence des anthocyanines dans *M. pulegium*.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par (**Medini et al.,2013**) qui ont signalé la présence des tanins, flavonoïdes dans l'extrait méthanolique des feuilles de *J. phoenicea*.

Nos résultats se ressemblent avec les travaux de **Iserin (2001)**, (**Gonzalez-Trujano et al.,2007**), (**Roux et al.,2007**) et (**El-Sakka et al., 2010**) sur l'extrait de *Rosmarinus officinalis*.

Le screening chimique de clou de girofle de notre travail est similaire avec l'étude de Benzeggouta en 2015 qui doté la présence de tanins, et l'absence d'Anthocyanes.

Pour l'extrait de *Thymus vulgaris* a révélé la présence d'importants métabolites secondaires tels que les flavonoïdes. Ces résultats sont similaires avec ceux d'**Ismaili et al., 2001**.

Notre travail de *Mentha spicata* est corroboré avec l'analyse phytochimique de l'étude de (**KHIARI, 2017**) qui a signalé la présence de flavonoïde et tanin.

2. Rendement d'extraction

Les résultats obtenus après l'extraction à partir des plantes : *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* Mill, *Rosmarinus officinalis*, *Juniperus phoenicea*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris*, *Syzygium aromaticum* et *Salvia verbenaca* sont indiqués dans le tableau 4.

Tableau 4: Rendements des extraits méthanoliques.

Plantes	Rd%
<i>Mentha spicata</i>	13,2
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill	16,76
<i>Rosmarinus officinalis</i>	19,52
<i>Juniperus phoenicea</i>	20,11
<i>Thymus vulgaris</i>	10,09
<i>Syzygium aromaticum</i>	6.74
<i>Mentha pulegium</i>	6,69
<i>Salvia verbenaca</i>	8.72

Nos résultats montrent une variation plus ou moins importante du rendement d'un extrait à un autre et d'une plante à une autre.

Les trois extraits ; de *Juniperus phoenicea*, *Rosmarinus officinalis* et *Lavandula angustifolia* Mill ont révélés des Rd% plus élevés (20,11 ; 19.52 et 16.76%, consécutivement)

En revanche, l'extrait de *Mentha pulegium* a possédé le Rd% le moins élevé avec une valeur de 6,69 %

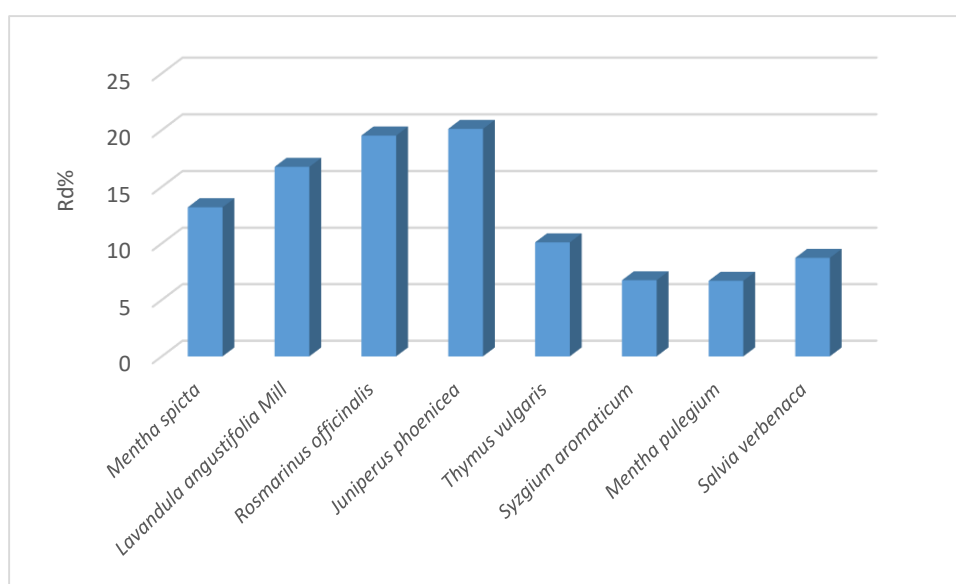


Figure 21 : Rendements des plantes aromatiques étudiées (%).

Jebali et *al.*, (2021) ont signalé que le rendement de l'extrait de *Mentha pulegium* est égale à 22% est supérieur à ce que nous avons trouvé.

Selon la documentation la plus récente de (**Slimani et al., 2022**), qui ont mené une étude sur l'extrait de *L. angustifolia Mill* où ils ont trouvé que le rendement de l'extrait aqueux était plus important (21,68 %) par rapport à celui obtenu dans notre recherche (16.76 %). Cette distinction expliquée par la différence des solvants utilisés, la quantité de l'espèce végétale et l'origine géographique de la plante (**Smallfield, 2001**).

Ben latreche et Ait kaci (2020) ont fait une étude sur l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Thymus vulgaris*, qui ont enregistré le rendement d'extraction égale à 5%. Ce résultat est inférieur à celle quand a trouvé.

L'extraction méthanolique a donné un rendement de 19,52 % pour *Rosmarinus officinalis*.

Ce résultat est supérieure à celle publiée précédemment par (**Mosbah et Fattoum, 2014**) qui ont mené une étude sur l'activité antibactérienne de deux plantes médicinales *Rosmarinus officinalis* et *Cinnamomum zeylanicum*, où elles ont trouvé un rendement de 6,072%.

3. Résultats de la quantification des composés phénoliques

a. Dosage de polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux de chaque extrait de plante est évaluée par la méthode de Folin Ciocalteu, dont l'acide gallique est utilisé comme un standard.

Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent en acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS). On se référant sur l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (figure22).

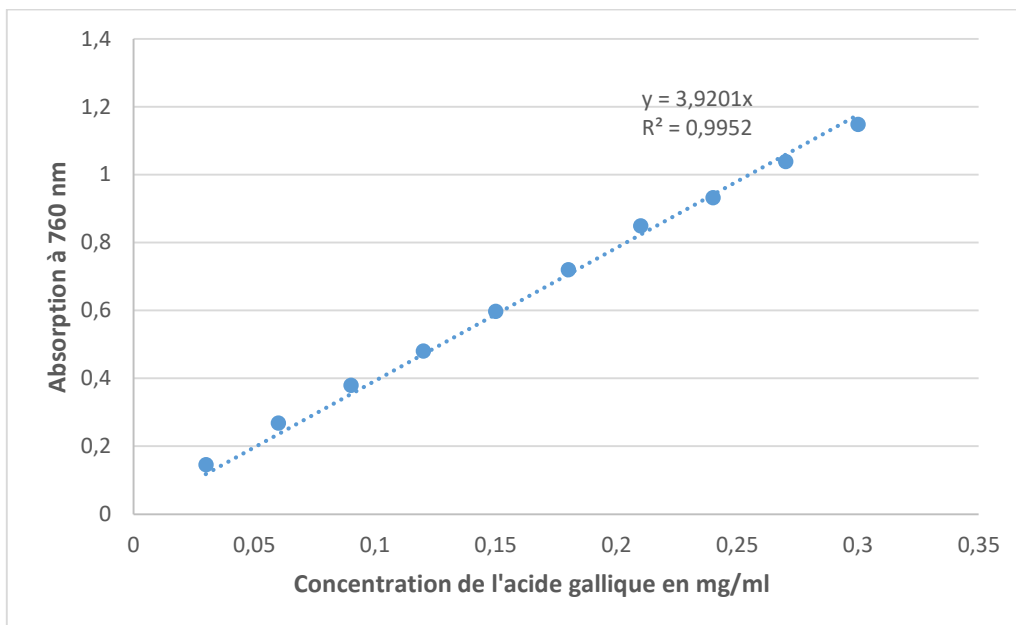


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

b. Dosage des flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes de l'extrait méthanolique a été déterminée par la méthode au chlorure d'aluminium basée sur la courbe standard de la quercétine.

Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en mg équivalent quercétine par g de matière sèche, (mg EQ/g MS). On se référant sur l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine (figure23).

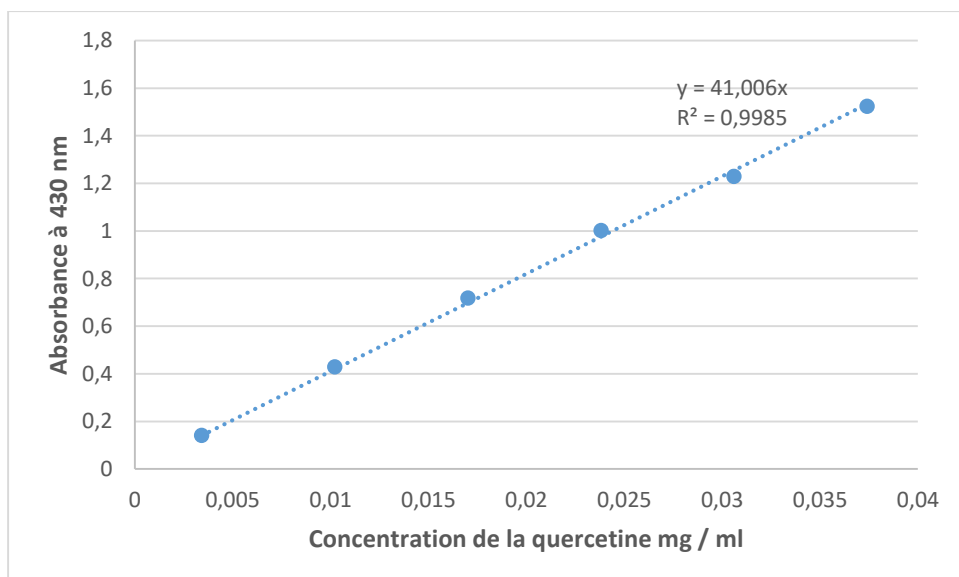


Figure 23: Courbe d'étalonnage de quercétine

c. Dosage des tanins

Le dosage des tanins condensés a été réalisé selon la méthode de vanilline, la catéchine a été utilisé comme étalon. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (figure 24). La quantité des tanins condensés a été rapportée en milligramme d'équivalent de la catéchine par gramme de matière sèche (mg ECT/g MS)

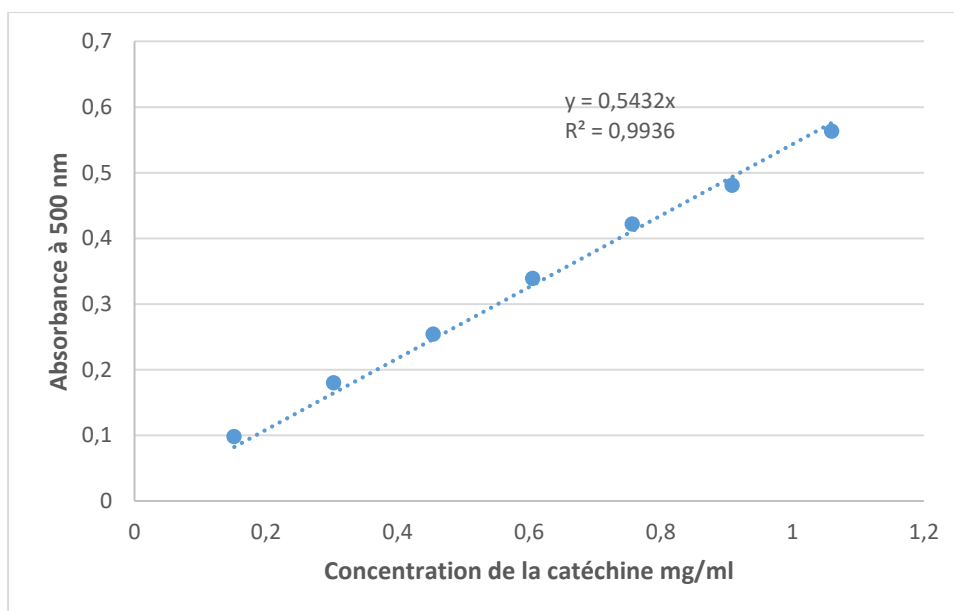


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

4. Teneurs en composés phénoliques

Les résultats du dosage sont représentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Teneurs en composés phénoliques des plantes étudiées.

<i>Extraits</i>	<i>Polyphénols totaux</i> (mg EAG/g MS)	<i>Flavonoïdes totaux</i> (mg EQ/g MS)	<i>Tanins (mg ECT/g MS)</i>
<i>Rosmarinus officinalis</i>	4,330±0,333	0,380±0,029	1,592±0,129
<i>Lavandula angustifolia</i>	4,462±0,124	1,624±0,023	
<i>Mill</i>			0,208±0,031
<i>Mentha spicata</i>	0,959±0,132	0,438±0,018	0,428±0,183
<i>Syzygium aromaticum</i>	7,098±0,446	1,745±0,121	3,262±0,388
<i>Thymus vulgaris</i>	4,584±0,126	2,658±0,319	1,569±0,107
<i>Salvia verbenaca</i>	4,230±0,331	2,934±0,132	1,966±0,332
<i>Mentha pulegium</i>	4,634±0,076	1,922±0,089	2,641±0,877
<i>Juniperus phoenicea</i>	3,354±0,051	1,859±0,160	1,162±0,228

D'après l'ensemble de résultats obtenus lors de la quantification des phénols totaux, on peut constater que les teneurs de ces composés varient entre $0,959\pm 0,132$ et $7,098\pm 0,446$ mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche.

La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait de *Syzygium aromaticum* avec un taux de $7,098\pm 0,446$ mg EAG/g MS, par rapport aux extraits *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia* Mill, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia verbenaca* et *Juniperus phoenicea*, où nous enregistrons des teneurs de l'ordre de $4,634\pm 0,076$, $4,584\pm 0,126$, $4,462\pm 0,124$, $4,330\pm 0,333$, $4,230\pm 0,331$, $3,354\pm 0,051$) mg EAG/g MS) respectivement. En revanche la teneur la plus faible a été enregistrée par l'extrait de *Mentha spicata* avec une valeur égale $0,959\pm 0,132$ mg EAG/g MS.

Généralement on peut noter ici que toutes les plantes ciblées présentent une quantité importante en phénols totaux quelle que soit la famille de la plante. Egalement on peut

Confirmer que presque toutes les plantes ciblées notamment *Syzygium aromaticum* constitue une source prometteuse en polyphénols.

Pour *Salvia verbenaca*, la teneur en polyphénol est de $4,230\pm 0,331$ (mg EAG/g MS). Ce résultat est légèrement inférieur à ceux observés par **(Ben Farhat et al., 2015)** qui ont enregistré une teneur de 58,36 mg EAG/g MS.

Les résultats présentés dans le Tableau montrent que les teneurs en flavonoïdes totaux varient considérablement entre les différents extraits. *Salvia verbenaca* et *Thymus vulgaris* enregistrent un maximum de flavonoïdes ($2,934\pm 0,132$ et $2,658\pm 0,319$ mg d'équivalent de quercétine par g de matière sèche) respectivement suivi par les extraits *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, *Syzygium aromaticum* et *Lavandula angustifolia* Mill qui renferment des teneurs plus faibles ($1,922\pm 0,089$, $1,859\pm 0,160$, $1,745\pm 0,121$, $1,624\pm 0,023$ mg EQ/g MS) respectivement. Tandis que la plus basse concentration des flavonoïdes a été mesurée dans *Mentha spicata* et *Rosmarinus officinalis* ($0,438\pm 0,018$, $0,380\pm 0,029$ mg EQ/g MS) respectivement.

Les résultats de l'étude de la teneur en flavonoïde *Rosmarinus officinalis*, montrent que la valeur moyenne égale à $0,380\pm 0,029$ mg EQ/g MS est plus élevée que l'étude réalisée par **(Tsai et al., 2007)** où ils ont trouvé 0.06 mg EQ/g MS.

Eghdami A., et al., (2013), ont fait une étude sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Thymus vulgaris*, ils ont enregistré que la quantité des flavonoïdes est estimée de 4.303 mg EQ/g MS est supérieur à ce que nous avons trouvé.

Nos résultats de la valeur moyenne de teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux de *L. angustifolia* Mill $4,462 \pm 0,124$ mg EAG/g MS, $1,624 \pm 0,023$ mg EQ/g MS respectivement est supérieure à celle publiée précédemment par (**Chenih et Houache, 2021**) où ils ont trouvé la valeur moyenne de la teneur en polyphénols $0,078$ mg EAG/g MS et de $0,001$ mg EQ/g MS chez la teneur en flavonoïde.

Selon la documentation la plus récente de (**Yakoubi et al., 2021**) qui a mené une étude sur l'espèce de *M. pulegium*, où ils ont signalé que les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux ($0,205$ mg EAG/g MS et $0,155$ mg EQ/g MS; respectivement) sont inférieurs à celle quand a trouvé.

Pour l'extrait de *Syzygium aromaticum*, les résultats de teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux $7,098 \pm 0,446$ mg EAG/g MS et $1,745 \pm 0,121$ mg EQ/g MS respectivement.

Ils sont inférieurs que ceux trouvés dans une étude récente par (**Medfouni et al., 2018**) sur l'étude phytochimique et les activités biologiques d'une plante médicinale *Syzygium aromaticum* qui montre que la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique 75.17 mg EAG /g MS et 39.04 mg EQ/g MS respectivement.

Pour la teneur en tanin, les valeurs les plus élevées sont observées avec les extraits *Syzygium aromaticum* ($3,262 \pm 0,388$ mg ECT/g MS) et de *Mentha pulegium* ($2.641 \pm 0,877$ mg ECT/g MS). Tandis que les valeurs les plus faibles ont été remarquées dans les extraits de *Mentha spicata* ($0,428 \pm 0,183$ mg ECT/g MS), et *Lavandula angustifolia* Mill ($0,208 \pm 0,031$ mg ECT/g MS).

5. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

Nous avons procédé à la classification hiérarchique des plantes afin de pouvoir la quantification des polyphénols totaux, tanins et les flavonoïdes. Pour rassembler les plantes étudiées selon leurs composés phénoliques qui s'exprimera sous la forme d'une matrice de distances. On a utilisé la fonction CAH (**Lê et al., 2008 ; Vaissie et al., 2017**).

La figure 25 représente un dendrogramme avec une coupure en deux classes des plantes étudiées.

Le dendrogramme de la composition phénolique de huit plantes est illustré dans la figure ci-dessous. Les distances observées sur le dendrogramme, montrent la présence de deux classes ; la première regroupe les espèces *Syzygium aromaticum*, *Mentha pulegium*, et *Rosmarinus officinalis*, tandis que la deuxième comprend deux sous-groupes, la première regroupe les espèces *Mentha*

spicata, *Salvia verbenaca*, et *Juniperus phoenicea* et la deuxième comprend les espèces *Thymus vulgaris* et *Lavandula angustifolia* Mill.

L'analyse de nos résultats (figure 25) indique une forte proportion de partage des composés phénoliques entre les espèces étudiées.

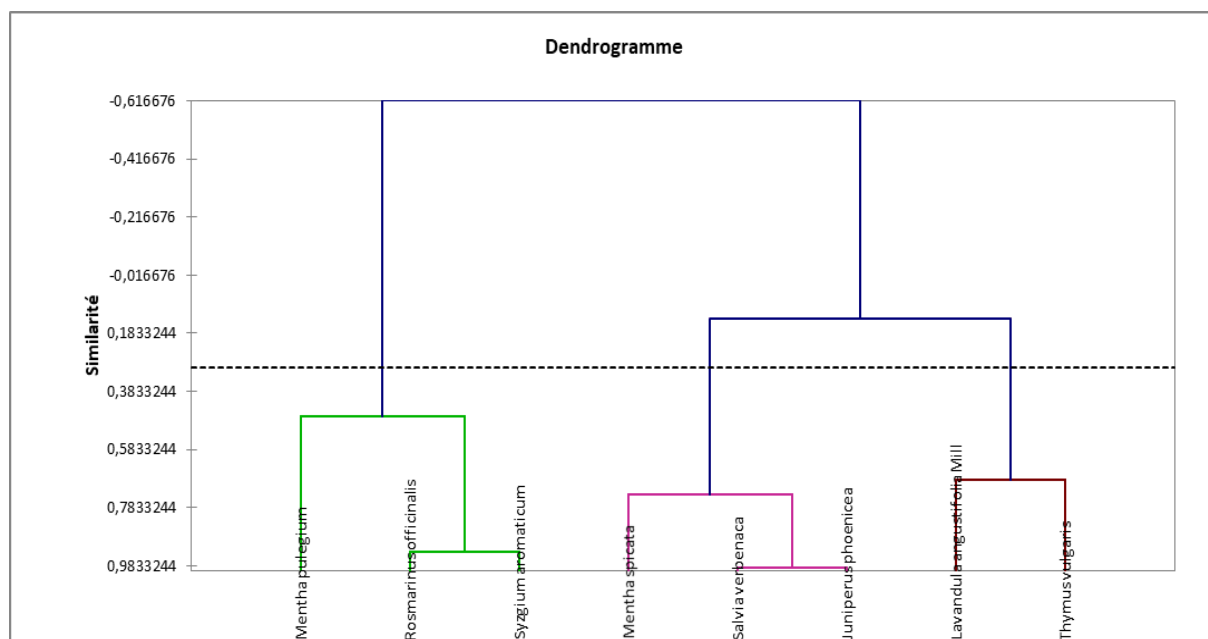


Figure 25 : Classification Ascendante Hiérarchique (CAH).

6. L'analyse factorielle des correspondances (AFC)

D'après la figure une corrélation entre *Rosmarinus officinalis* et les polyphénols aussi entre *Mentha pulegium* et la teneur en tanins.

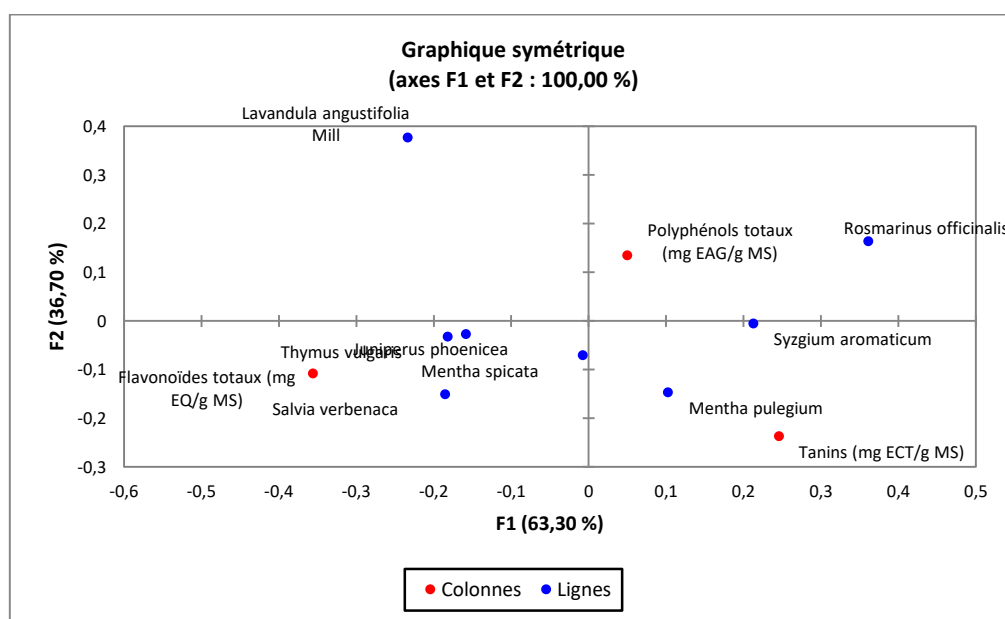


Figure 26 : L'analyse factorielle des correspondances (AFC).

7. Résultat d'extraction des huiles essentielles

Dans cette technique le critère de détection de la présence d'huile essentielle dans les feuilles de la plante est le changement de la couleur dans l'extrait ainsi que l'odeur piquante (Figure 27).

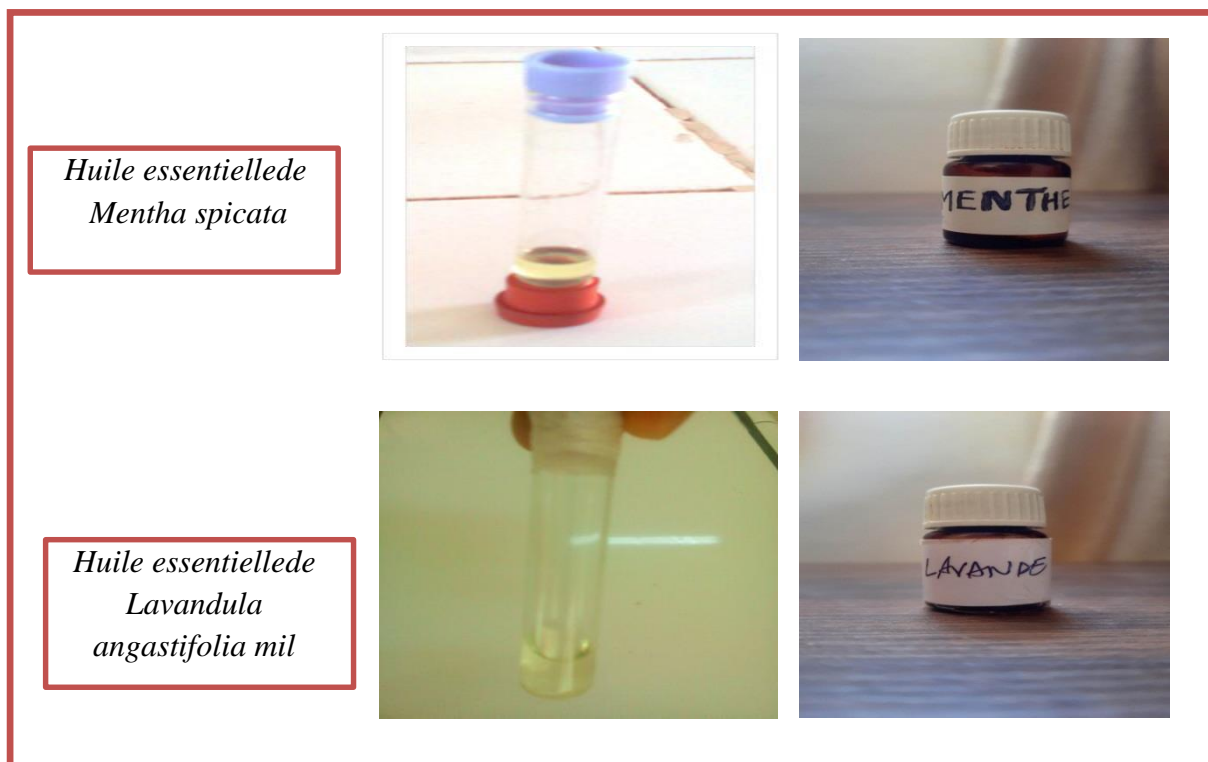


Figure 27: Huiles essentielles des deux plantes (original 2023).

a. Caractères organoleptiques

Les huiles essentielles renferment plusieurs composés : les phénols, les cétones et les hydrocarbures terpéniques qui leur confèrent divers caractères. Parmi eux ceux qui font impression sur les organes de sens, plus particulièrement sur le goût, l'odorat et la couleur : ils ont été groupés sous la qualification d'organoleptiques. Nous avons donc noté l'aspect, l'odeur et la couleur des huiles essentielles de la menthe et lavande, les constatations sont récapitulées dans le tableau 6.

Tableau 6: Propriétés organoleptiques des deux plantes.

	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Mentha spicata</i>	Liquide très fluide.	Incolore à jaune verdâtre pâle.	Herbacée, fraîche, carvonée, puissante
<i>Lavandula angustifolia Mill</i>	Liquide limpide mobile	jaune pâle	intense, herbacée.

b. Rendement en huiles essentielles

Les résultats d'extraction en huiles essentielles de deux plantes : *Mentha spicata* et *Lavandula angustifolia* Mill sont illustrés dans le tableau 7.

Tableau 7: Rendement en HEs de deux plantes.

Plantes	Rd%
<i>Mentha spicata</i>	0.01262
<i>Lavandula angustifolia</i> Mill	0.02096

Les rendements en huiles essentielles obtenus par rapport à la matière sèche sont différents entre les deux plantes étudiées. Le rendement le plus élevé est enregistré pour *Lavandula angustifolia* Mill (0.02096%), tandis que celui du *Mentha spicata* est inférieur (0.01262%).

Selon la documentation la plus récente de (KHIARI, 2017) qui a mené une étude sur l'effet de *Mentha* et *Pistacia* sur la toxicité du Nickel, où il a signalé que le rendement de *M. spicata* en huile est égal à 2.16 % plus haut de ceux quand a trouvé.

Les résultats obtenus par (Sidi Boulenouar et Ziane., 2003) qui indiquent que la lavande provenant de la région d'Ouchba et Zarifet ont donné des teneurs en huile essentielle respectivement à 0.94% et à 0.70% sont supérieurs de celle quand a trouvé.

c. Activité larvicide

L'extrait méthanolique des espèces : *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* Mill, *Rosmarinus officinalis*, *Juniperus phoenicea*, *Mentha pulegium*, *Thymus vulgaris*, *Syzygium aromaticum* et *Salvia verbenaca* a été testé contre les larves de *Culex pipiens*. Cette étude est basée sur la mesure de l'espèce morte.

Rosmarinus officinalis

Le nuage de point de la relation entre la concentration de l'extrait phénolique de *Rosmarinus officinalis* et la mortalité des larves de *Culex pipiens* fait ressortir de l'existence d'une corrélation positive entre la mortalité et la concentration d'où la valeur de r est égale à 0.908 et $p < 0,000$; c'est-à-dire les deux paramètres évolues en même rythme.

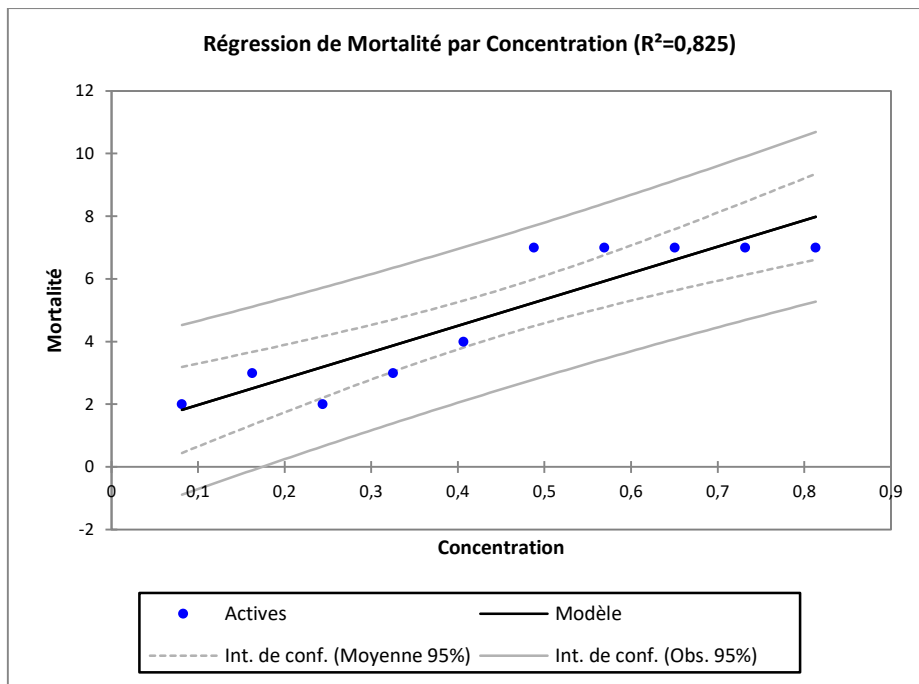


Figure 28: Relation concentration-mortalité chez le *Rosmarinus officinalis*.

Mentha spicata

Le résultat de la relation entre la concentration de l'extrait phénolique de *mentha spicata* et la mortalité montre que toutes les larves meurent à toutes les concentrations.

Juniperus phoenicea

Les résultats de l'étude statistiques de l'évolution de la mortalité en fonction de concentration de *Juniperus phoenicea* fait apparaître l'existence d'une corrélation hautement significative ($p < 0,0001$) entre la mortalité observée de *Culex pipiens* et les doses du l'extrait, avec $r=0.952$, c'est-à-dire, quand devient plus en plus concentré, sa mortalité augmente aussi.

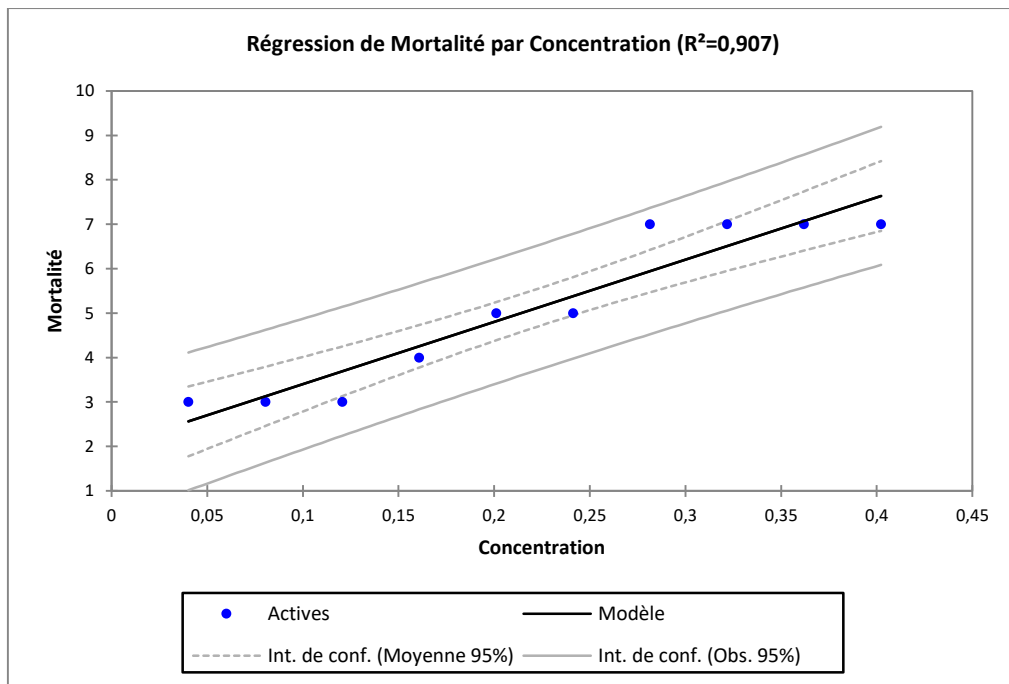


Figure 29 : Relation concentration-mortalité chez le *Juniperus phoenicea*.

Mentha pulegium

Le résultat de la relation entre la concentration de l'extrait phénolique de *mentha pulegium* et la mortalité montre que toutes les larves meurent à toutes les concentrations.

Salvia verbenaca

Le nuage de point de la relation entre la concentration de l'extrait phénolique de *Salvia verbenaca* et la mortalité des larves de *Culex pipiens* fait ressortir de l'existence d'une corrélation positive entre la mortalité et la concentration d'où la valeur de r est égale à 0.927 et $p < 0,0001$; c'est-à-dire les deux paramètres évolues en même rythme.

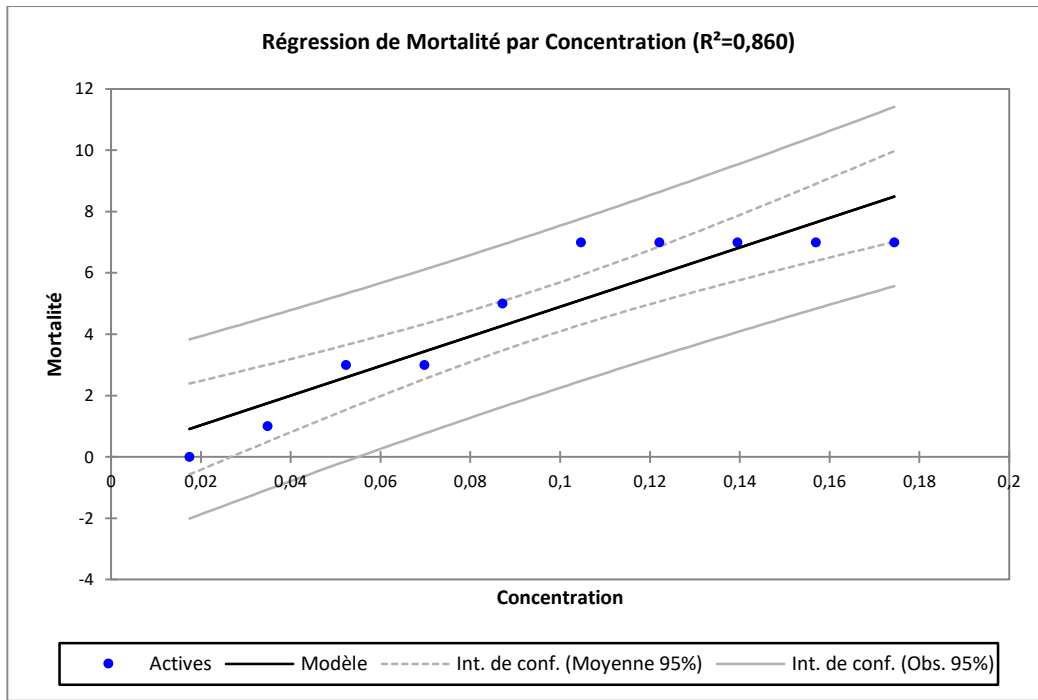


Figure 30: Relation concentration-mortalité chez *Salvia verbenaca*.

Lavandula angustifolia Mill

Les résultats de l'étude statistiques de l'évolution de la mortalité en fonction de concentration de *Lavandula angustifolia* Mill fait apparaître l'existence d'une corrélation hautement significative ($p < 0,0001$) entre la mortalité observée de *Culex pipiens* et les doses de l'extrait, avec $r=0,991$, c'est-à-dire, quand devient plus en plus concentré, sa mortalité augmente aussi.

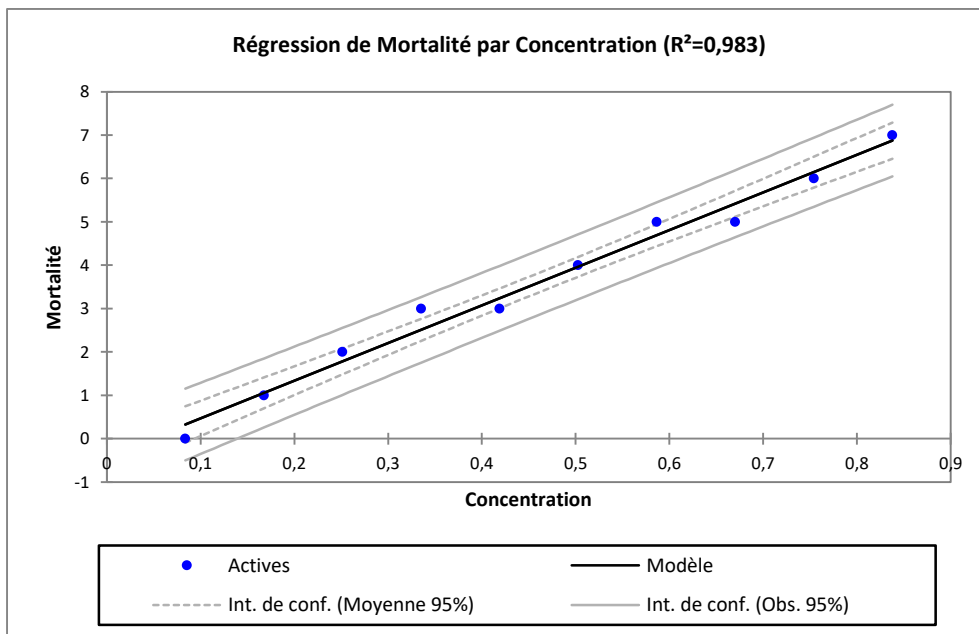


Figure 31: Relation concentration-mortalité chez *Lavandula angustifolia* Mill.

Thymus Vulgaris

Le résultat de la relation entre la concentration de l'extrait phénolique de *Thymus Vulgaris* sur la mortalité observée des individus de *Culex pipiens*, montre que les pourcentages des mortalités observées à une valeur de 100 % avec toutes les doses utilisées.

Syzgium Aromaticum

L'action de différentes doses croissantes de l'extrait de *Syzgium Aromaticum* sur la mortalité observée des larves de *Culex pipiens* montre que l'extrait présente une mortalité de l'ordre de 100 % avec toutes les doses utilisées.

CONCLUSION

Ce travail consiste portera sur l'évaluation des activités larvicides des extraits de huit plantes aromatiques en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction.

Le dosage des principaux constituants phytochimiques tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins montrent que la plante *Syzygium aromaticum* est la plus riche en polyphénols et tanins. De plus, la plante *Salvia verbenaca* et *Thymus vulgaris* possède la teneur la plus élevée en flavonoïdes.

L'ensemble de résultats obtenus lors de la quantification des phénols totaux, montre que les teneurs de ces composés varient entre $0,959 \pm 0,132$ et $7,098 \pm 0,446$ mg.

La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait de *Syzygium aromaticum*.

Nos résultats montrent une variation plus ou moins importante du rendement d'un extrait à un autre et d'une plante à une autre.

Les trois extraits ; de *Juniperus phoenicea*, *Rosmarinus officinalis* et *Lavandula angustifolia mill* ont révélés des Rd% plus élevés (20,11 ; 19.52 et 16.76%, consécutivement).

La relation entre la concentration de l'extrait phénolique de huit plantes et la mortalité des larves de *Culex pipiens* fait ressortir de l'existence d'une corrélation hautement positive entre la mortalité et la concentration.

Les rendements en huiles essentielles obtenus par rapport à la matière sèche sont différents entre les deux plantes étudiées. Le rendement le plus élevé est enregistré pour *Lavandula angustifolia mill* (0.02096%), tandis que celui du *Mentha spicata* est nettement inférieur (0.01262%).

On peut dire que les plantes étudiées peuvent être considérées comme étant une excellente source naturelle d'antiparasitaire très utiles dans le domaine agroalimentaire comme conservateurs.

Cette étude n'a pas exploré toutes les propriétés biologiques des plantes aromatiques. Par conséquent, il serait intéressant, dans un avenir plus ou moins proche, de compléter notre étude par la réalisation d'autres activités biologiques des extraits méthanoliques des différentes variétés de plante aromatique comme l'activité antimicrobienne.

*R*ÉFÉRENCES
*B*IBLIOGRAPHIQUE

A

Adisso D. N., et Alia A.R., 2005- Impact des fréquences de lavage sur l'efficacité et la durabilité des moustiques à longue durée d'action de types Olyset Net ® et Permanet® dans les conditions de terrain. Mém. Doctorat. 79P.

AFNOR (Association Française de Normalisation), “ Recueil de normes : les huiles essentielles ”. Tome 1. Echantillonnage et méthodes d'analyse. AFNOR, Paris, (2000), 440p.

Ahmadi L., Mirza M., & Shahmir F., “The volatile constituents of *Artemisia marschaliana* Sprengel and its secretory elements”. *Flavour Fragr J.*, (2002). V.17, 141-143.

Aimene, R., & Bellil, H. (2019). *Etude de l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles de Lavandula angustifolia Mill et Pinus sylvestris L et leur potentiel Synergique vis à vis des souches pathogènes* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Anton R. & Lobstein A., “ Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles ”, Tec & Doc, Paris, (2005), 522 p.

Aouti A. & Berchi S., 2015- Larvicidal Effect of *Marrubium Vulgare* on *Culex pipiens* in Eastern Algeria .International Conference on Technologies and Materials for Renewable Energy, Environment and Sustainability, TMREES.15. (74). 1026- 1031.

Aprodu, I., Milea, Ş.A., Anghel, R.M., Enachi, E., Barbu, V., Crăciunescu, O., Râpeanu, G., Bahrim, G.E., Oancea, A., et Stănciuc, N. (2019). New Functional Ingredients Based on Microencapsulation of Aqueous Anthocyanin-Rich Extracts Derived from Black Rice (*Oryza sativa* L.). *Molecules*. 24. 3389. DOI: 10.3390/molecules24183389

Avitchedji A.M., 1990- Bioécologie d'*Anopheles melas* et d'*Anopheles gambiae* s.s. Comportement des adultes vis-à-vis de la transmission du paludisme en zone côtière lagunaire, République du Bénin. Mém. Doctorat. 76P.

B

Bakkali F., Averbek S., Averbek D., et al. “ Antigenotoxic effects of three essential oils in diploid yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) after treatment with UVC radiation, 8-MOP plus UVA and MMS”, *Mut. Res.*, V. 606, n°1–2, (2006), 27-38.

Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D., & Idamar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

Becher N., Pertric D., Zgomba M., Boase C., Lane J. et Kaiser A., 2003- Moustiquitoes and their control. Ed. Kluwer Academic. New York, 498 P.

Ben Farhat, M., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J. A., Landoulsi, A., & Jordán, M. J. (2015). Antioxidant properties and evaluation of phytochemical composition of *Salvia verbenaca* L. extracts at different developmental stages. *Plant foods for human nutrition*, 70(1), 15-20.

Bekro Y-A, Mamyrbekova J, Boua BB, Bi F T, Ehile EE. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*. 4(2): 217-225.

Ben latreche et Ait kaci (2020). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Thymus vulgaris*.

Benzeggouta N. (2015). Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Mentouri Constantine. P-46, 49.

Bouguet G., 2010. La cueillette du Thym dans les garrigues : décrire un savoir écologique traditionnel, l'intégrer dans un processus d'ingénierie écologique. Master IEGB, Montpellier

Bovei, B. ANNEXE: Plantes potentiellement dangereuses pour les ruminants en Algérie (nomenclature, répartition, habitat et abondance selon QUÉZEL et SANTA, 1962-1963).

Briemann, H. L., Setzer, W. N., Kaufman, P. B., Kirakosyan, A., & Cseke, L. J. (2006). Phytochemicals: The chemical components of plants. *Natural products from plants*, 2, 1-49.

Bruneton J., 1999. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier 3ème édition, Paris.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 4 e éd. Tec & Doc/Lavoisier, Paris, 279-281.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

C

Cachereul A. 1997 -Les moustiques : cycle de développement, aspects anatomophysiologiques et régulation du cycle ovarien, Thèse de Médecine Vétérinaire, Nantes. 117P

Carson C F. & Hammer K A., "Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. In Thormar H. Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents", United Kingdom, John Wiley & Sons Ltd,

(2011), 204-238.

Cava R., Nowak E., Taboada A. & Marin-Iniesta F., “Antimicrobial activity of clove and cinnamon essential oils against *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk”, *J. Food Prot.*, V.70, (2007) , 2757–2763.

Chenih, H.; Haouache, L. (2021) Etude phytochimique d’une plante médicinale et quelques formes galéniques d’utilisation en phytothérapie Mémoire présenté pour l’obtention du diplôme de Master Académique en Chimie pharmaceutique. Algérie : université Mohamed Boudiaf Msila : p 52-61.

Cherfia R, Kara Ali M, Talhi I, Benaissa A, Kacem Chaouche N (2017). Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of leaves and flowers ethyl acetate and nbutanol fractions from an Algerian endemic plant *Calycotome spinose* (L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*.9 (12):185-196. DOI: 10.5897/JPP2017.0471.

Clements, A. N. 1999- *The Biology of Mosquitoes. (Sensory reception and behaviour)*. Chapman and Hall, London.

Costa, D. C., Costa, H. S., Albuquerque, T. G., Ramos, F., Castilho, M. C., & Sanches-Silva, A. (2015). Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. *Trends in Food Science & Technology*.

Cseke L.J., Kaufman P.B. & Kirakosyan A., “The Biology of Essential Oils in the Pollination of Flowers”, *Natural product communications*, V.2, n°12, (2007), 13171336.

Cronquist, A. (1981). *An integrated system of classification of flowering plants*. Columbia university press.

Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000). Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24, 1250-1319.

Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (Eds.). (2008). *Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet*. John Wiley & Sons.

D

Dangles, O., & Brouillard, R. (1992). Polyphenol interactions. The copigmentation case: Thermodynamic data from temperature variation and relaxation kinetics. Medium effect. *Canadian Journal of Chemistry*, 70(8), 2174-2189.

Darriet F., 1998- *La lutte les moustiques nuisant et vecteurs de maladies*. Khartala- orstom, Paris.91P.

Dillemann, G. (1961). Plantes médicinales et principes actifs. La notion de race chimique. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 108(sup1), 30-38.

Dobros, N., Zawada, K., & Paradowska, K. (2022). Phytochemical Profile and Antioxidant Activity of *Lavandula angustifolia* and *Lavandula x intermedia* Cultivars Extracted with Different Methods. *Antioxidants*, 11(4), 711.

E

Eghdami, A., Eizadi, M., & Sadeghi, F. (2013). Polyphenolic content and antioxidant activity of hydroalcoholic and alcoholic extract of *Thymus vulgaris*. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 3(5), 94-101.

Eldridge F. B., Marquardt C. W., Black C. W., Freier E. J., Hagedorn H. H., Hemingway J., Higgs S., James A. A., et More G. C., 2005- Mosquitoes, the Culicidae. In *Biology of Disease Vectors*, Elsevier Academic Press, 2; 95-101.

G

González-Trujano, M. E., Peña, E. I., Martínez, A. L., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., Deciga-Campos, M., & López-Muñoz, F. J. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *Journal of ethnopharmacology*, 111(3), 476-482.

Guillamot L., 2006- les moustiques et la dengue. Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie. 15P.

Guignard J. L. & Dupont F., “Botanique systématique moléculaire”, Ed.Masson.13eme Edition.

Gurib-Fakim, A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular aspects of Medicine*, 27(1), 1-93.

H

Hammer K.A., Carson C.F., Dunstan J.A., Hale J., Lehmann H., Robinson C.J., Prescott S.L., & Riley T.V., “Antimicrobial and anti-inflammatory activity of five *Taxandria fragrans* oils in vitro”. *Microbiology and immunology*, V. 52, (2008). 522530.

Harbone J.B. (1998). *Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis* 3^e ed.: chapman and hill. 303p.

HAROUAK, H., NAJEM, M., IBIJBIJEN, J., & NASSIRI, L. (2022). DENTAL USE OF SOME LAMIACEAE SPECIES FROM MOROCCO AND PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS BETWEEN TOTAL POLYPHENOLIC CONTENT OBTAINED BY DIFFERENT AQUEOUS EXTRACTION. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 12(1), e5885-e5885.

Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2831-2846.

Herbert, R. B. (1989). *The biosynthesis of secondary metabolites*. Springer Science & Business Media.

I

Ilbert H, Hoxha V, Sahi L, Courivaud A et Chailan C, 2016. Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. p 19, 115

Iserin, P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. *Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersiey Limited, Londres.*

Ismaili, H., Tortora, S., Sosa, S., Fkih-Tetouani, S., Iidirissi, A., Loggia, R. D., ... & Aquino, R. (2001). Topical anti-inflammatory activity of *Thymus willdenowii*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 53(12), 1645-1652.

J

Jebali, J., Ghazghazi, H., Aouadhi, C., ELBini-Dhouib, I., Ben Salem, R., Srairi-Abid, N., ... & Rigane, G. (2022). Tunisian native *Mentha pulegium* L. extracts: Phytochemical composition and biological activities. *Molecules*, 27(1), 314.

K

Kabouche, A., Kabouche, Z., Touzani, R., & Bruneau, C. (2008). Diterpenes and sterols from the roots of *Salvia verbenaca* subsp. *clandestina*. *Chemistry of natural compounds*, 44, 824-825.

Kaloustian J. & Hadji-Minaglou F., “ la connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie : entre science et tradition, une application médicale raisonnée”, Springer Science & Business Media, (2013), 226 p.

Karray-Bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A., Marzouk B. et al., “Salt

effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*” *Industrial Crops and Products*, V.30, (2009), 338–343.

Kaszkin, M., Beck, K. F., Koch, E., Erdelmeier, C., Kusch, S., Pfeilschifter, J., & Loew, D. (2004). Downregulation of iNOS expression in rat mesangial cells by special extracts of *Harpagophytum procumbens* derives from harpagoside-dependent and independent effects. *Phytomedicine*, 11(7-8), 585-595.

Kettle D.S. 1995 - *Medical and Veterinary Entomology*, 2° edition, Wallingford: CAB international, 725P.

Khia A, Ghanmi M, Satrani B et al, 2014. Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. *Phytothérapie*, vol 12, n°6. p 341-346.

Khiari. M (2017) Etude de l’effet de *Mentha* et *Pistacia* sur la toxicité du Nickel.

Klowden M.J. 1990 et Lea A.O., 1979- The endogenous regulation of mosquito reproductive behavior on the blood meal size and feeding success of natural populations of mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 5:4-517.

Krief, S. (2003). *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées* (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).

L

Lahlou, M. (2004). Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour and fragrance journal*, 19(2), 159-165.

Laib, I., & Barkat, M. (2011). Composition chimique et activité antioxydante de l’huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*.

Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>

Lenoir, I., Fontaine, J., & Sahraoui, A. L. H. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: a review. *Phytochemistry*, 123, 4-15.

M

Maffei M.E., “Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles”, *South African Journal of Botany*, V.76, (2010), 612-63.

Muanda FN. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (Thèse de doctorat, Université de Lorraine).

Mayouf N. (2019). Propriétés antioxydante, anti-inflammatoire et immunomodulatrice des extraits d’*Asphodelus micro-carpus* (Thèse de Doctorat, Université de Farhat Abbas, Sétif).

Mazur, M., Boratynska, K., Marcysiak, K., Gómez, D., Tomaszewski, D., Didukh, J. A. K. O. V., & Boratynski, A. (2003). Morphological variability of *Juniperus phoenicea* [Cupressaceae] from three distant localities on Iberian Peninsula. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 72(1).

Medfouni, R., Hafsi, N., & Mazouz, W. (2018). Contribution à l’étude phytochimique et les activités biologiques d’une plante médicinale *Syzygium aromaticum*.

Medini, H., Elaissi, A., Khouja, M. L., & Chemli, R. (2013). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* ssp. *phoenicea* L. extracts from two Tunisian locations. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 1(2), 78-82.

Morone-Fortunato I., Montemurro C., Ruta C., Perrini R., Sabetta W., Blanco A., Lorusso E., & Avato P., “Essential oils, genetic relationships and in vitro establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* from wild Mediterranean germplasm”, *Industrial Crops and Products*, V.32, (2010), 639-649.

Mosbah M., Fattoum S. (2014). Etude phytochimique et activité antibactérienne de deux plantes médicinales *Rosmarinus officinalis* et *Cinnamomum zeylanicum*.

N

Namdeo, A. G. (2018). Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants. In *Natural Products and Drug Discovery*.

Neffati M et Sghaier M, 2014. Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie). p 11-15.

NICOLAS J. F., “Progrès en Dermato-Allergologie- Lyon”, John Libby Eurotext, (2013), 391p.

O

Oussalah M., Caillet S., Saicier L., Lacroix M., “Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a pseudomonas putida strain isolated from meat ”, *eat Science*, V. 73, (2006), 236-244.

P

Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., & Bansal, Y. K. (2015). Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9(3), 293-304.

PHARMACOPEE EUROPEENNE, 2005. 6ème Edition : Tome 1 et 2.

Pichersky E., Gershenzon J., “The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense”, *Curr Opin Plant Biol.*, V.5, (2002), 237-243.

Porter N., “Essential oils and their production”, *Crop & Food Research*, n° 39, (2001).

Pressat R., 1905- L'analyse démographique. Paris, Presses Universitaires de France, 498 p.

Q

Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (No. 581.965 Q8).

Qnais E A, Elokda A S, Abu Ghalyun Y Y & Abdulla F A.(2008). Antidiarrheal Activity of the Aqueous Extract of Punica granatum. (Pomegranate) Peels. *Pharmaceutical Biology* .45 (9). DOI:<https://doi.org/10.1080/13880200701575304>.

Qutubuddin M., 1960- Mosquito studies in the Indian subregion, Part I Taxonomy - A brief review. 133p.

R

Reinert J.F., 2000- New classification for the composite genus Aedes (Diptera: Culicidae: Aedini), elevation of subgenus Ochlerotatus to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. *J. Am. Mosquito Control Assoc* 175: 16. - 188.

Ribert C., 2007- Epidémiologie des maladies parasitaires, tome 4, affections provoquées ou transmises par les arthropodes. Cachan : EM inter, 581 P.

Roberts, M. F. (Ed.). (2013). *Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications*. Springer Science & Business Media.

Rodhain F. et Perez C., 1985- Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Notion d'épidémiologie des maladies à vecteurs. Ed. Maloine, 458 p.

Roth M., 1980- Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes, ORSTOM, Paris. 259p.

Roux, D., & Catier, O. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition. Ed.

S

Schaffner F., Andel G., Geoffroy B., Hevryj.p., Rhaïem A., Brunhes J., 2001- Moustiques d'Europe. Institut de Recherche pour le Développement. IRD. Logiciel d'identification. ISBN: 978-2-7099-1485-7.

Seguy E., 1955 – Introduction à l'étude Biologique et Morphologique des insectes Diptères. Ed. Muséum Nationale, Rio-de-Janeiro, 260P.

Slimani, C., Sqalli, H., Chaimae, R. A. I. S., Farah, A., Lazraq, A., El Ghadraoui, L., ... & Echchgadda, G. (2022). Chemical composition and evaluation of biological effects of essential oil and aqueous extract of *Lavandula angustifolia* L. *Notulae Scientia Biologicae*, 14(1), 11172-11172.

Smallfield B (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop and Food Research* 45:1-4.

Sidi Boulouar, K., & Ziane, A. (2003). Etude phytochimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. de la région de Tlemcen. *Mémoire pour l'obtention du diplôme d'études supérieur en biologie. Option: Biochimie. Faculté des Sciences. Université. ABB. Tlemcen.*

Singh, J. (2008). Maceration, percolation and infusion techniques for the extraction of medicinal and aromatic plants. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*

T

Thompson J D., Chalchat J C., Michet A. & Linhart Y B., "EHLERS B- Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of

Thymus vulgaris chemotypes”, *Journal of chemical ecology*, V.29, n°4, (2003).

Trari B ; Dakki M ; Himmo et al ., et Agbani M, 2002-Les moustiques (Diptera- Cuicidae) du Maroc. Revue bibliographique et inventaire des espèces.*Bull.Suc.PatholExot.* (4) :329- 334.

Tsai, P. J., Tsai, T. H., & Ho, S. C. (2007). In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food chemistry*, 105(1), 311-316.

U

Unsicker S.B., Kunert G. & Gershenzon J., “Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores *Curr Opin*”, *Plant Biol.*, V.12, n°4, (2009),479-485.

V

Vaissié, C. (2017). Sartre et Beauvoir en Lituanie : incompréhensions, manipulations réciproques et silences. *Cahiers lituaniens*, 16, 5-12.

Verpoorte, R., Choi, Y. H., & Kim, H. K. (2005). Ethnopharmacology and systems biology: a perfect holistic match. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1-2), 53-56.

VIGAN M., “les huiles essentielles « leur retour et leur toxicité » in : progrès en dermatologie”, bordeaux, John Libbey Eurotext, (2009), 391 p.

W

Wannes W. A., Mhamdi B., Sriti J., Ben Jemia M., Ouchikh O., Hamdaoui G., et al., “Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) Leaf, stem and flower”, *An International Journal published for the British Industrial Biological Research Association Food and Chemical Toxicology*, V.48, n°5, (2010), 1362-1370.

Whitehead, S. R., Schneider, G. F., Dybzinski, R., Nelson, A. S., Gelambi, M., Jos, E., & Beckman, N. G. (2022). Fruits, frugivores, and the evolution of phytochemical diversity. *Oikos*, 2022(2).

Williamson, E.M. (2001). Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine*, 8(5), 401-409.

Wink, M., Schmeller, T., & Latz-Brüning, B. (1998). Modes of action of allelochemical alkaloids: interaction with neuroreceptors, DNA, and other molecular targets. *Journal of chemical*

Ecology, 24, 1881-1937.

Y

Yakoubi, R., Megateli, S., Sadok, T. H., & Gali, L. (2021). Photoprotective, antioxidant, anticholinesterase activities and phenolic contents of different Algerian *Mentha pulegium* extracts. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 34, 102038

Yan X. & Chen S., “Regulation of plant glucosinolate metabolism”, *Planta*, V.226, (2007), 1343-1352.

Z

Zuzarte M. & Lígia S., “Essential Oils Chemistry In: Damião Pergentino de Sousa: Bioactive Essential Oils and Cancer”, Springer, (octobre 2015), 292 p.

Annexe

Equipement et appareils	Verreries et matériel	Réactifs et produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"> - Agitateur Magnétique chauffant. - Agitateur vortex. - Bain marie. - Balance de précision - Centrifugeuse. - Clevenger. - Etuve. - Réfrigérateur. - Rotavapeur. - Spectromètre. 	<ul style="list-style-type: none"> - Tube à essai. - Béchers. - Papier aluminium. - Des embouts. - Micro pipette. - Pipettes graduées. - Cuves. - Gants. - Balance. - Flacon de 125 ml. - Ballon verre. - Mortier. - Papier filtre. - Etiquette. - Entonnoir. - Portoir. 	<ul style="list-style-type: none"> - Eau distillée - Méthanol. - DMSO. - NAOH. - NAOH à 5%. - NAOH à 10%. - CuSo4 à 2%. - FeCl3. - FeCl3 à 2%. - H2SO4 à 10%. - NH2OH à 10%. - Folin-Ciocalteu. - Na2CO3 à 2%. - AlCl3 à 2%. - Vanilline. - HCL à 37%. - KOH à 1%. - Quercetine - Acide gallique. - Catéchine.

