



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**Activités antimicrobienne et anti-oxydante de l'huile
essentielle de la Cardamome *Elettaria Cardamomum***

Présenté par : Fassi Fihri Réda

Encadré par : Pr.SaidHaloti (FST Fès)

Pr. Faouzi ERRACHIDI (FST Fès)

Pr. Rachida CHABIR (FMP Fès)

Soutenu le : 07/06/2018

Devant le jury composé de :

- **Pr. SaidHaloti**
- **Pr. Faouzi ERRACHIDI**
- **Pr. Rachida CHABIR**

Stage effectué à : faculté de médecine et de pharmacie de Fès

Année universitaire 2017-2018

Résumé

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation des activités biologiques (antimicrobiennes et antioxydante) d'une plante médicinales (la Cardamome)*Elettaria Cardamomum*. Les résultats obtenus montrent que notre huile essentielle présente un effet antimicrobien sur quatre souches différentes (*Escherchia coli*, *Staphylococcus aureu*,*Candidatropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*) et exhibe un effet antioxydant similaire a celui du BHT(antioxydant témoin).

Abstract

The present work is part of the evaluation of biological activities (antimicrobial and antioxidant) of a medicinal plant (Cardamome)*ElettariaCardamomum*. The results obtained show that our essential oil has an antimicrobial effect on four different stumps of bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*) and exhibits an antioxidant effect similar to that of BHT (antioxidant reference).

ملخص

هذا العمل هو جزء من تقييم الأنشطة البيولوجية (مضادات الميكروبات ومضادات الأكسدة) من النبتة الطبية (*ElettariaCardamomum* (Cardamome). تظهر النتائج أن زيتنا الأساسي له تأثير مضاد للميكروبات على أربع جذوع مختلفة من البكتيريا (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida tropicalis*,) و*Saccharomyces cerevisiae*) ويظهر تأثير مضاد للأكسدة شبيه بتأثير BHT (مرجع مضاد للأكسدة).

Activités antimicrobienne et anti-oxydante de l'huile essentielle de Cardamome

REMERCIEMENT

Le présent travail est le témoignage de ma reconnaissance et ma profonde gratitude envers mes professeurs encadrants :

Pr. Rachida CHABIR de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès,

Pr. Faouzi ERRACHIDI de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès,

Pr. Said HALOTI de la faculté des sciences et techniques de Fès.

Je tiens à leur adresser mes remerciements les plus profonds et les plus sincères, pour leur disponibilité, leurs conseils judicieux et pratiques, leur aide précieuse et la qualité de leur suivi tout au long de la réalisation de ce mémoire, tout en souhaitant qu'ils me fassent l'honneur de bien vouloir évaluer ce modeste travail, en présence du Pr. Faouzi ERRACHIDI de la faculté des sciences et techniques de Fès.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à tous les doctorants pour leurs aides et leurs soutiens.

Je remercie du fond du cœur toute personne ayant contribué, de près ou de loin, en l'élaboration de ce travail.

**Activités antimicrobienne et anti-oxydante de l'huile essentielle de
Cardamome**

DEDICACES

Je dédie le présent travail en premier lieu à mes parents, *Fassi Fihri Mohammedet Mezzouri Nadia*, envers lesquels je suis infiniment reconnaissant pour leur soutien, leurs encouragements et leur bienveillance. Je ne pourrai trouver les mots pour exprimer ma gratitude envers eux.

A mes deux sœurs Sarah et Firdaouss, qui ont été tout au long de mon parcours un modèle de persévérance, de patience et d'excellence.

A mon défunt Grand père bien aimé, *Abdelmajid Fassi Fihri*, qui malheureusement pour moi, n'a pas eu l'occasion de voir où j'en suis arrivé grâce à son amour et ses conseils.

A tous mes ami(e)s qui ont été toujours présent pour moi,

A mes collègues du laboratoire, pour leur soutien et leur aide, Sarah, Hiba, Bochra, Aziza, Abdelhay, Meryem, Farhati...

Merci.

Activités antimicrobienne et anti-oxydante de l'huile essentielle de Cardamome

Figures

Figures 1: *Elettaria Cardamomum*

Figure 2 : Montage de l'hydrodistillation

Figure 3: Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (AH).

Figure 4: dosage des sucres réducteurs de la cardamome

Figure 5 : dosage des protéines de la cardamome

Figure 6: dosage des polyphénols de la cardamome

Figure 7 : activité anti-oxydante de l'HE de Cardamome

Figure 8 : Activité anti-oxydante de BHT

Tableaux

Tableau 1 : Composition globale de la Cardamome (39)

Tableau 2 : Composition chimique de la Cardamome (39)

Tableau 3 : Concentrations de sucres réducteurs

Tableau 4 : Activité antimicrobienne sur les bactéries des huiles essentielles de Cardamome

Tableau 5 : Activité antimicrobienne sur les levures des huiles essentielles de Cardamome

Tableau 6 : Etude quantitative de l'activité antimicrobienne

Activités antimicrobienne et anti-oxydante de l'huile essentielle de Cardamome

Liste des abréviations

AA : Acide Aminé

AAO : Activité anti-oxydante

BHT : Hydroxytoluènebutylé,(2,6-bis-4-méthylphénol.)

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG : Echantillon d'Acide Gallique

ED : Eau Distillée

EOR : Espèces Oxygénées Réactives

HD : hydro-distillation

HE : Huile Essentielle

IC50 : Concentration inhibitrice 50

MV : Masse volumique

PAM : Plantes Aromatiques et Médicinales

ROS :Reactiveoxygenspecies

V BHT : Volume du BHT

Présentation du lieu de stage

Mon modeste stage de fin d'étude en licence biologie appliquées en santé a été réalisé au sein du Laboratoire de Physiologie et Nutrition, situé à la faculté de Médecine et Pharmacie, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès.

I) Laboratoire de Physiologie et Nutrition

Le laboratoire de « Nutrition, Agroalimentaire et Environnement » fait partie du Laboratoire de recherche en « Pathologie Humaine, Biomédecine et Environnement »

II) Structure du Laboratoire de Recherche Biologique

Les différentes équipes dont se compose le laboratoire de recherche Pathologie Humaine, biomédecine et Environnement est au nombre de 6 :

- Anatomie Pathologique
- Microorganismes et Facteur oncogènes
- Physiopathologie et Nutrition
- Génomique et Santé
- Maladie de l'appareil digestif
- Les éléments traces Métalliques



III) Equipement du Laboratoire

Le laboratoire est équipé d'un appareillage de pointes qui permet de faire le dosage aussi bien qualitatif que quantitatif du micro et macronutriments, extraction des huiles essentiels et la caractérisation de la qualité microbiologique et physico-chimique de l'eau et des aliments.

Activités antimicrobienne et anti-oxydante de l'huile essentielle de Cardamome

SOMMAIRE

| | |
|---|---------------|
| Introduction Générale | P : 1 |
| Chapitre I : Aperçu bibliographique | P : 3 |
| I. Plantes médicinales | P : 3 |
| II. Huiles Essentielles | P : 3 |
| 1. GENERALITES: | P : 3 |
| 2. ORIGINE ET LOCALISATION: | P : 3 |
| III. Méthodes d'extraction | P : 4 |
| 1. La distillation: | P : 4 |
| 2. Hydrodistillation: | P : 4 |
| 3. Entraînement à la vapeur d'eau: | P : 5 |
| 4. Enfleurage: | P : 5 |
| 5. Pression à froid: | P : 5 |
| 6. Extraction assistée par microondes: | P : 5 |
| 7. Extraction assistée par ultrasons: | P : 6 |
| 8. Extraction par solvants volatiles: | P : 6 |
| IV. Propriétés physicochimiques | P : 7 |
| 1. Propriétés physiques: | P : 7 |
| 2. Propriétés chimiques: | P : 7 |
| 2.1 Les terpènes: | P : 7 |
| 2.2 Composés aromatiques : | P : 7 |
| V. Domaine d'utilisation des huiles essentielles | P : 8 |
| 1. Industrie agroalimentaire: | P : 8 |
| 2. Industrie médicale: | P : 8 |
| 3. Industrie cosmétique: | P : 8 |
| VI. Activités biologiques et pharmacologiques des huiles essentielles | P : 8 |
| 1. Activités Antimicrobienne: | P : 8 |
| A.1 Activités antibactérienne: | P : 8 |
| A.2 Activités antifongique: | P : 9 |
| A.3 Activités antioxydante: | P : 9 |
| VII. Description de la Cardamome (plante à huile essentielle) | P : 10 |
| 1. Cardamome : Elettaria Cardamomum : | P : 10 |
| 2. Description: | P : 10 |
| 3. Composition chimique: | P : 11 |

Activités antimicrobienne et anti-oxydante de l'huile essentielle de Cardamome

| | |
|---|---------------|
| 4. Utilisation médicale: | P : 11 |
| Chapitre II : Matériels et méthodes | P : 13 |
| I. Matériel Biologique | P : 14 |
| A. Préparation du matériel végétal :..... | P : 14 |
| • Extraction par Hydrodistillation | P : 14 |
| • Rendement en huile essentielle:..... | P : 14 |
| B. Microorganismes testés :..... | P : 15 |
| II. Mesure de l'activité Antimicrobienne : | P : 15 |
| C. Préparation de l'inoculum :..... | P : 15 |
| • Evaluation de l'activité antimicrobienne: | P : 15 |
| III. Activité Antioxydante..... | P : 15 |
| 1. Principe | P : 15 |
| 2. Mode Opératoire | P : 16 |
| IV. Dosages Biochimique :..... | P : 17 |
| • Sucres réducteurs (Mayer) | P : 17 |
| • Protéines (Biuret) | P : 17 |
| • Polyphénol (Li et al.2007) | P : 17 |
| Chapitre III: Résultats et discussions | P : 18 |
| I. Dosages biochimiques..... | P : 19 |
| • Sucres réducteurs (Mayer) | P : 19 |
| • Protéines (Biuret)..... | P : 20 |
| • Polyphénol (Li et al.2007) | P : 21 |
| II. Activités antimicrobienne | P : 22 |
| III. Activités anti-oxydante..... | P : 23 |
| Conclusion..... | P : 25 |

Introduction général

Les plantes aromatiques et médicinales connues sous l'abréviation PAM ont été longuement utilisées, tant dans le domaine culinaire que dans la médecine traditionnelles ou en cosmétique.

Les Plantes aromatiques et médicinales sont utilisées en :

- **Médecine** : comme agents antimicrobiens. La résistance des microorganismes aux antibiotiques révélée par de nombreux travaux scientifiques, exemple *staphylococcus aureus*, germe pathogène responsable de nombreuses infections nosocomiales a orienté la recherche vers des molécules ayant des activités biologiques tel que l'activité antimicrobienne.
- **Agroalimentaire** : Pour leur activité antioxydante, les molécules d'origine végétale sont utilisées afin d'inhiber la production des EOR (espèces oxygénées réactives) et les neutraliser, au lieu des antioxydants synthétiques couramment utilisés dans l'industrie alimentaire.

La majorité des travaux portés sur les PAM sont effectués sur les produits de distillation (extraits aqueux, huile essentielle...)

Les huiles essentielles, ou essence végétale (du latin *essentia*, « nature d'une chose »), sont selon la définition adoptée par la commission de la pharmacopée Européenne et qui est très proche de celle de la norme ISO 9235 « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (8).

Notre travail a pour but d'étudier l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle extraite de la cardamome *Elettaria Cardamomum*.

Aperçu Bibliographique

I. Plantes médicinales

De nos jours, l'Homme a commencé à utiliser de plus en plus les plantes médicinales comme remède contre diverses maladies, en particulier suite à l'augmentation des effets secondaires des médicaments synthétiques (1). L'inventaire des plantes médicinales comprend un grand nombre d'utilisation en herboristerie, cette large étendue de plantes médicinales a aidé à la découverte de leurs propriétés thérapeutiques (2). Il y a un large éventail de structure chimique et activités biologiques, bien que leurs compositions ne soient pas toujours complètement décrites (3). Les plantes médicinales possédant de nombreux composants bioactifs, ils ont été largement utilisés dans le développement et la synthèse de médicaments tels que l'aspirine (4). La chimie des produits naturels a été développée globalement dans le but de découvrir de plus en plus de médicaments efficaces et rentables avec des effets secondaires mineurs (5) (6).

II. Huiles Essentielles

1. GENERALITES

Une huile essentielle (HE) aussi appelé essence végétale est un extrait tiré de végétaux aromatiques. Cette substance est hautement volatile et fortement odorante. C'est un produit complexe obtenu d'une matière première végétale bien définie. L'AFNOR (7) a défini les huiles essentielles comme étant des produits obtenus soit à partir d'une matière première par hydro-distillation / entraînement à la vapeur d'eau, soit par d'autres procédés mécanique où l'on obtient 2 phases bien distinctes, ce qui exclut tous produits obtenus à partir d'une technique d'extraction utilisant des solvants non aqueux ou l'enfleurage(8).

2. ORIGINE ET LOCALISATION

L'origine des huiles essentielles dans sa plante a longuement été le sujet de plusieurs hypothèses dont celle d'EMDE (9) qui avance que les huiles essentielles résultent d'un processus physiologique initié à partir des sucres présents dans la plante.

L'énergie produite au niveau des chloroplastes (glucides, NADPH, ATP) suite à la photosynthèse contribue au développement de la plante d'un côté, mais aussi à la biosynthèse de composés secondaires, notamment les huiles essentielles. Selon BOYOM (10) les huiles essentielles sont des résidus du métabolisme des sucres, des protéines ou de certains AA.

Ces HE n'existent pratiquement que chez les végétaux supérieurs, elles sont produites au niveau du cytoplasme des différentes cellules sécrétrices, ces dernières se situent dans des poils sécréteurs ou trichomes (Lamiaceae), dans des canaux sécréteurs (Apiaceae/Asteraceae) ou dans des poches sécrétrices (Myrtaceae/Rutaceae).

Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes parties de la plante :

- Fleurs (pétales de rose),
- Ecorces de fruits (citron, bergamote, orange),
- Graines (anis),
- Feuilles (eucalyptus),
- Baies (genévrier),
- Boutons floraux (clou de girofle),
- Fruits (persil),
- Bois (santal, écorce de quinquina).

Les HE peuvent se trouver, chez une même espèce, simultanément dans des organes différents, sa composition peut aussi varier d'un organe à un autre (11).

III. Méthodes d'extraction

Afin d'avoir des résultats quantitatifs et qualitatifs le protocole standard pour les huiles essentielles commence par une extraction, différentes techniques sont employées.

Ces techniques ont été développées dans le cadre de diminuer le temps d'extraction et la quantité du solvant utilisé mais aussi d'accélérer la cinétique d'extraction (12). Parmi les méthodes d'extraction nous citons :

1. La distillation

La distillation est la méthode la plus ancienne et la plus utilisée parmi toutes les méthodes d'extractions, les différents procédés utilisant le principe de la distillation selon Piochon (11) sont : hydrodistillation, hydrodiffusion et entraînement à la vapeur d'eau.

1.1 Hydrodistillation (HD)

Le principe de l'HD correspond à une distillation hétérogène. Ce procédé consiste à immerger la matière première végétale dans de l'eau, la plante utilisée peut flotter ou être immergée, le mélange est ensuite porté à ébullition généralement à une pression atmosphérique.

La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules volatils (HE) contenues dans les cellules végétales.

1.2 Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'HD, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter, la vapeur est produite par une chaudière qui après son injection fait éclater les cellules et entraîne les molécules odorantes (HE).

La vapeur d'eau saturée en composés volatils se condense après son passage dans un réfrigérant, en un mélange hétérogène d'hydrolat et d'HE. La phase aqueuse comporte aussi un faible taux de composés aromatiques, nommée eau florale. Les produits sont séparés par une simple décantation (13).

2. Enfleurage

Contrairement à la distillation, la principale qualité de l'enfleurage est sa capacité à traiter les fleurs les plus fragiles (14).

Son principe réside dans la capacité des corps gras à s'imprégner et à conserver les odeurs.

- L'enfleurage à froid : les plantes d'intérêt sont posées (à T° ambiante) sur l'huile végétale ou la graisse animale, cette dernière capte progressivement les odeurs.
- L'enfleurage à chaud : cette fois-ci les végétaux et l'huile sont mélangés dans une cuve chauffée, l'huile se charge alors de l'odeur des plantes.

3. Pression à froid

Réservée uniquement aux agrumes, ne nécessitant pas de chauffage, cette technique a pour principe de conduire à la rupture des péricarpes riches en huiles essentielles qui sont libérées et entraînés par un courant d'eau. L'huile est tout simplement récupérée par simple décantation (15).

4. Extraction assistée par microondes

De nombreuses techniques d'extraction utilisent la technologie microondes :

La toute première technique d'extraction des HE sous chauffage microondes, a été proposée par Craveiro (16) en 1989 sous le nom de l'entraînement à l'air assisté par microondes « Compressed Air Microwave Distillation (CAMD) », puis Stashenko (17) a développé

en 2004 l'hydrodistillation assistée par micro-ondes « Microwave Assisted Hydrodistillation (MAHD) », en 2008 l'hydrodiffusion assistée par micro-ondes et gravité « Microwave Hydrodiffusion and Gravity (MHG) » est brevetée par Chemat et *al* (18) .

Ces techniques sont utilisées pour divers avantages dont :

- ❖ Qualitativement : les composés oxygénés sont d'une proportion plus élevée dans les HE (19).
- ❖ Quantitativement : les rendements sont semblables voir meilleurs que ceux obtenus par les méthodes classiques (20).
- ❖ Temps d'extraction : le temps d'extraction est très court.
- ❖ Economiquement : vu que le temps d'extraction est réduit, le procédé est donc plus économique en énergie, en temps et en coût.
- ❖ Environnementale : les techniques assistée par micro-ondes n'utilisent ni solvant organique ni eau (21).

5. Extraction assistée par ultrasons

Cette méthode, surtout développée pour l'extraction de molécules ayant un intérêt thérapeutique a été également utilisée pour l'extraction des huiles essentielles. Dans cette méthode la matière végétale est immergée dans un solvant ou dans de l'eau et est soumise à l'action des ultrasons (22).

6. Extraction par solvants volatiles

Les solvants utilisés sont non aqueux, cette technique d'extraction consiste à placer un solvant volatil et la matière première dans un extracteur (Soxhlet). Suite à des lavages successifs, le solvant se chargera en molécules aromatiques, puis envoyé au concentrateur pour une distillation à pression atmosphérique. Cette méthode est la plus pratiquée, et les solvants utilisés sont l'Hexane, le Cyclohexane, l'Éthanol, le Méthanol, le Dichlorométhane et l'acétone (23). Le pouvoir d'extraction de ces solvants est plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement les composés aromatiques mais aussi d'autres composés tels que des cires, des acides gras, des pigments et bien d'autres substances non volatils.

IV. Propriétés physicochimiques

1. Propriétés physiques

On peut résumer les propriétés physiques des HE en leurs indices, viscosité, densité, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation. Ces HE sont souvent incolores ou jaune pâle, liquides à une T° ambiante et insolubles dans l'eau grâce à leurs nature huileuse qui les rend liposolubles. Toutefois elles le sont dans des solvants organiques apolaires, les alcools et les huiles grasses (24).

Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et sensibles à l'oxydation et ont un indice de réfraction élevé. Elles ont tendance à se polymériser, et à perdre leurs propriétés suite a la formation de produits résineux. A l'exception des huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle, leur densité et généralement inférieure à celle de l'eau (24).

2. Propriétés chimiques

Les HE sont souvent constituées d'une centaine de composés organiques de fonctions et de structures chimiques différentes. Ces composés sont généralement classés en deux groupes d'origines biogénétiques spécifiques : Les dérivés du phenylpropane (composés aromatiques) et les hydrocarbures terpéniques (25).

2.1 Les terpènes

Les HE sont généralement constituées d'un certain nombre de composés terpéniques, aussi nommés isoprénoides ou terpénoides (ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés) vu que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence de l'oxygène. Ces composés sont souvent les plus volatils vu leurs poids moléculaire faible, et ont pour source l'isoprène de formule générale $(C_5H_8)_n$ (24).

Selon le nombre de carbone on distingue : Les monoterpènes (C10) Les sesquiterpènes (C15) les diterpènes (C20), les triterpènes (C30) et les tétraterpènes (C40).

2.2 Composés aromatiques

Les huiles essentielles renferment souvent, selon le mode d'extraction utilisé, d'autres composés chimiques, de faible masse moléculaire tel que : Les acides (de C3 à C6), les alcools, les hydrocarbures (linéaires et ramifiés, saturés ou non saturés), les aldéhydes, les cétones, les esters acycliques, les coumarines et les lactones (26). Généralement ce sont des

composés aromatiques ou phénoliques dérivés du phénylpropane (C6-C3) et caractérisés par un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle, souvent un allyl ou un propénylphenols.

V. Domaine d'utilisation des huiles essentielles

L'Homme a, depuis la nuit des temps, utilisé les huiles essentielles dans son quotidien. Actuellement ces HE sont utilisées dans plusieurs domaines tel que l'industrie alimentaire, la médecine, l'industrie cosmétique...

1. Industrie agroalimentaire

Les HE sont souvent utilisées dans les aliments sous formes d'épices, d'aromates ou de condiments : *Ocimum* (basilic), *zingiber officinalis* (gingembre), *Petroselinum crispum* (persil), *Piper* (poivre), des extraits de *Citrus* (27).

2. Industrie médicale

Les huiles essentielles sont largement utilisées dans le domaine médical grâce à leurs propriétés pharmacodynamiques diverses et souvent marquées (27).

3. Industrie cosmétique

L'industrie cosmétique est le plus grand consommateur de molécules odorantes, afin d'avoir de nouvelles sensations, tout en élaborant des gammes de produits bien diversifiés comme pour les produits de toilettes (parfums, savons, laits, shampooings, dentifrices, pâtes et poudres...) (27).

VI. Activités biologiques et pharmacologiques des huiles essentielles

1. Activités Antimicrobienne

Il existe trois types d'activités biologiques à savoir :

A.1 Activités antibactérienne

Le pouvoir antibactérien de certaines essences a été démontré sur une large palette de micro-organismes, y compris les bactéries résistantes aux antibiotiques : *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Salmonella enterica*, *Shigelladysenteria*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus camorum*, *Proteus mirabilis*. Par contre le mécanisme d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes et fongiques

reste toujours difficile à cerner, vu la composition complexe des huiles volatiles (28). En effet, les caractéristiques des huiles essentielles sont attribuées aux dérivés terpénoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. L'activité de ces molécules bioactives dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels (29). Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne induisant ainsi sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déversé vers l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction (30); (31). Egalement, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intra-cytoplasmique peuvent subvenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de l'ATP, et du phosphate inorganique (31); (32). D'autres recherches ont également suggéré que la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides peuvent être inhibés par les huiles essentielles (33).

A.2 Activités antifongique

Les essences sont connues pour agir sur un large spectre de levures et moisissures (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus sulphurens*, *Aspergillus fumigatus*, *Micor fragilis*) en inhibant la germination des spores, la croissance des levures, l'élongation du mycelium, la sporulation et la production de toxine chez les moisissures. Ce pouvoir antifongique est dû à la présence de certaines fonctions chimiques dans la composition des HE notamment la fonction aldéhyde qui en agissant avec le groupement thiol des AA impliqués dans la division cellulaire inhibe la croissance (34).

A.3 Activités antioxydante

Il existe trois types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques, les enzymes de réparation et les antioxydants non enzymatiques dont les HE. Cette activité peut être primaire ou préventive, elle peut retarder l'oxydation par des mécanismes indirects (la réduction d'oxygène) (35) ou direct (l'oxygène radicalaire est piégé par un électron empêchant ainsi la destruction des structures biologiques). Ils peuvent donc agir comme agents réducteurs capables de passer leurs électrons aux ROS (Reactive oxygen species) et les éliminer (36). Certaines huiles essentielles se sont avérées plus efficaces que les antioxydants synthétiques (37). Cet effet est principalement dû à la présence des groupes hydroxyles dans leurs structures chimiques (38).

VII. Description de la Cardamome (plante à huile essentielle)

1. Systématique

- Règne : Plante
- Sous-règne : Tracheobionté
- Division: Magnoliophyte
- Classe : Liliopsidé
- Embranchement : Spermaphytes
- Ordre : Zingiberales
- Famille : Zingibéracées
- Genre : Elettaria
- Espèce : *Elettaria Cardamomum* (42).



Figures 1: *Elettaria Cardamomum*

2. Description

En français : cardamome, cardamomier, cardamone.

En anglais : cardamom, small cardamom, cardamon.

En arabe : Heil, Hab el Hal, hab hab, Hhabbahân (41).

La cardamome *Elettaria Cardamomum* est une plante de montagne qui a besoin d'ombre et d'humidité pour se développer correctement et nécessite un sol riche en humus. La plante, qui peut être productive pendant 20 à 40 années, donnera sa première récolte au bout de deux ou trois ans. Vivace herbacée sauvage, rhizomateuse et aromatique. Non rustique, elle ne supporte pas les températures inférieures à 3°C, ses feuilles sont persistantes, longues, lancéolées, duveteuses et vertes. Elle a pour origine l'Inde, les Malabar, le Sri Lanka, ou la Malaisie.

3. Composition chimique

Les travaux concernant la composition chimique de la cardamome ont révélé sa richesse en plusieurs constituants, leur teneur diffère selon les conditions climatiques et géographiques, et aussi selon les méthodes d'extraction.

Tableau 1 : Composition globale de la Cardamome (39)

| Famille de constituants | % |
|-------------------------------|-------|
| Huile Essentielle | 3-8 |
| Huile Grasse | 1-4 |
| Amidon | 20-45 |
| Eau | 20 |
| Protéine | 10 |
| de fibres (31% de la capsule) | 20 |
| de cendres | 6 |

Tableau 2 : Composition chimique de la Cardamome (39)

| Constituants de l'huile essentielle | % |
|---|---------|
| • 1,8-Cineole [maj odeur] | 2-60 |
| • α -terpinéol | 1-2 |
| • acetate d' α -terpinyne [maj odeur] | 20-53 |
| • acetate de linalyle | 3-6 |
| • linalol [maj odeur] | 0.4-4.5 |
| • a pinène | 0-1.5 |
| • sabinene | 2-5 |
| • limonene | 2-14 |
| • menthone | <6 |
| • linalyl acetate [maj odeur] | 1.6-7.7 |
| • phellandrene | 3 |
| • beta terpineol | 0.7-2.1 |
| • traces de myrcene, p-cymene, geraniol, nerol, nerolidol, borneol, 2-methylhept-2-en-6-one | - |
| • Hydrocinnamic acid dérivés | - |
| Constituants de l'huile grasse | % |
| • Palmitique | 28-38% |
| • oleique | 43-44% |
| • linoleique | 2-16% |
| • stearique chez certain cultivar | - |

4. Utilisation médicale

En pharmacologie, la cardamome est connue pour ses vertus qui traite efficacement de nombreux troubles digestifs comme les indigestions, les coliques, les gastrites et les gastralgies, la diarrhée, la colopathie fonctionnelle, la maladie de Crohn ainsi que les spasmes digestifs. L'huile essentielle de cardamome est reconnue pour ses propriétés anti-inflammatoires, antispasmodiques et analgésiques.

Les deux principes actifs principaux de la cardamome et de son huile essentielle sont: l'acétate d'alpha-terpényle (à hauteur de 45%) et l'oxyde terpénique (28%). L'acétate d'alpha-terpényle fait partie de la famille moléculaire des esters monoterpéniques, et c'est lui qui confère à la cardamome ses vertus antispasmodiques et toniques. Il est aussi connu pour agir comme équilibrant psychique. L'oxyde terpénique, quant à lui, lui apporte ses vertus respiratoires et anti-inflammatoires. On retrouve également dans la cardamome des dérivés de l'acide hydroxycinnamique, ainsi que des diarylnonanoïdes et des lignanes (40). La composition de la plante diffère selon les conditions où elle est cultivée.

Matériel et méthodes

I. Matériel Biologique

D. Préparation du matériel végétal

La cardamome a bien été nettoyée à l'eau du robinet, séchée à T° ambiante et à l'obscurité, puis elle a été broyée et conservée dans des pots hermétiquement fermés.

➤ **Extraction par Hydrodistillation**

Les huiles Essentielles sont extraites par la méthode d'hydrodistillation et ce grâce à l'appareil de type Clevenger. Le matériel végétal est immergé dans de l'eau distillée, le tout est ensuite porté à ébullition. La vapeur saturée d'éléments volatils traverse un réfrigérant où elle se condense pour donner deux phases : l'eau florale et l'huile essentielle. (Fig : 2)

50g de la matière végétale ont été mises dans un ballon rodé de 400ml d'ED, puis l'installation est montée et le chauffe-ballon est mis en marche. L'Hydrodistillation dure 3h. Les HE sont entraînées par les vapeurs d'eau et sont récupérées par simple décantation et conservées dans des eppendorfs hermétiquement fermés puis stockés dans un endroit à l'abri de la lumière et frais (4°C).

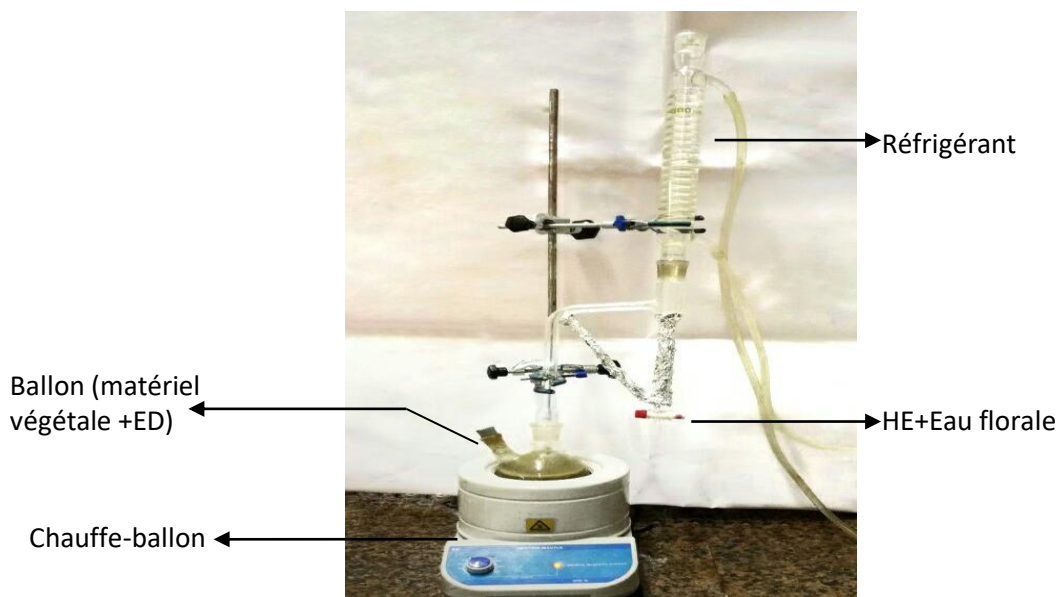


Figure 2 : Montage de l'hydrodistillation

➤ **Rendement en huile essentielle**

Le rendement de l'HE est défini comme le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse du matériel végétal utilisé (7). Le rendement est exprimé en pourcentage et est calculé grâce à la relation suivante :

$$R(\%) = \frac{mHE}{m} \times 100$$

mHE : Masse d'huile essentielle en g

m : Masse de la matière végétale sèche broyée en g

E. Microorganismes testés

Les microorganismes testés sont au nombre de quatre :

Escherichia Coli et une bactérie *Staphylococcus aureus*)

- Deux souches bactériennes : *Escherichia coli* Gram-, *Staphylococcus aureus* Gram+.
- Deux souches de levures : *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Notre choix s'est porté sur ces souches car elles sont les plus utilisées, elles proviennent de la collection du laboratoire de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès.

II. Mesure de l'activité Antimicrobienne :

F. Préparation de l'inoculum:

Ensemencement : dans le cas des bactéries l'ensemencement est réalisé dans le milieu LB. Dans le cas des levures, celles-ci sont ensemencées en milieu YPG (la constitution des milieux de cultures est donnée en annexe).

Après 24H d'incubation, une colonie de chaque souche (bactéries et levures) est prélevée à l'aide d'une anse stérile, et mise dans une suspension dans des tubes contenant 10ml d'eau physiologique stérile.

➤ Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antimicrobienne est réalisée par étalement de 100µl de chaque suspension microbienne (2 levures, 2 bactéries) dans une boîte de pétri préparée préalablement la veille avec le milieu de culture (YPG et LB) mélangé avec l'HE de cardamome avec différentes concentrations (20, 40, 60 et 80µl). Un témoin positif contenant uniquement la suspension bactérienne est également réalisé pour chaque milieu. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 30°C pendant 48h pour les levures, la lecture est réalisée après l'incubation.

III. Activité Antioxydante

1. Principe

La mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro des huiles essentielles de la cardamome a été réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH (Effet scavenger

du radical DPPH), qui fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure activité antioxydante (41).

Le DPPH (2,2 -diphényl -1- picrylhydrazyl) est un radical libre stable possédant un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Cette délocalisation empêche la polymérisation du composé, qui reste sous forme monomère relativement stable à température ambiante. Ainsi, cet état induit l'apparition d'une couleur bleue foncée caractéristique de la solution DPPH. Cette couleur disparaît en présence d'antioxydant lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle. L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents.

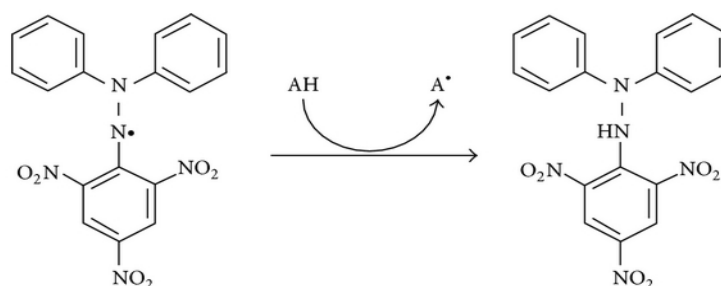


Figure 3: Mécanisme réactionnel du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant (AH).

2. Mode Opérateur

Le pouvoir antiradicalaire a été testé en employant la méthode dictée par Brand-Williams (43).

La méthode consiste à peser 40mg de DPPH et le solubiliser dans 100ml de méthanol absolue, le produit est agité pendant 30min et mis à l'obscurité pendant 3h. La conservation est à 4°C à l'abri de la lumière.

Une série de dilution du produit est effectuée (20µl, 40µl, 60µl, 80µl, 100µl) avec du méthanol, puis 100µl de chaque concentration est ajouté à 1ml du réactif DPPH. Les tubes sont agités et incubés à l'obscurité durant 30min. L'absorbance a été déterminée au spectrophotomètre à 517nm.

L'activité anti radicalaire (AAR) est estimée en pourcentage grâce à la formule :

$$\% AAR = \frac{D.O. \text{ controle} - D.O. \text{ échantillon}}{D.O. \text{ controle}} \times 100$$

La réalisation de la cinétique de cette activité a permis de déterminer les concentrations qui correspondent à 50% d'inhibition (IC50), la valeur d'IC50 la plus faible correspond à

l'efficacité de l'échantillon la plus élevée. La valeur d'IC50 est exprimée en mg/ml (mg équivalent Hydroxytoluène butylé (BHT) par ml).

IV. Dosages Biochimique

Pour les dosages des sucres réducteurs, protéines et polyphénols une gamme d'étalonnage correspondante a été préparée.

➤ Sucres réducteurs (Mayer)

Le dosage est effectué par une solution DNS préparé comme suite :

- 2g de DNS dans 40ml d'ED,
- +3,2g de NaOH dans 30ml d'ED,
- +60g de tartrate Na^+K^+ ,
- Qsp pour 200ml.

1ml de cette solution est ajouter a 1ml de l'extrait de plante dilué, une cascade de dilution est effectué puis les tubes sont placés au bain marie a 100°C pendant 20min,4ml d'ED sont ajoutés avant la lecture au spectrophotomètre à 540nm.

➤ Protéines (Biuret)

Pour 1ml d'échantillon on ajoute 4ml du réactif Gornall

- 1,5g de sulfate de cuivre,
- +6g de tartrate Na^+K^+ ,
- +30g d'hydroxyde de sodium,
- + 1g d'iodure de potassium,
- Qsp pour 1000ml.

On effectue une série de trois répétitions puis on incube pendant 30min, la lecture de la DO se fait à 540nm.

➤ Polyphénol (Li et al.2007)

On ajoute 0,5ml du réactif Folin-Ciocalteu à un 1ml de l'échantillon, puis 2,5ml d'une solution de carbonate de sodium (20%), une série de trois répétitions est effectuée, le mélange est ensuite homogénéisé et placé dans l'obscurité pendant 40min, l'absorbance est mesurée a une longueur d'ondes de 760nm.

Résultats et discussions

I. Dosage biochimiques

➤ Sucres réducteurs (Mayer)

La Cardamome est faible en sucres réducteurs, cela pourrait être dû à l'amidon qui n'est pas digéré. La plante contiendrait une faible activité amylasique.

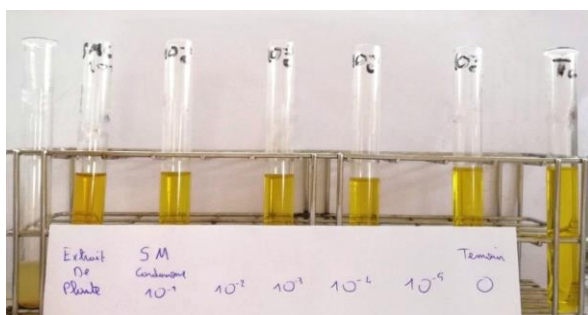
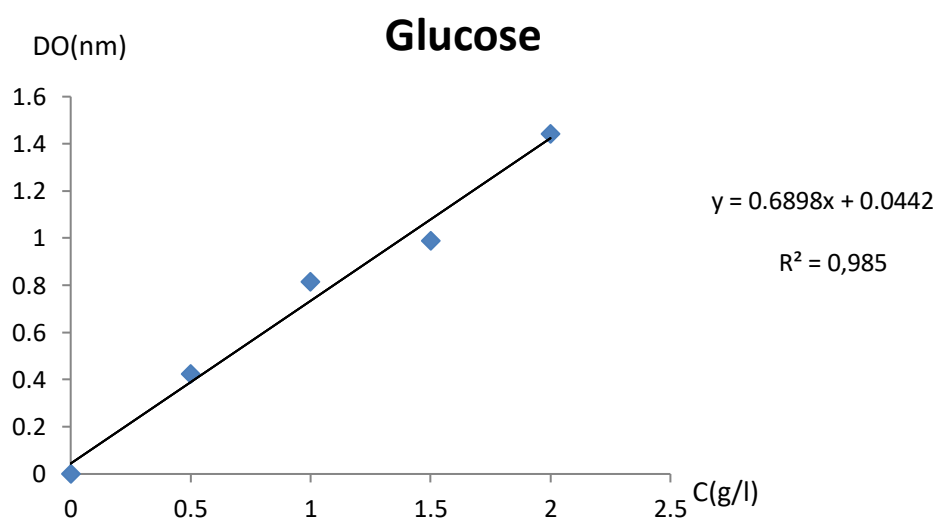


Tableau 3 : Concentrations de sucres réducteurs

| Dilution | Do nm | C g/l |
|-----------|-------|-------|
| 10^{-5} | 0,052 | 0,012 |
| 10^{-4} | 0,052 | 0,012 |
| 10^{-3} | 0,083 | 0,056 |
| 10^{-2} | 0,132 | 0,127 |
| 10^{-1} | 0,155 | 0,161 |

Figure 4: dosage des sucres réducteurs de la cardamome



Courbe 3 : Gamme d'étalonnage des sucres réducteurs

➤ **Protéines (Biuret)**

La Cardamome a une concentration en protéines de 0,032 g/l. ces résultats sont en accord avec l'étude faite par Hussain (39) qui explique que la cardamome ne contient que 10% de protéines, valeur qui varie selon l'espèce, l'origine de la plante et la méthode d'extraction. Elle dépend aussi d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (le climat, la période de récolte et les conditions de stockage).

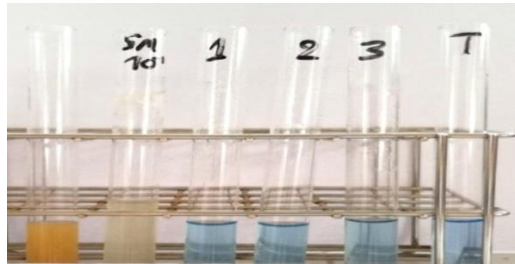
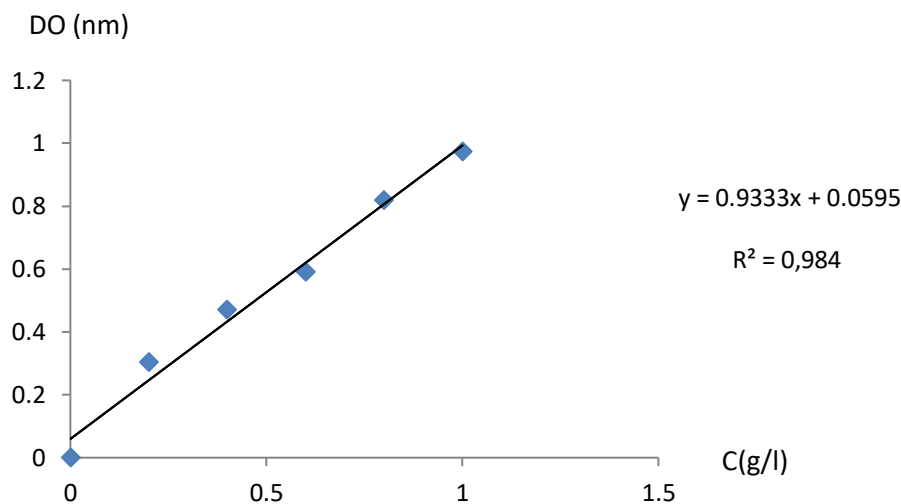


Figure 5: dosage des protéines de la cardamome

$$C = \frac{0,089 - 0,059}{0,933} = 0,032 \text{ g/l}$$

0,089 : La moyenne des DO



Courbe 4 : Gamme d'étalonnage des Protéines

➤ **Polyphénol (Li et al.2007)**

La cardamome est une plante riche en polyphénols, 241,85g/l. Une étude faite par Bhatti et al. (44) montre que les teneurs en polyphénols totaux d'extraits méthanoliques des fruits d'*E.cardamomum* est d'ordre de $166 \pm 0,05$ g EAG/l. Ces teneurs restent inférieures à nos résultats qui sont plus élevées. Les travaux réalisés par Sharafati-chaleshtor et Sharafati-Chaleshtori (45) sur l'extrait éthanolique et Kandikattua et al. (46) sur l'extrait hexanique des fruits d'*E.cardamomum* donnent des valeurs de $192,7 \pm 0,02$ mg EAG/l et $240 \pm 1,88$ mg EAG/l en polyphénols totaux. Les teneurs en composés phénoliques varient qualitativement et quantitativement dans la même plante ainsi d'une plante à une autre, cela peut être expliquée par l'origine de la plante et la méthode d'extraction(47), Elle dépend aussi d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (le climat, la période de récolte et les conditions de stockage) (48).

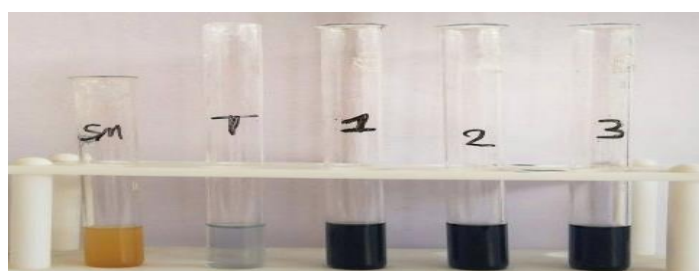
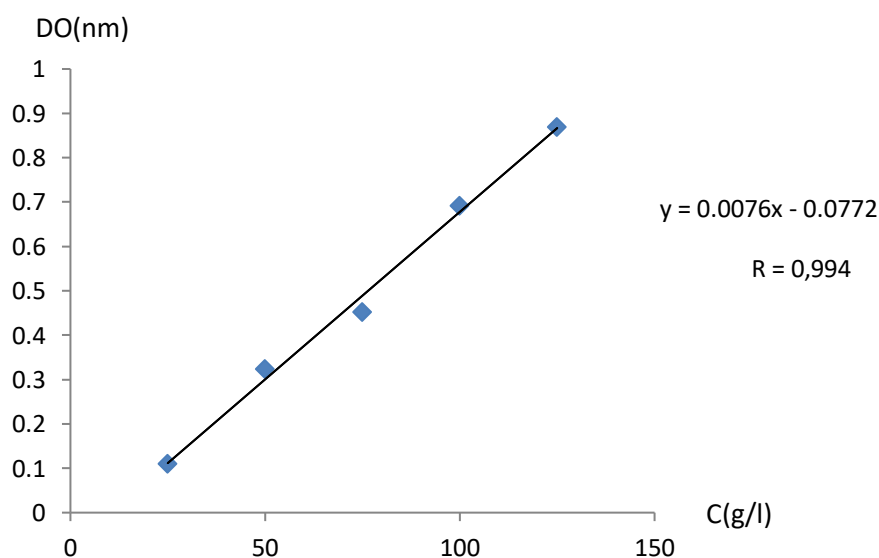


Figure 6: dosage des polyphénols de la cardamome

$$C = \frac{1.616 - 0.077}{0,007} = 241,85 \text{ g/l}$$



Courbe 5 : Gamme d'étalonnage des polyphénols

II. Activités antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Cardamome a été réalisée sur (deux levures et deux bactéries) est regroupé dans les tableaux suivant :

Les résultats de cette activité antimicrobienne sont enregistrés dans les tableaux 2, 3 et 4. D'après les valeurs, il ressort que les levures présentent une sensibilité à cette huile essentielle, alors que les bactéries sont plutôt résistantes. Le diamètre des UFC ainsi que leurs nombre diminue en augmentant la concentration de l'HE pour les levures, contrairement aux bactéries le tapis est relativement moins dense mais la charge est toujours aussi importante.

D'après nos résultats, l'huile essentielle de Cardamome exercerait un effet antimicrobien important sur les levures, mais très faibles ou presque absent sur les bactéries. Ces résultats sont en accord avec l'étude faites par K.R.Aneja et Radhika Joshi (49) qui démontre que la cardamome a un effet antimicrobien sur les souches (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*).

Tableau 4 : Activité antimicrobienne sur les bactéries des huiles essentielles de Cardamome


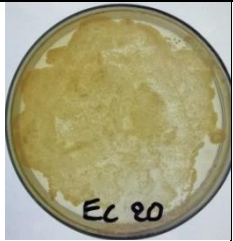
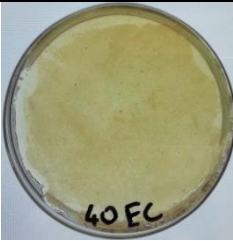







| Souches | Temoin | 20µl | 40µl | 60µl | 80µl |
|-----------------|---|---|---|--|---|
| <i>E.Coli</i> |  |  |  |  |  |
| <i>S.aureus</i> |  |  |  |  |  |

Tableau 5 : Activité antimicrobienne sur les levures des huiles essentielles de Cardamome

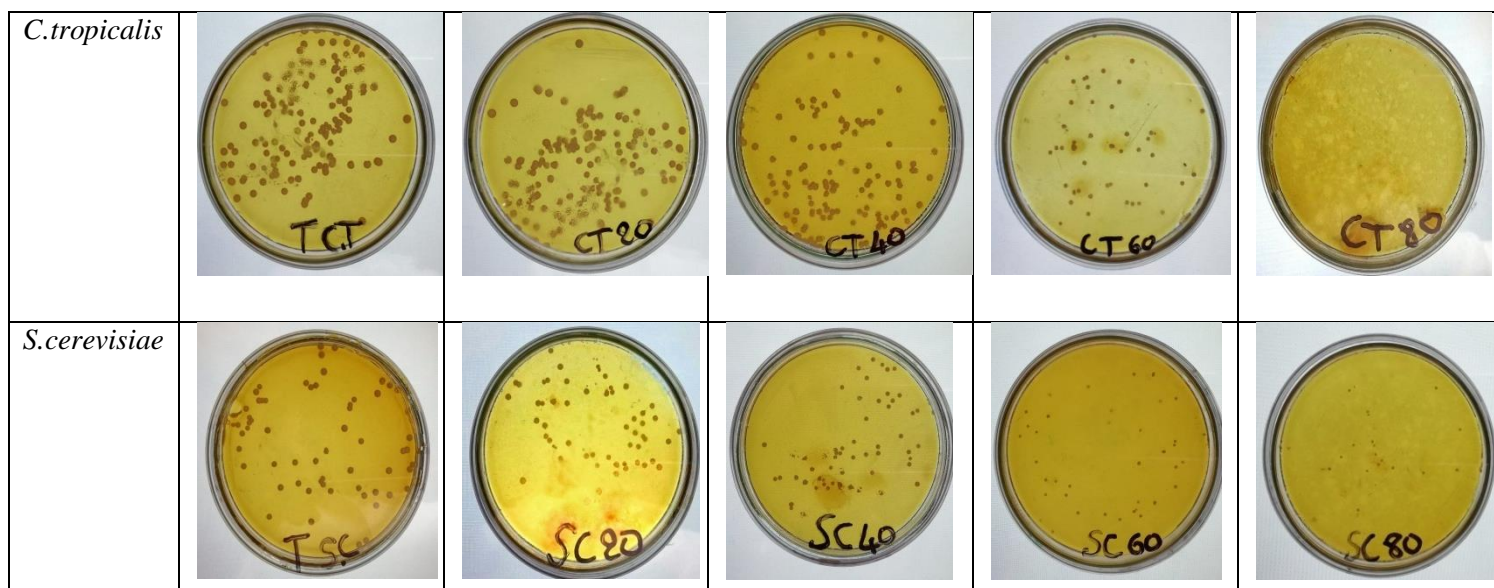


Tableau 6 : Etude quantitative de l'activité antimicrobienne

| Souches | T | | 20µl | | 40 µl | | 60 µl | | 80 µl | |
|---------------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|
| | Diamètre UFC | Nombre UFC | Diamètre UFC | Nombre UFC | Diamètre UFC | Nombre UFC | Diamètre UFC | Nombre UFC | Diamètre UFC | Nombre UFC |
| <i>C.tropicalis</i> | 3mm | 135 | 3mm | 123 | 2mm | 114 | 1,5mm | 47 | 0,5mm | 1 |
| <i>S.cerevisiae</i> | 3,2mm | 62 | 2,5mm | 55 | 1,5mm | 59 | 1mm | 37 | 0,7mm | 20 |
| <i>E.coli</i> | Tapis | | Tapis | | Tapis | | Tapis | | Tapis | |
| <i>S.aureus</i> | Tapis | | Tapis | | Tapis | | Tapis | | Tapis | |

III. Activités anti-oxydante

Le DPPH est un radical libre nous permettant de déterminer le potentiel de piégeage de nos huiles essentielles grâce à sa sensibilité à détecter les composants actifs à des basses concentrations. L'activité anti radicalaire a été estimée par spectrophotométrie en suivant la réduction du DPPH à 517nm. Les figures 7 et 8 illustrent l'efficacité des huiles essentielles et du BHT à piéger le radical DPPH, traduite par le taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations. D'après les résultats, l'évolution de l'activité anti radicalaire est dose-dépendante, car elle augmente avec l'augmentation des concentrations des huiles essentielles dans le milieu réactionnel.

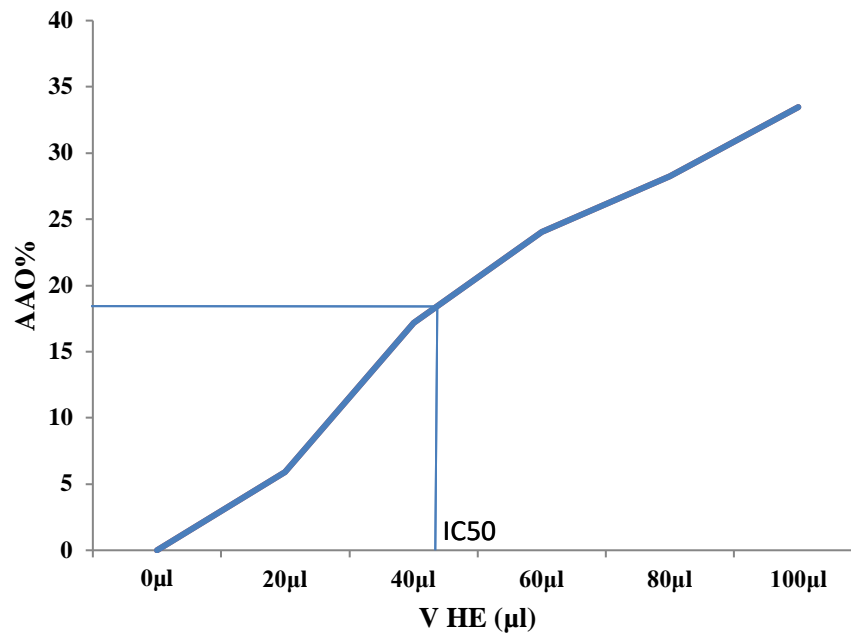


Figure 7 : activité anti-oxydante de l'HE de Cardamome

| | |
|------------------|-------------|
| IC 50 (mg/ml) HE | 0,045± 0,03 |
|------------------|-------------|

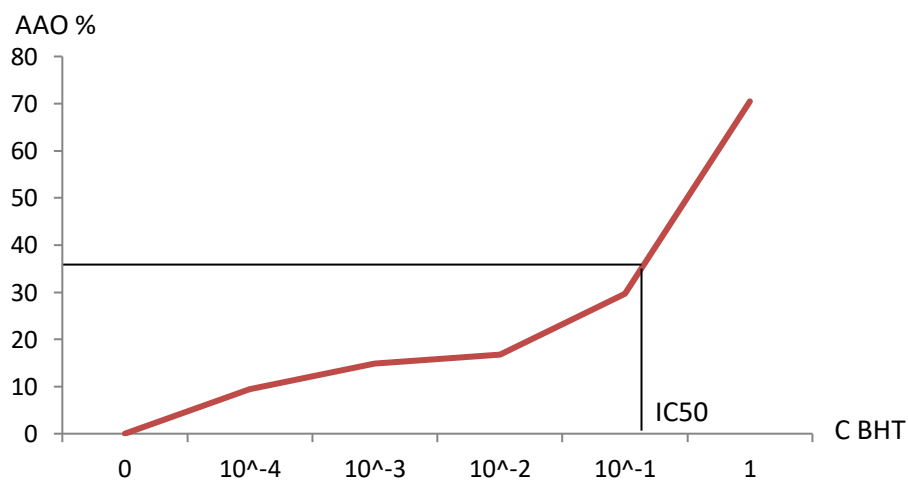


Figure 8 : Activité anti-oxydante de BHT

(Chaque valeur représente la moyenne de trois essais)

| | |
|-------------------|------------|
| IC 50 (mg/ml) BHT | 0.12± 0,02 |
|-------------------|------------|

A partir des courbes des taux d'inhibition, nous avons pu déduire graphiquement les valeurs d'IC50 du BHT et de l'HE. La valeur de L'IC50 est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante (taux d'inhibition I%) d'un composé, car elle reflète la quantité d'antioxydant requise pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre dans le milieu. Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité antiradicalaire d'un composé est appréciable.

Le potentiel antiradicalaire global de l'huile essentielle, de l'ordre de $45 \pm 0,03 \mu\text{g/ml}$ est inférieur à celui du BHT dont l'IC50 est de l'ordre de $120 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$.

Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Sultana et *al.* (50) où l'IC50 est de 217,431 $\mu\text{g/mL}$ pour l'extrait méthanolique. L'activité antioxydante des extraits est relativement dépendante de la teneur en composés phénoliques (50).

Conclusion

Le choix de notre plante Cardamome : s'est basé surtout sur son utilisation fréquente en oncologie. Notre étude a visé à découvrir les effets, son activité antioxydante et antimicrobienne et la composition chimique de cette plante.

Après avoir effectuer ces différents tests, nous avons pu conclure que la Cardamome *Elettaria Cardamomum* est une plante qui est faible en sucres réducteurs et en protéines mais riche en polyphénols, il s'avère aussi que cette plante a une faible action antimicrobienne contre les souches utilisé (*Escherchia coli*, *Staphylococcus aureus*) contrairement aux levures (*Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*) où l'activité est nettement visible.

L'activité anti-oxydante de la Cardamome est trop élevée c'est d'ailleurs la raison pour la quelle cette plante est souvent utilisé pour les traitements contre les cancers.

Références Bibliographiques

1-Tsabang N, Ngah N, Estella FT, Agbor G. Herbal medicine and treatment of diabetes in africa: case study in Cameroon. Diabetes Case Reports. 2016:1-6.

1-Ajlan A. Medicinal Plants: A Review. Natural Products: An Indian Journal. 871 2016 12.

2-Silva N, Fernandes Júnior A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases. 2010 16:402-13.

3-Mendam K, Kavitha B, Naik SJK. Natural 872 sources used for treatment and prevention of filariasis World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2015 3:1634-52.

4-Awaad AS, Al-Jaber NA. Antioxidant natural plant. RPMP Ethnomedicine: Source & Mechanism. 2010 27:1-35.

5-Hassan BAR. Medicinal plants (importance and uses). Pharmaceutica Analytica Acta. 2013 2012.

6-Awaad AS. Flavonoids of *Bidens bipinnata* and their Antioxidant Activity. J King Saud Univ. 2009 21:1839 .

7-AFNOR (norme NF T 75-006) (Association Française de Normalisation, Huiles Essentielles, Tome 2, Monographies relatives aux huiles essentielles. 6eme édition. AFNOR, Paris, 2000.

8-CARETTE A-S, épouse Delacour, La lavande et son huile essentielle. Thèse de doctorat, 2000.

9-EMDE (1921) Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms.

10-BOYOM (1992) Faculty of Science, University of Yaoundé I, Yaoundé, Cameroon

11-(PIOCHON, 2008) Etude Des Huiles Essentielles D'espèces Végétales De La Flore Laurentienne : Composition Chimique, Activités Pharmacologique Et Hémi-Synthèse : août 2008.

12-(Besombes.C, 2008) Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécaniques d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat, 2008

13-(HERZI Nejia, 2013) Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles.

14-(Gabriel Benalloul et Laurence Argueyrolles) inventaire du patrimoine industriel des parfumeries de Grasse.

15-(Farhat.A, 2010) Vapo-Diffusion assistée par Micro-ondes : Conception, Optimisation et Application. 2010.

16-(Craveiro et al. 1989) Microwave oven extraction of an essential oil

17-(Stashenko et al.2004)

- 18-** Tomao V, Ginies C, Visinoni F, Chemat F.2008. Microwave-integrated extraction of total fats and oils
- 19-** Okoh, Sadimenko AP, Afolayan AJ. Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis L.* obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. Food Chem. (2010); 120:308–312. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.09.084.
- 21-** (Lucchesie, 2004) Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation.
- 22-**(Veillet S., Tomao V. & Chemat F.) Ultrasound Assisted Extraction of aromas ans antioxiants. Dans F.Chemat (Ed) Essential oil ans aromas green extractions ans applications, HKB, New Delhi, Inde (2009).
- 23-**(Lagunez.R. L ; Etudes De L'Extraction De Métabolites Secondaires De Différentes Matières Végétales En Réacteur Chauffe Par Induction Thermomagnétique Directe ; thèse doctorat 2006.
- 24-**Baser KHC. & Buchbauer G., 2010. Handbook of Essential oils: Science, Technology and Applications.CRC Press. UK
- 25-**Bruneton J., 1993 Pharmacognosy. Phytochemistry .Plants medicinales.2ème editionTEC &DOC-Lavoisier. Paris. 406-417
- 26-**Bruneton J., 1999 pharmacognosies. Phytochimie des plantes médicinales. 2ème édition .technique et documentation Lavoisier .Paris 915 p.
- 27-** Engonga, 2009. Mitracarpus frigidus aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects. *Bioresource technology*, 100, 428-433.
- 28-**Burt.S, Essentiel oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review international journal of food microbiology 94(2004) 223-253.
- 29-**Guinoiseau.E, 2010. Molécules, antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat de l'université de Corse, option : Biochimie-Biologie Moléculaire, France.50p
- 30-**Wendakoon, C.N.et Sakaguchi M. 1995; Inhibition of amino acid decarboxylase activity of Enterobacter aerogens by active components in spices.J.of food protection.58; 280-283.
- 31-**Tsuchiya H.,Sato M. , Miyazaki T., Fujiwana S., Tanigaki S., Ohyama M., Tanaka T., Linuma M.,1996. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J.Ethnopharmacol.50 :27-34.
- 32-**Hammer KA., Carson CF., Riley TV., 1999.Antimicrobial activity of essential oilsand other plant extracts. J. Appl. Microbiol. 86 : 985-990.
- 33-**Daroui-Mokaddem H., 2011. Etude phytochimique et biologique des especes : Eucalyptus globulus (Myrtaceae), Smyrnum olusatrum (Apiaceae), Asteriscus maritimus et Chrysanthemum trifurcatum (Asterarceae).Thèse de doctorat. Option: Biochimie appliqué.Université Badji-Mokhtar, Annaba.
- 34-**Johansen C., Verheul Gram L., Abee T., 1997. Protamine-induced permeabilization of cell envelopes of gram-positive & gram-negative bacteria, App. Env. Microbio.63 :1155-1159.

- 35-**Kurita N., Myaji M., Kurane R., Takahara Y., Ichimara K., 1979. Antifungal activity & molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants. *Agric. Boil. Chem.* 43 :2365-2371.
- 36-**Madhavi DL., Deshpande SS., Salunkhe DK., 1996. Food antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. 65p
- 37-**Kohen R. et Nyska A., 2002. Oxidation of biological systems; oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology.* 30 :620-650
- 38-**Hussain AL., Anwar F., Chatha SAS., Jabbar A., Mahboob S., Nigam PS., 2010. Rosmarinus officinalis essential oil : antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology.* 41 :1070-1078.
- 39-**Hussain AL., 2009. Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae. Thèse de doctorat. Pakistan. 257p. Maton L., Petite cardamome - *Elettaria cardamomum*
- 40-**Yann G., Olivier G., Carine C., consultants en autonomie agro-écologique pour l'ADAAE-ASE ; ADAAE MAGAZINE p6.
- 41-**Seidemann, J. (2005). World spice plants. Springer, pp. 115-253.
- 42-**Cronquist, A. (1981). An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Colombia. University Press. New York: 1753.
- 43-**Brand-williams W., Cuvelier M., Berset C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie.* 28 :25-30
- 44-**Bhatti, H. N., Zafar, F., Jamal, M. A. (2010). Evaluation of phenolic contents and antioxidant potential of methanolic extracts of green cardamom (*Elettaria cardamomum*). *Asian Journal of Chemistry*, 22, 4787.
- 45-**Sharafati-Chaleshtor, F., & Sharafati-Chaleshtori, R. (2017). In vitro antibacterial and antioxidant properties of *Elettaria cardamomum* Maton extract and its effects, incorporated with chitosan, on storage time of lamb meat. *Veterinarski arhiv*, 87, 301- 315.
- 46-** Kandikattu, H. K., Rachitha, P., Jayashree, G. V., Krupashree, K., Sukhith, M., Majid, A., Khanum, F. (2017). Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of Cardamom (*Elettaria repens* (Sonn.) Baill) and its phytochemical analysis by 4DGXGC TOF-MS. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 91, 191-201.
- 47-**Djeridane, A., Hamdi, A., Bensania, W., Cheifa, K., Lakhdari, I., Yousfi, M. (2015). The in vitro evaluation of antioxidative activity, α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory of natural phenolic extracts. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 9, 324-331.
- 48-**Podsędek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables : A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 1-11.
- 49-**K.R.Aneja and Radhika Joshi 2009 Antimicrobial Activity of *Amomum subulatum* and *Elettaria cardamomum* Against Dental Caries Causing Microorganisms

50-Sultana, S., Ripa, F. A., Hamid, K. (2010). Comparative antioxidant activity study of some commonly used spices in Bangladesh. Pakistan Journal of Biological Sciences, 13, 340.

Annexe

Préparation des milieux YPG et LB (1L) :

❖ Milieu YPG

- ✓ 10g d'extrait de Levures
- ✓ 10g de Peptone
- ✓ 20g de Glucose
- ✓ 17g d'Agar

❖ Milieu LB

- ✓ 5g d'extrait de Levure
- ✓ 1g de Peptone
- ✓ 1g NaCl
- ✓ 17g d'Agar