



**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 & antioxydante de l'huile  
essentielle du Marrube Blanc (*Marrubium vulgare* L.)**

**Présenté par : BOUI Maryem**

**Encadré par : Pr. Faouzi ERRACHIDI (FST Fès)**

**Pr. Rachida CHABIR (FMP Fès)**

**Soutenu le : 11/06/2018**

**Devant le jury composé de :**

- **Pr. Rachid BENCHEIKH**
- **Pr. Faouzi ERRACHIDI**
- **Pr. Rachida CHABIR**

**Stage effectué à : Faculté des Sciences et Techniques de Fès**

**Année universitaire 2018-2019**

## Résumé

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation des activités biologiques (antimicrobienne et antioxydante) des huiles essentielles d'une plante médicinales (Le Marrube) *Marrubium vulgare*. Les résultats obtenus montrent que cette huile essentielle présente un effet antimicrobien sur quatre souches différentes, deux bactéries (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*) et deux levures (*Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*) et exhibe un effet antioxydant similaire à celui de l'acide ascorbique (antioxydant témoin).

**Mots clé :** *Marrubium vulgare*, huile essentielle, antimicrobienne et antioxydante.

## Abstract

The present work is part of the evaluation of biological activities (antimicrobial and antioxidant) of a medicinal plant (Marrube Blanc) *Marrubium vulgare*. The results obtained show that our essential oil has an antimicrobial effect on four different stumps of bacteria (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*) and exhibits an antioxidant effect similar to that of ascorbique acid (antioxidant reference).

**Keys words:** Antimicrobial, Antioxidant, *Marrubium vulgare* et essential oil

## ملخص

هذا العمل هو جزء من تقييم الأنشطة البيولوجية للزيوت الطيارة (مضادات الميكروبات ومضادات الأكسدة) الموجودة في النبتة الطبية (كلب الصيد) *Marrubium vulgare*. تظهر النتائج أن هذه الزيوت الأساسية لها تأثير مضاد للميكروبات على أربع سلالات مختلفة من الكائنات الدقيقة (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*) ويظهر تأثير مضاد للأكسدة شبيه بتأثير حمض الاسكوريك (مرجع مضاد للأكسدة).

# **REMERCIEMENT**

Le présent travail est le témoignage de ma reconnaissance et ma profonde gratitude envers mes professeurs encadrants : **Pr. Faouzi ERRACHIDI** de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès. A **Pr. Rachida CHABIR** de la Faculté de Médecine et de Pharmacie 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.

J'adresse mes remerciements au **Pr. Lahsen EL GHADRAOUI** pour l'opportunité d'effectuer mon stage au sein du laboratoire d'Ecologie Fonctionnel et Environnement (EFE) qu'il supervise, ce qui m'a permis de découvrir le monde de la recherche et la connaissance de nouvelles personnes.

J'exprime également ma gratitude aux membres de jury **Pr. Rachid BENCHEIKH** d'avoir accepté de juger mon travail.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également aux doctorantes **Meryem BENIDIR** et **Soukaina EL MASSOUDI** pour leurs aides et leurs soutiens.

Je remercie du fond du cœur **FASSI FIGHRI Réda** et **SETTINI Khalid** à leur aide.

Merci.

# DEDICACES

Je dédie le présent travail en premier lieu à mes parents, *Boui Abdelkader et*

*Bencheikh Aziza*, envers lesquels je suis infiniment reconnaissante pour leur soutien,

leurs encouragements et leur bienveillance. Je ne pourrai trouver les mots pour exprimer ma  
gratitude envers eux.

A mes frères et sœur Yousra, Zakaria et Mohammed, qui ont été tout au long de mon parcours  
un modèle de persévérance, de patience et d'excellence.

A mes tantes et mon oncle bien aimés, qui grâce à leur amour et leurs conseils j'en suis  
arrivée là.

A tous mes ami(e)s Zineb, Majda, Khalid, Reda, Salma, Mourad, Ahlam, Mouhsin,  
Mohamed, Fedwa, Hassan, Fatimzahrae, Zineb... qui ont été toujours présent pour moi,

A mes collègues du laboratoire Hamza, Mbarek, Mohammed, Khaoila, Dounia, Rajae,  
Zineb... pour leur soutien et leur aide...

## Figures

**Figures 1:** Le matériel végétal utilisé (*Marrubium vulgare*)

**Figure 2 :** Plante broyé

**Figure 3:** Plante fraîche nettoyé

**Figure 4:** Système d'extraction des huiles essentielles du *M.vulgare*

**Figure 6:** Courbe d'étalonnage de la capacité antioxydante totale (CAT)

**Figure 7 :** Capacité antioxydante totale (CAT) du *Marrubium vulgare* et *Eucalyptus globulus*.

## Tableaux

**Tableau 1 :** Les tubes de la gamme d'étalonnage de la capacité anti-oxydante totale

**Tableau 2 :** Pourcentage des composés de l'HE des composés de l'HE du *Marrubium vulgare*

**Tableau 3 :** Composition de l'HE du *M.vulgare* dans des différents pays.

**Tableau 4 :** Activité anti microbienne de l'huile essentielle de Marrube sur 2 souches bactériennes

**Tableau 5 :** Activité anti microbienne de l'huile essentielle de Marrube sur 2 souches de levures

**Tableau 6 :** Etude quantitative de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *m.vulgare*.

## Liste des abréviations

**M.vulgare :** *Marrubium vulgare*

**ED :** Eau Distillée

**HD :** hydro-distillation

**HE :** Huile Essentielle

**CAT :** capacité anti-oxydante totale

# SOMMAIRE

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Etude bibliographique</b> .....	2
I- Les Huiles essentielles.....	3
1- Définition des huiles essentielles.....	3
2- Répartition, localisation des huiles essentielles dans les plantes.....	3
3- Composition chimique des huiles essentielles.....	3
a- Les terpènes.....	4
b- Les composés aromatiques.....	4
II- Les huiles essentielles du <i>Marrubium vulgare</i> L.....	4
1- <i>Marrubium vulgare</i> L.....	4
a- Historique.....	4
b- Taxonomie.....	5
c- Description botanique.....	5
d- Composition chimique.....	5
e- Répartition géographique.....	5
f- Usage traditionnels.....	5
g- Toxicité.....	6
2- Huiles essentielles de <i>Marrubium vulgare</i> .....	6
2.1- extraction des huiles essentielles.....	7
a- La distillation.....	7
i. Hydrodistillation (HD).....	7
ii. Entraînement à la vapeur d'eau.....	7
III- Activités biologiques.....	7
1- Activité anti-oxydante.....	7
a- Les radicaux libres.....	7
b- Les antioxydants.....	8
2- Activité antimicrobienne.....	8
a- Activité antibactérienne.....	8
b- Activité antifongique.....	9
<b>Matériels et méthodes</b> .....	10
I- Matériel végétal.....	11
II- Méthodes utilisés.....	12
1- Hydrodistillation.....	12
2- La teneur en eau.....	14
3- Activité antimicrobienne.....	14
a- Microorganismes testés.....	14
b- Préparation de l'inoculum.....	14
c- Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	14
4- Capacité antioxydant totale (CAT).....	15
a- Principe.....	15
b- Mode opératoire.....	15
<b>Résultats et discussion</b> .....	16
I- Rendement et composition des HEs extraites par hydrodistillation.....	17
II- Activités antioxydant.....	25
III- Activités antimicrobienne.....	27
IV- La teneur en eau.....	28
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	29

# INTRODUCTION

Depuis des milliers d'années, l'Homme a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (Alessandra, 2008).

De nos jours entre 20000 et 25000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée internationale, 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au-moins une molécule active d'origine végétale, l'un des produits d'extraction d'origine végétale se trouve les substances qui ont la forme galénique, et plus précisément ce qu'on appelle « les Huiles Essentielles » ou « Essences » (FAO, 2003).

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux.

La popularité dont jouissent depuis longtemps les huiles essentielles et les plantes aromatiques en général reste liée à leurs propriétés médicinales en l'occurrence les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, bactéricides, antitoxiques, insecticides, tonifiantes, stimulantes, et calmantes. (Hubert, 2005).

Le continent Africain est doté d'une biodiversité végétale parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé des plantes utilisées comme médicament, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques, de nombreuses substances naturelles ont été identifiées et beaucoup d'entre elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies (Majinda et *al.*, 2001). Mais il y a eu peu d'efforts qui sont consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes (Millago et *al.*, 2005).

# **ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

# **I. Les Huiles essentielles**

## **1. Définition des huiles essentielles**

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante. La norme Afnor NF t 75-006 définit l'huile essentielle comme: « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

Ce sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement forte, extraite à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression, par solvants ou par les techniques d'extractions récentes comme l'extraction par le procédé assisté par micro-ondes ou encore par extraction au fluide supercritique. Les huiles essentielles sont aussi connues sous les noms d'huiles volatiles, d'huiles entériques ou encore essences. Elles se différencient des huiles fixes par leurs caractères physiques et leurs compositions chimiques (Bruneton, 1993). Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante. Les produits obtenus par extraction avec d'autres procédés ne sont pas repris dans la définition d'huile essentielle donnée par la norme de l'Association Française de Normalisation (Afnor, 2000).

## **2. Répartition, Localisation des huiles essentielles dans les plantes**

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante telles que: les fleurs, les feuilles, les organes souterrains, les fruits, les graines, le bois et les écorces; elles se forment dans le cytoplasme de certaines cellules végétales spécialisées (ElKalamounni, 2010).

## **3. Composition chimique des huiles essentielles**

Les huiles essentielles contiennent un nombre considérable de familles biochimiques (chénotypes) incluant les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les mono-terpènes, les sesquiterpènes, les cétones, les aldéhydes. (Binet et brunel, 2000). Les constituants des huiles essentielles appartiennent de façon quasi exclusive à deux groupes: Les terpènes, et les composés aromatiques dérivés de phényle propane beaucoup moins fréquents (Bruneton, 1999).

### a. Les terpènes

Les terpènes sont les composants les plus abondants dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999). Ils sont subdivisés en deux classes : les mono et les sesquiterpènes.

### b. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Ils appartiennent aux différentes classes de la chimie organique : hydrocarbures, alcools, aldéhydes (Billerbeck et *al.*, 2007). Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car Ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des HES (Kunle et Okogun, 2003).

## II. Les huiles essentielles du *Marrubium vulgare*

### 1. *Marrubium vulgare*

Les noms donnés à la plante sont les suivants : en Maroc elle est connue par le nom Merrîwt (Novak et *al.*, 1997), Marriouth en Algérie (Al kadi, 1989), Marroubia en Tunisie (Bellakhdar, 1997). En Anglais : Harehound, en Italien : Marrubio. Selon (Quezel et santa, 1962, 1963), le Marrube est composé de deux mots hébreux : mar, rob, suc amer.

### a. Historique

Connu depuis la plus haute antiquité, les égyptiens l'utilisèrent, comme principal ingrédient, dans un antidote des poisons végétaux. Elle était déjà considérée comme le spécifique des affections de l'appareil respiratoire dans l'Égypte et la Grèce anciennes. Le Moyen Age, qui l'employait couramment dans le traitement des mêmes maux, l'a de surcroît reconnu tonique, cholagogue et diurétique. Elle est considérée par J.-E (Gilibert, 1798) comme « l'une des meilleures plantes d'Europe » (Schlempher et *al.*, 1996).

### b. Taxonomie

**Règne:** Végétal

**Classe:** Magnoliopsida

**Ordre:** Lamiales

**Famille:** Lamiaceae

**Genre:** Marrubium

**Espèce:** M. vulgare

**Nom binomial:** M. vulgare

**Nom vernaculaire:** Merriwt

### **c. Description botanique**

D'après (2003), *Marrubium vulgare* est une plante herbacée de 30 à 60 cm de haut. Calice à 10 dents tiges quadrangulaires et dont les feuilles obovales, vert jaunâtre à la face supérieure et vert blanchâtre à la face inférieure (d'où le nom), possèdent un bord crénelé et dentelé. De nombreuses fleurs blanches. Les fragments de feuilles ridés, pétiolés, à limbe ovaleorbiculaire, cordiformes et irrégulièrement crénelés, adhèrent les uns aux autres et sont tomenteux sur la face inférieure. Des fragments de tige feuillus et fleuris, quadrangulaire, sont recouverts de poils duveteux. Des petites fleurs blanches sont présentes, en verticilles axillaires nombreux, compacts et espacés sur les tiges des fragments de sépales cotonneux et recourbés sont bordés de crénelures et accompagnés quelquefois d'akènes noirs, triangulaires.

### **d. Composition chimique**

Le marrube contient un principe amer (la marrubine à 0.3%), de la choline (0.2 %), des hétérosides, des traces d'une huile essentielle (0.05%), un tanin (2.6 à 2.9%), une cire contenant des stérols, beaucoup de nitrates et de fer (Mr Hyerisam, 2013). Cette plante possède des lactones diterpéniques, tels que: la marrubiine, prémarrubiine, pérégrinol, vulgatol, marrubénol, marrubiol,... Le marrube blanc contient, en outre, des minéraux tels que: le potassium et surtout beaucoup de fer. Elle présente également un certain taux de composés azotés caractéristiques de sa famille, tels que: choline, stachydrine, bétonicine... On retrouve également des saponosides, des flavonoïdes (Hétérosides flavoniques et flavonoliques du quercétol, de la lutéoline et de l'apigénine, lactoylflavones, dérivés de l'acide ursolique), des mucilages, des résines, un peu d'huile essentielle (alpha-pinène, camphène, limonène, sabinène, para-cymène, para-fenchène,...) et des tannins.

### **e. Répartition géographique**

Cette plante est commune dans toute l'Algérie et presque dans toute l'Europe en dehors de l'extrême Nord, Australie et New Zélande (Baba aissa, 1999). Elle se trouve aussi au Maroc et en Tunisie, surtout en région méditerranéenne (Bonnier, 1990).

### **f. Usages traditionnels**

Cette plante possède les propriétés suivantes : tonique amer, expectorant, fluidifiant des sécrétions bronchiques, dépuratif, cholérétique, diurétique, tonocardiaque, fébrifuge...

C'est la marrubiine, molécule présente dans la plante, qui est amère et expectorante

Les usages traditionnels de *marrubium vulgare* qui en découlent sont donc nombreux :

- ✚ Toux (depuis l’Egypte ancienne). Bronchites, asthme, rhume (notamment dans la médecine ayurvédique et la médecine amérindienne).
- ✚ Anti-inflammatoire (en particulier inflammation des voies respiratoires).les propriétés anti-inflammatoires ont été mises en évidence par (Sahpaz S et al., 2002) .
- ✚ Désordres intestinaux : propriétés antispasmodique des fibres musculaires lisses, activité démontrée par (Schlemper V et al., 1996).
- ✚ Cholérétique (augmentation de la sécrétion biliaire).cette propriété est due à l’acide marrubique qui est obtenue par ouverture de la fonction lactonique de la marrubine en Alcalin.
- ✚ Dyspepsie (utilisation reconnue en Allemagne par la commission E, comité scientifique spécialisé en phytothérapie dans ce pays).
- ✚ Manque d’appétit (utilisation reconnue en Allemagne par la commission E)
- ✚ Diabète (utilisation dans plusieurs pays et plus particulièrement au Mexique).
- ✚ Antimicrobien.
- ✚ Diurétique.
- ✚ Fièvre.
- ✚ En cas de règles douloureuses.
- ✚ Arythmie cardiaque : les principes actifs responsables sont l’acide caféique, l’acide chlorogénique mais aussi d’autres composants non identifiés (Cowan, M.M, 1999). La plante est présente pour avoir des effets chronotrope négatif. Bathmotrope négatif et des propriétés Parasympatholytiques (Suffly S et al., 2003).
- ✚ Obésité.
- ✚ Vermifuge et insecticide : cette dernière propriété est démontrée par (Pavela R, 2004).

#### **g. Toxicité**

C’est une plante amère à caractère salin et ne peut donc pas être toléré s’il y a une gastroentérite ou des situations de nausées ou de vomissements ou encore en cas de dyspepsie (Aouadhi, 2010).

## **2. Huiles essentielles de *Marrubium vulgare***

Caractéristiques organoleptiques :

Les parties utilisées pour extraire l’huile essentielles sont les sommités fleuries et les feuilles. L’huile essentielle de *Marrubium vulgare* L est d’une odeur forte et fétide avec une saveur aromatique, amère et acre (Schlemper et al., 1996).

## **2.1 Extraction des huiles essentielles**

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 (Besombes.C, 2008). Parmi les méthodes d'extraction nous citons :

### **a. 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, 2008) sont : hydrodistillation, hydrodiffusion et entraînement à la vapeur d'eau.

### **b. 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.

### **c. 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 (Herzi Nejia 2013).

## **III. Activités Biologiques**

### **1. Activité Anti-oxydante**

#### **a. Les radicaux libres**

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se réappairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne (Dacosta, 2003).

## **b. Les antioxydants**

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS (reactiveoxygenspecies). Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003). Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (Favier, 2006). De nos jours, il existe un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres, ceci est dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme et à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire (Guinebert et *al.*, 2005).

## **2. Activité Antimicrobienne**

### **a- Activité 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*, *Shigella dysenteria*, *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 (Burt, 2004). 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 (Guinoiseau, 2010). 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 (Wendakoon et *al.*, 1995), (Tsuchiya et *al.*, 1996) . 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 (Tsuchiya et *al.*, 1996), (Hammer et *al.*, 1999). 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 (Daroui-Mokaddem, (2011)).

### **b- Activité Antifongique**

Les essences sont connues pour agir sur un large spectre de levures et moisissures (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus sulphurens*, *Aspergillus fumigatus*, *Micorfragilus*) en inhibant la germination des spores, la croissance des levures, l'élongation du mycélium, 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 (Johansen et al., 1997).

# **MATERIEL ET METHODES**

## I. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est originaire des alentours de la ville de Fès(Maroc), il est représenté par : Les feuilles séchées qui sont achetées auprès d'un herboriste de la ville de Fès et des feuilles fraîches récoltées de la région de Ain Chkef à Fès.



**Figure1** : Le matériel végétal utilisé (*Marrubium vulgare*)  
a : Plante fraîche, b : Plante sèche

Une partie de la plante séchées est broyée à l'aide d'un broyeur électrique afin d'être utilisée par la suite. Ensuite la poudre obtenue ainsi que la plante séchée ont été conservées dans des flacons à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.



**Figure2** : Plante broyé

Par contre pour la plante fraîche elle a été directement lavée dès son arrivée pour qu'une moitié sert à l'hydrodistillation et l'autre moitié sert à calculer le bilan hydrique.



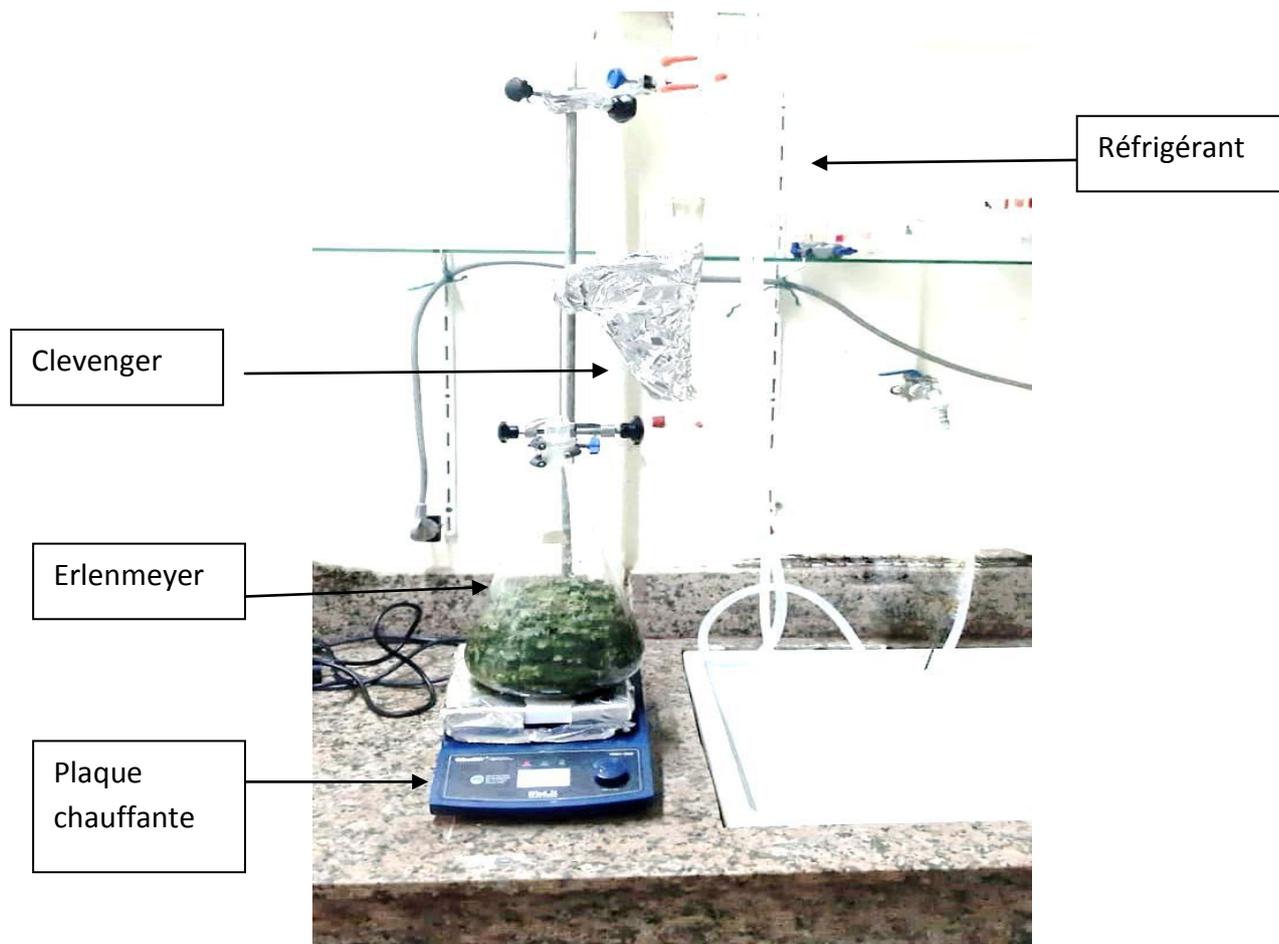
**Figure3:**Plante fraîche nettoyé

Le séchage a lieu à l'étuve à 60°C ou à l'air libre dans une salle aérée à l'ombre et à la température ambiante. Avant le séchage le poids du lot est déterminé il sert à la détermination de la teneur en eau de la plante et à surveiller le séchage.

## **II. Méthodes utilisés :**

### **1. Hydrodistillation :**

Les huiles Essentielles sont extraites par la méthode d'hydrodistillation et ça grâce à l'appareil de type Clevenger (1929). 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. 100g de la matière végétale sèche ont été mises dans un erlenmeyer contenant 600ml d'ED, puis l'installation est montée et le plaque-chauffante est mis en marche. L'Hydrodistillation dure 3h selon les normes internationnal. Les HE sont entraînés par les vapeurs d'eau et sont récupérées par simple décantation et conservées dans des tubes Eppandorfs hermétiquement fermés puis stockés dans un endroit à l'abri de la lumière (4°C). Le même mécanisme de l'hydrodistillation est répété avec 300g de la matière végétale fraîche dans un volume de 1500ml.



**Figure4** : Système d'extraction des huiles essentielles du *M.vulgare*

Le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$R \text{ (ml/100g)} = ((V/ms) * 100)$$

**R (ml/100g)** : Rendement en huiles essentielles exprimé en ml/100g

**ms** : Masse (en g) de la plante à l'état sec

**V** : Volume récupéré de l'huile essentielle (en ml)

## 2. La teneur en eau

La teneur en eau des feuilles a été déterminée par un séchage à l'étuve à 60°C jusqu'à poids constant. Avant le séchage, le poids du lot est déterminé ; il sert à calculer la teneur en eau de la plante et à surveiller le séchage. Elle est définie comme étant la perte de poids subie lors de la dessiccation (Audigié, 1978).

La détermination de la teneur en eau se fait par le calcul de la différence de poids avant et après la dessiccation selon la formule suivante :

$$H\% = (M1-M2)/PE \times 100$$

**H%** : Teneur en eau ;

**M1** : Poids de la capsule + échantillon avant dessiccation ;

**M2** : Poids de la capsule + échantillon après dessiccation ;

**PE** : La prise d'essai.

La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

$$MS \% = 100 - H\%$$

### 3. Activité antimicrobienne

#### a. Microorganismes testés

Les microorganismes testés sont :

- Deux souches bactériennes : *Escherchia coli* (à Gram -) et *Bacillus subtilis* (à Gram +),
- Deux souches levuriennes : *Candida tropicalis* et *Saccharomyces cerevisiae*

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

#### b. Préparation de l'inoculum

**Ensemencement** : Dans le cas des bactéries l'ensemencement est réalisé dans le milieu LB solide (Annexe 1) et dans le cas des levures, celles-ci sont ensemencées en milieu YPG solide (Annexe 2).

#### c. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antimicrobienne est réalisée par étalement de 100µl de chaque tube qui contient suspension microbienne, le milieu de culture liquide (LB et YPG) (Annexe 3) et des différentes concentrations de l'huile essentielle (5µl, 10µl, 15µl, 20µl) et un témoin positif contenant uniquement la suspension bactérienne est également réaliser 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.

## 4. Capacité Antioxydant Totale (CAT)

### a. Principe

La capacité antioxydant totale (CAT) des extraits des plantes est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (6) présent sous la forme d'ions molybdène  $\text{MoO}_4^{2-}$  à molybdène Mo (5)  $\text{MoO}^{2+}$  en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo (5) à pH acide (Prieto et al.,1999).

### b. Mode opératoire

La méthode consiste à ajouter 5µl de l'huile essentielle à 1ml du DMSO, 300µl du produit est mélangé avec 3ml de réactif du CAT (0,6M acide sulfurique, 28 mM de phosphate de sodium et 4mM de molybdate d'ammonium), qui est préalablement préparé, le tout est chauffé dans un bain marie à 95°C pendant 90min puis refroidissement. L'absorbance a été déterminée au spectrophotomètre à 695nm. La capacité antioxydant totale est exprimé en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS). La gamme d'étalonnage est préparée en ajoutant de 50mg l'acide ascorbique avec 50mg l'eau distillé, et une série de dilution est réalisé (0mg/ml, 0,25mg/ml, 0,5mg/ml, 0,75mg/ml, 1mg/ml), 300µl de chaque dilution est mélangé avec 3ml du réactif, incubé 90min dans un bain marie à 95°C, refroidissement 30min. La lecture de l'absorbance est réalisée à 695nm.

**Tableau1** : Les concentrations de la gamme d'étalonnage de la capacité anti-oxydante totale

Tubes	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
<b>Solution mère (ml)</b>	0,25	0,5	0,75	1
<b>Eau distillé (ml)</b>	0,75	0,5	0,25	0

# **RESULTATS ET DISCUSSION**

## **I. Rendement et composition des huiles essentielle extraites par hydrodistillation**

Pour la plante sèche et fraîche le rendement de l'HE était très faible (0,06%-0,1%). L'analyse chromatographique en phase gazeuse de l'huile essentielle du *Maruubium vulgare* sèche(S) est fraîche(F) révèle la présence de 24 composées (Tableau1), les composés majoritaires sont comme suit:

- ✓ Le pourcentage **du thymol** pour la plante à l'état frais égal 26,1% par contre à l'état sec le pourcentage était 25,8% ;
- ✓ **1-octen-3-ol** (9,5% F) et (9,53% S) ;
- ✓ **1-8 cineole** (7,8%F) et (7,31% S) ;
- ✓ **Germacrène D-4-ol** (7,63%F) et (7,59%) ;
- ✓ **Phytol** (7,2%F) et (6,54%S) ;
- ✓  **$\alpha$ -Farnesene** (6,7%F) et (6,41%S).

**Tableau 2:** Pourcentage des composées de l'huile essentielle du *Marrubium vulgare*.

<b>Composition</b>	<b>Maroc Fraiche</b>	<b>Maroc Sèche</b>
Trans-2-Hexanal	0,9	0,6
Heptanal	0,2	0,03
<b><math>\alpha</math>-Pinene</b>	<b>5,9</b>	<b>5,73</b>
Camphene	0,7	0,32
Sabinene	0,2	0,15
<b>1-Octen-3-ol</b>	<b>9,5</b>	<b>9,53</b>
Myrecene	0,8	0,52
Octanol-3	0,3	0,14
Dichlorobenzene	0,9	0,52
p-Cymene	3,2	3,1
<b>1-8-Cineole</b>	<b>7,82</b>	<b>7,31</b>
Camphor	1,83	1,4
Geraniol	2,92	2,62
Anethole	1,3	1,23
<b>Thymol</b>	<b>26,1</b>	<b>25,8</b>
$\alpha$ -Humulene	3,14	3,1
Germacrene D	2,45	2,42
<b><math>\alpha</math>-Farnesene</b>	<b>6,7</b>	<b>6,41</b>
$\gamma$ -cadinene	2,44	2,15
$\delta$ -Cadinene	3,47	3,18
<b>Germacrene D-4-ol</b>	<b>7,63</b>	<b>7,59</b>
Trans-cis-farnesylacetone	0,5	0,39
Tricosane	0,82	0,78
<b>Phytol</b>	<b>7,2</b>	<b>6,54</b>

Un groupe de recherche (Zawiślak, 2012) ont trouvé même résultat que les nôtres, avec un rendement de 0,06%. Selon le meme auteur Zawiślak, le nombre des composés identifiés de l'huile essentielle du *M.vulgareest* était 34. Asadipour et ses collaborateurs 2005 ont Indiqué la présence de 43 composés. Cependant, (Abadi et Hassani, 2013) ont identifiés 50 composés de l'huile essentielle du *M.vulgare*. Dans notre étude nous avons montré que le Thymol était le composé majoritaire dans la plante sèche avec un pourcentage de 25,8% par contre dans la plante fraiche le pourcentage était 26,1%, c'est un composé phénolique monoterpène, connu pour ses activités : antioxydant (Braga et al., 2006a), anti-inflammatoire (Braga et al., 2006b) et antimicrobienne (Khanuja et al., 2004).

**Tableau 3:** composition de l'huile essentielle du *M. vulgare* dans différents pays

	Maroc F	Maroc S	Algérie N	Algérie S	Tunisie	Egypte1 S	Egypte N	Turquie	Iran
Trans-2-Hexanal	0,9	0,6	0,75	0	0	0	0	<b>14,8</b>	0
Heptanal	0,2	0,03	0,1	0	0	0	0	0	0
Santolina triene	0	0	0,71	0	0	0	0	0	0
<b><math>\alpha</math>-Pinene</b>	5,9	5,73	<b>9,37</b>	0	1,16	0	1,44	<b>28,85</b>	2,16
Camphene	0,7	0,32	0,51	0	0,49	0	0,64	0	3,15
Benzaldhyde	0	0	2,31	0	0	0	0	0	0
Sabinene	0,2	0,15	0,37	0	0	0	0,25	0,49	0
1-Octen-3-ol	9,5	9,53	2,35	0	0	0	2,48	0	0
Myrecene	0,8	0,52	0,47	0	0	0	0	5,07	0
Octanol-3	0,3	0,14	0,64	0	0	0	0,16	0	0
Dichlorobenzene	0,9	0,52	0,72	0	0	0	0	0	0
p-Cymene	3,2	3,1	0,63	0	0	0	0	0	0
<b>1-8-Cineole</b>	<b>7,82</b>	<b>7,31</b>	0,1	0	3,72	0	1,49	0	3,75
Cis-Ocimene	0	0	0,2	0	0	0	0	0	0
$\gamma$ -Terpinene	0	0	0,85	0	0	0	0	0	0
$\beta$ -Thujone	0	0	0,81	0	0	0	0	0	0
Dehydro-sabina ketone	0	0	4,12	0	0	0	0	0	0

Camphor	1,83	1,4	0,83	0	1,03	0	0,64	0	1,03
Carvone	0	0	0,89	0	0	0	0	0	0
Piperitone	0	0	3,27	0	0	0	0	0	0
Neral	0	0	0,27	0	0	0	0	0	0
Geraniol	2,92	2,62	0,92	0	2,74	0	0	0	3,7
Anethole	1,3	1,23	0,47	0	0	0	0	0	0
Geranial	0	0	0,78	0	0	0	0	0	0
<b>Thymol</b>	<b>26,1</b>	<b>25,8</b>	0,17	0	0	<b>34,55</b>	0,34	0	0
2-Undecanone	0	0	0,98	0	0	0	0	0	0
Cymen-7-ol	0	0	0,95	0	0	0	0	0	0
$\alpha$ -Humulene	3,14	3,1	0,12	0	0,68	1,89	0,19		0,52
Germacrene D	2,45	2,42	0,88	11,9	0	0,74	0	1,05	<b>10</b>
$\beta$ -Guaiene	0	0	0,23	0	0	0	0	0	0
$\alpha$ -Farnesene	6,7	6,41	0,23	0	0	0	0	0	0
<b><math>\gamma</math>-cadinene</b>	2,44	2,15	0,44	0	3,3	<b>17,68</b>	0	0	0
Trans-calamenene	0	0	0,21	0	0	0	0	0	0
<b><math>\delta</math>-Cadinene</b>	3,47	3,18	3,13	<b>12,2</b>	0	2,21	0	0	3,35
Trans-Cadina-1-4-diene	0	0	0,21	0	0	0	0	0	0
$\alpha$ -calacorene	0	0	0,73	0,27	0	0	0	0	0
<b>Germacrene D-4-ol</b>	<b>7,63</b>	<b>7,59</b>	<b>9,61</b>	0	<b>9,37</b>	6,37	0	0	0
Spathulenol	0	0	0,87	0	0	0	0	0	0
Salvial-4(14)-en-1-one	0	0	0,96	0	0	0	0	0	0
$\beta$ - oploponone	0	0	0,63	0	0	0	0	0	0
Trans-trans-Farnesyl acetate	0	0	0,8	0	0	0	0	0	0
Cis-cis-Farnesyl acetone	0	0	0,98	0	0	0	0	0	0
Trans-cis-farnesyl acetone	0,5	0,39	0,77	0	0	0	0	0	0
Nonadecane	0	0	0,53	0	0	0	0	0	0

n-Heneicosane	0	0	0,8	0	0	0	0	0	0
Sclareol	0	0	0,81	0	0	0	0	0	0
Tricosane	0,82	0,78	0,96	0,74	0	0,21	0	0	0
<b>4,8,12,16Tetramethyl heptadecan-4-olid</b>	0	0	<b>16,97</b>	0	0	0	0	0	0
N-Trimethylsilyl trifluoroacetamide	0	0	0	0	2,35	0	0	0	0
N,N-bis trimethylsilyl trifluoroacetamide	0	0	0	0	0,97	0	0	0	0,77
$\alpha$ -Thujone	0	0	0	0	2,29	0	0	0	2,45
1-Vinylcyclohexane	0	0	0	0	0,75	0	0	0	0,5
Iso menthon	0	0	0	0	0,57	0	0	0	0,67
Borneol	0	0	0	0	0,61	0	1,12	0	0,62
<b><math>\beta</math>-Citronelle</b>	0	0	0	0	<b>9,9</b>	0	0	0	<b>8</b>
<b>Citronellyl formate</b>	0	0	0	0	<b>9,5</b>	0	0	0	<b>10</b>
Geranyl formate	0	0	0	0	6,25	0	0	0	6,02
$\alpha$ -Copaene	0	0	0	0	1,37	0	0	0,22	1,35
$\beta$ -Bourbonene	0	0	0	0	1,96	0	0	0	1,8
Trans-caryophyllene	0	0	0	0	2,15	0	4,09	3,86	2,34
$\alpha$ -Muurolene	0	0	0	0	0,63	1,2	0	0	0,52
$\alpha$ -Amorphene	0	0	0	1,04	0,81	2,39	0	0	0,88
Neallocimene	0	0	0	0	0,91	0	0	0	0,98
Nerylacetate	0	0	0	0	3,41	0	0	0	3,41
Ladene	0	0	0	0	5,35	0	0	0	5,15
$\beta$ -bisabotene	0	0	0	0	0,86	0	0	0	0,77
$\alpha$ -Agarofurane	0	0	0	0	0,42	0	0	0	0,42

Furan-2-on, 4-phenyltetrahydro	0	0	0	0	0,44	0	0	0	1,44
<b>γ-Eudesmol</b>	0	0	0	0	<b>11,93</b>	0	0	0	<b>11</b>
β-Cubebene	0	0	0	1,89	1,52	0	0	0	3,3
Citronyllyl butanoate	0	0	0	0	0,66	0	0	0	0
Geranyl tiglate	0	0	0	0	5,53	0	0	0	<b>7,1</b>
Cyclononasiloxane, octadecamethyl	0	0	0	0	3,08	0	0	0	4,3
Eicosamethyl cyclodecasiloxane	0	0	0	0	2,29	0	0	0	0
<b>β-pinene</b>	0	0	0	0	0	0	3,53	<b>18,31</b>	0
methyl chavicol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Carvacrol</b>	0	0	0	0	0	4,35	<b>36,28</b>	0	0
α-cubebene	0	0	0	4,39	0	0	0,47	0	0
Cyclosativene	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lavandulyl isobutanoate	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Caryophyllene oxide	0	0	0	0	0	1,74	0,67	0	0
Globulol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Viridifloral	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Khusimone	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5-épi-7-épi-Eudesmol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
β-Eudesmol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tasmanone	0	0	0	0	0	0	0	0	0
α-Eudesmol acetate	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14-Hydroxy-delta-Cadinene	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Iso-Acorone	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cryptomeridiol	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Iso-Longifolol acetate	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Z-Nuciferol acetate	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phytol	7,2	6,54	4,87	7,67	0	0	0	0	0
n-Eicosane	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Z-Penyl ethyl anthranilate	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Oroselone	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E-Methyl communate	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Isopimarol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
n-Tetracosane	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Labd-13-E-8,15 diol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
$\alpha$ -Cadinene	0	0	0	0	0	2,97	0	0	0
$\gamma$ -Elemene	0	0	0	0	0	1,24	0	0	0
$\delta$ -Elemene	0	0	0	0	0	2,16	0	0	0
$\alpha$ -Terpinyl acetate	0	0	0	0	0	0,51	0	0	0
$\alpha$ -Cadinol	0	0	0	0,67	0	5,39	0	0	0
Cucurmenol	0	0	0	0	0	0,95	0	0	0
Pentadecanol 2	0	0	0	0	0	1,09	0	0	0
Caryophylla-4(14), 8(15)-diene-5- $\beta$ -ol	0	0	0	0	0	2,55	0	0	0
$\alpha$ -Limonen	0	0	0	0	0	0	0,82	3,88	0
$\alpha$ -Phellandrene	0	0	0	0	0	0	0,6	1,55	0
<b><math>\beta</math>-Phellandrene</b>	0	0	0	0	0	0	<b>15,49</b>	<b>17,4</b>	0
$\beta$ -Farnesene	0	0	0	0,13	0	0	0,24	0,88	0
3,4-epoxypentan-2-one	0	0	0	0,07	0	0	0	0	0

2,4-dimethylocta-2,6-diene	0	0	0	0,25	0	0	0	0	0
2-methylbutanoate d'hexyle	0	0	0	0,22	0	0	0	0	0
<b>9-methyl-undec-1-ene</b>	0	0	0	<b>21,3</b>	0	0	0	0	0
$\alpha$ -Bourbonene	0	0	0	1,88	0	0	0	0	0
$\beta$ -Damascenone	0	0	0	0,73	0	0	0	0	0
$\beta$ -Elemene	0	0	0	1,49	0	0	0	0	0
Cis- $\alpha$ -bergamotène	0	0	0	0,42	0	0	0	0	0
$\alpha$ -Curcumène	0	0	0	1,16	0	0	0	0	0
Trans- $\beta$ -bergamotène	0	0	0	2,89	0	0	0	0	0
Zingiberène	0	0	0	0,16	0	0	0	0	0
1-Isopropyl-1-methyl-2-nonylcyclopropane	0	0	0	0,13	0	0	0	0	0
$\zeta$ -Cadinol	0	0	0	0,53	0	0	0	0	0
6,10,14-Trimethylpentadecan-2-one	0	0	0	2,89	0	0	0	0	0
Isophytol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hineicosane	0	0	0	0,65	0	0	0	0	0
Bis(2-ethylhexyl)hexanedioate	0	0	0	0,06	0	0	0	0	0
Pentacosane	0	0	0	0,09	0	0	0	0	0
Diisooctyl phthalate	0	0	0	0,32	0	0	0	0	0
Heptacosane	0	0	0	1,02	0	0	0	0	0

Dotriacontane	0	0	0	0,4	0	0	0	0	0
4-Pentyl-1-(4-propylcyclohexyl)cyclohex-1-ène	0	0	0	1,98	0	0	0	0	0
1,2-Dimethylcyclopenta-1,3-diene	0	0	0	0,08	0	0	0	0	0
$\beta$ -Thujene	0	0	0	0	0	0	2,93	0	0
$\alpha$ -Terpinene	0	0	0	0	0	0	3,83	0	0
<b>Carvyl acetate</b>	0	0	0	0	0	0	<b>11,52</b>	0	0
Trans-Sabinene hydrate	0	0	0	0	0	0	3,29	0	0
Linalool	0	0	0	0	0	0	3,86	0	0
Cis-Sabinene hydrate	0	0	0	0	0	0	0,56	0	0
Terpinen-4-ol	0	0	0	0	0	0	0,97	0	0
2,6-dimethyl heptadecane	0	0	0	0	0	0	0,18	0	0
$\alpha$ -Terpinol	0	0	0	0	0	0	0,33	0	0
Carvomenthene	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0
7-epi-sesquisabinene hydrate	0	0	0	0	0	0	0,27	0	0
Cubenol	0	0	0	0	0	0	0,19	0	0
Total	96,92	91,56	80,28	79,62	99	90,19	99,17	96,36	101,5

D'après l'analyse du tableau ci-dessus on peut conclure que :

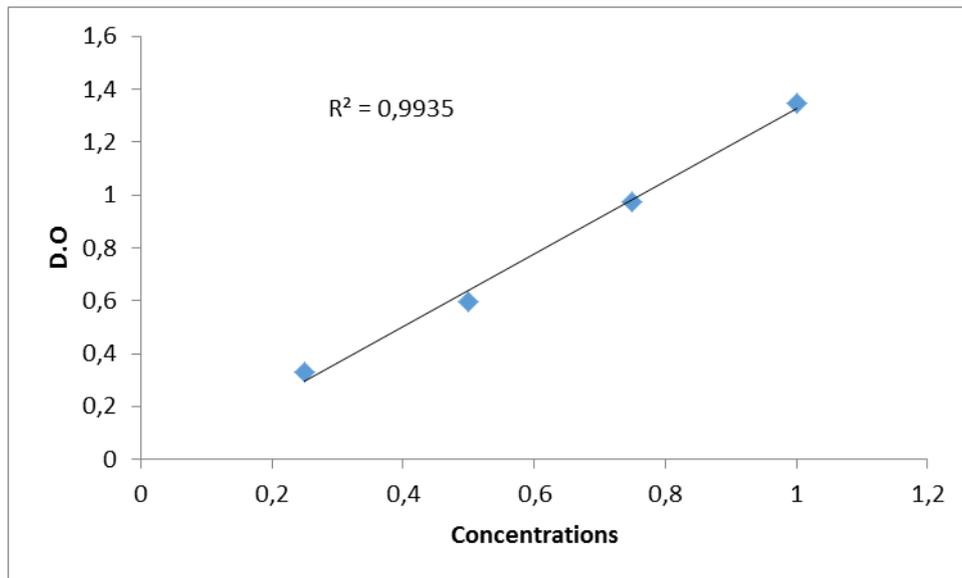
- ✓ Pour l'Algérie du sud (désert de Neo), 33 composés ont été identifiés et les composés majoritaires sont comme suit: le 9-Methyl-undec-1-ène (21,30%), le  $\delta$ -Cadinène (12,20%) et le Germacrène D (11,90%) (Chebrouk et *al.*, 2009).
- ✓ Pour la Turquie 11 composés ont été identifiés et les composés majoritaires sont :  $\alpha$ -Pinene (28,85%),  $\beta$ -Pinene (18,31%),  $\beta$ -Phellandrene (17,40%), 2-Hexanal (14,80%) (Bayir et *al.*, 2014).

- ✓ Pour l’Egypte (Sud) 32 composés ont été identifiés et les composés majoritaires sont : Carvacrol (36,28%),  $\beta$ -Phellandrene (15,49%) et Carvyl acétate (11,52%) (Said-Al Ahl et *al.*, 2015).
- ✓ Pour l’Egypte (Nord) 19 composés ont été identifiés et les composés majoritaires sont : Tyhmol (34,55%) et  $\gamma$ -Cadinene (17,68%) (Salama et *al.*, 2012).
- ✓ Pour l’Algérie (Nord), 50 composés ont été identifiés et les composés majoritaires sont : 4,8,12,16-Tetramethyl heptadecan-4-olid (16,97%), Germacrène D-4-ol (9,61%) et  $\alpha$ -Pinene (9,37%) (Abadi et *al.*, 2013).
- ✓ Pour l’Iran 34 composés ont été identifiés et les composés majoritaires sont :  $\gamma$ -Eudesmol (11%), Germacrène (10%), D-Citronelly formate (10%),  $\beta$ -Citronellol (8%) et Geranyl tiglate (7,1%) (Bokaeian et *al.*, (2013).
- ✓ Pour la Tunisie 34 composés ont été identifiés et les composés majoritaires sont :- Eudesmol(11,93), -Citronellol (9,90%), Citronelly formate (9,50%) et Germacrène D (9,37%) (Gharib et *al.*, (2013).

Nous remarquons que la composition de l’huile essentielle se diffère d’un pays à l’autre et au sein du même pays (Algérie, egypte), cette différence pourrait être expliqué par le changement des conditions climatiques (température, précipitations...)

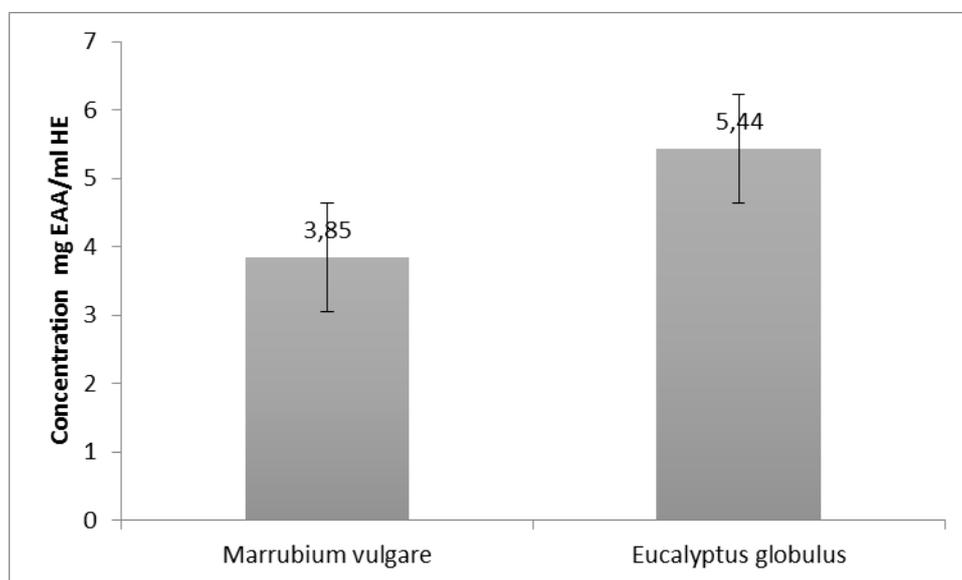
## **II. Activités antioxydante**

La capacité antioxydante obtenue à partir de l’huile essentielle a été estimée grâce à une courbe à une courbe d’étalonnage, réalisée avec une solution de référence de l’acide ascorbique à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide ascorbique par ml d’HE (mg EAA/ml d’HE). La courbe d’étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9935$ .



**Figure 6:** Courbe d'étalonnage de la capacité antioxydant totale (CAT)

Les résultats de la capacité antioxydant révèlent que L'HE du *Marrubium vulgare* contient une capacité de l'ordre de 3,85 mg EAA/ml d'HE. Alors que l'HE d'*Eucalyptus globulus* présente une capacité plus grande que celle du *Marrubium vulgare* de l'ordre de 5,44 mg EAA/ml d'HE.



**Figure 7:** Capacité Antioxydant Totale (CAT) du *Marrubium vulgare* et *Eucalyptus globulus*

Abadi et ses collaborateurs (2013), ont révélé que l'HE du *Marrubium vulgare* a une activité anti-oxydante très importante avec un % d'inhibition du radical libre (DPPH) égale à 70%

pour une concentration de 400mg/ml. D’ailleurs Ghrib khaldi et ses collaborateurs en 2013, ont révélé un % d’inhibition radicalaire de 80% pour une concentration de 300mg/ml.

### III. Activités antimicrobienne

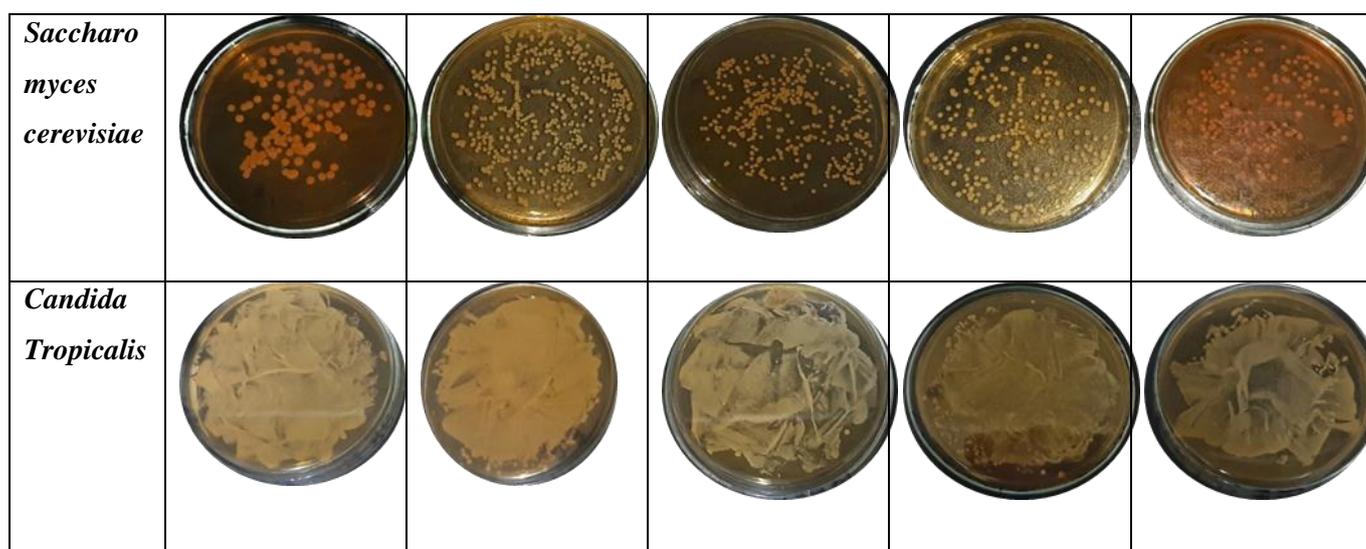
L’évaluation de l’activité antimicrobienne de l’huile essentielle de *Marrubium vulgare* a été réalisée sur deux levures et deux bactéries qui sont regroupé dans les tableaux suivant : 4, 5 et 6.

D’après les valeurs, il ressort que *Saccharomyces cerevisiae* présente une sensibilité vis à vis l’huile essentielle testée, alors que *Candida tropicalis* est plutôt résistante. Le diamètre des colonies ainsi que leurs nombres diminuent en augmentant la concentration de l’HE pour *Saccharomyces cervisiae* contrairement à *Candida tropicalis* où le tapis est relativement moins dense mais la charge est toujours aussi importante. Concernant les Bactéries celle a Gram + (*Bacillus subtilis*) sont affecté par notre huile par contre les bactéries à Gram – (*Esherishia coli*) présentent une résistance à cette dernière. Cette résistance pourrait être expliquée par la structure de la membrane cytoplasmique. Ce résultats est similaire de (Bokaeian, 2013) qui mentré que l’HE du *M.vulgare* a un effet inhibiteur sur une bactérie à Gram + (*Staphylococcus aureus*).

**Tableau 4:** Activité antibactérienne de l’huile essentielle de Marrube sur *Bacillus subtilis* et *Esherishia coli*

Souches	Témoin	5µl	10µl	15µl	20µl
<i>E.Coli</i>	 <b>Tapis</b>	 <b>Tapis</b>	 <b>Tapis</b>	 <b>Tapis</b>	 <b>Tapis</b>
<i>Bacillus subtilis</i>	 <b>Tapis</b>				

**Tableau 5:** Activité antifongique de l'huile essentielle de Marrube sur *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida tropicalis*



**Tableau 6 :** Etude quantitative de l'activité antimicrobienne de l'HE du *M. vulgare*

Souches	T		5µl		10µl		15µl		20µl	
	Ø	N	Ø	N	Ø	N	Ø	N	Ø	N
<i>C.tropicalis</i>	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis
<i>S.cerevisiae</i>	4mm	471	2mm	1177,5	2mm	549,5	2mm	628	2mm	392,5
<i>Esherishia.coli</i>	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis	Tapis
<i>Bacillus subtilis</i>	2mm	863,5	0	0	0	0	0	0	0	0

#### **IV. La teneur en eau**

La teneur en eau de plante *M.vulgare* frais égale à 77%. Une forte teneur en eau, présente une source d'altération, ce qui nécessite un séchage avant l'utilisation. Ce résultat est similaire à un résultat trouvé par (Laichaoui, 2016), où la teneur en eau était de 78%

# Conclusion et Perspectives

Le choix de notre plante *Marrubium vulgare* : s'est basé surtout sur son utilisation fréquente en médecine traditionnelle. Notre étude a visé à découvrir les effets antioxydante et antimicrobienne de son l'huile essentielle ainsi que sa composition chimique.

Après avoir effectué ces différents tests, nous avons pu conclure que le Marrube blanc (*Marrubium vulgare*) est une plante riche en eau (70%) et son huile essentielle qui est riche en thymol, 1-octen-3-ol, 1-8 cineole ,Germacrène D-4-ol , Phytol et le  $\alpha$ -Farnesene, il s'avère avoir un effet antibactérien nulle contre les bactéries à Gram- (*Escherchia coli*), contrairement aux bactéries à Gram+ (*Bacillus subtilis*) qui sont inhibé par cette huile, pour les levures (*Saccharomyces cerevisiae*) est sensible à cette huile essentielle, mais elle a aucun effet sur (*Candida tropicalis*). De plus l'activité anti-oxydante du *Marrubium vulgare* est élevée c'est d'ailleurs la raison pour laquelle cette plante est souvent utilisé dans la médecine traditionnelle.

Nous envisageons comme perspective, d'utilisé d'autres méthodes d'extraction, d'augmenté la gamme des souches bactériennes utilisés et d'étudier l'effet contre les organismes unicellulaires et pluricellulaires.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abadi A., Hassani A.** Essential oil composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare L.* growing wild in eastern Algeria. *Int LettChem Phys Astron.* 2013;9(1):17–24.
- AFNOR (2000) : AFNOR (2000).** Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse (Tome 1) –Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2. Volumes 1 et 2).
- AFNOR NF T 75-006 : AFNOR (Agence Française de Normalisation) (2000).** Recueil de normes : les huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles (H à Y). AFNOR, Paris, 661.
- AL KADI (1989) : Al kadi, A. A.** Usage de quelques plantes dans la médecine populaire en libie, 1989, Vol1-2.
- Alessandra (2008): Alessandra M B, (2008).** « Grande Guide Des Huiles Essentielles Santé Beauté Bien-Etre ». Hachette pratique France. Pp : 205.-10-23.
- ANTON et al., (2003): ANTON, R. WICHTL, M et al., 2003.** Plantes thérapeutiques : Tradition, Pratique officinale, science et thérapeutique. Tec. Doc: Paris. 669.
- Aouadhi, (2010) : Aouadhi S (2010).** Mémoire Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes.
- Asadipour A, Mehrabani M, Nazeri V, Tabarraii M.** Composition of the essential oil *Marrubium vulgare L.* *Pharmaceutical Sciences.* 2005;2:75–82
- Audigié, Claude (1934-...)** Manipulations d'analyse biochimique / Doin / impr. 1978
- Baba aissa, (1999) : Baba Aissa F (1999).** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb.
- Bayir Burcu , Gündüz Hatice, Usta Tuba, Şahin Esma, Özdemir Zeynep, Kayır Ömer, Şen Özkan, Akşit Hüseyin, Elmastaş Mahfuz, Erenler Ramazan,** Chemical Composition of Essential Oil from *Marrubium Vulgare L.* Leaves, journal of new results in science, Number: 6, Year: 2014, Pages: 44-50.
- BELLAKHDAR, (1997): Bellakhdar. J., 1997:** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires, La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed. Le Fennecet Ibio Press, impression : Dunes France. P 341.
- Besombes.C, (2008)** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécaniques d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat, 2008

**BILLERBECK et al (2007) : BILLERBECK V.G.D (2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapies*, 5(5), 249-253

**BINET et BRUNEL (2000) : BINET P, et BRUNEL J.-P., (2000).** *Physiologie Végétale*. Tome II. Edit Doin. P: 54.

**Bokaeian Mohammad, Saboori Elham, Saeidi Saeide, Niazi Abbas Ali, Amini-Borojeni Negar, Khaje Hamde, Bazi Saphora,** *Phytochemical Analysis, Antibacterial Activity of Marrubium vulgare L against Staphylococcus aureus in vitro, Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, ZJRMS 2014 Oct; 16 (10): 60-64.*

**Bonnier, (1990) : Bonnier G (1990).** *La grande Flore française* Ed. Bllin ; Complète. Tome : 09. 25-26. *La Végétation de la France, Suisse et Belgique.*

**BRUNETON (1993) : BRUNETON, J. (1993).** *Phytochimie. Plantes médicinales. Tec. & Doc., Lavoisier, Paris.*

**BRUNETON (1999) : BRUNETON J., (1999).** *Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales (3 éme Ed), Technique et Documentation (Paris). Pp: 484-1120.*

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

**Chebrouk Farid, Hadj Mahammed Mahfou,** *Composition des huiles essentielles de marrubium deserti de noe de la region de ghardaïa.*

**Cowan, M.M. (1999):** *Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin. Microbiol Re, 12 (4): 564- 582.*

**Dacosta, (2003) : Dacosta,** *les phytonutriments bioactifs, 669 references bibliographiques ED, Yves dacosta, paris, 2003 p 317*

**Daroui-Mokaddem H., 2011.** *Etude phytochimique et biologique des especes : Eucalyptus globulus (Myrtaceae), Smyrniolum olusatrum (Apiaceae), Asteriscus maritimus et Chrysanthemum trifurcatum (Asterarceae). Thèse de doctorat. Option: Biochimie appliqué. Université Badji-Mokhtar, Annaba.*

**Djahra Ali. Boutlis. (2014) :** *Etude phytochimique et activité antimicrobienne et antioxydante, antithérapeutique du Marrubium vulgare L. These du doctorat en Biologie végétale: Radji Mokhtar de Annaba.*

**EL KALAMOUNNI (2010): EL KALAMOUNNI C., (2010).** *Thèse sur: Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, l'Institut National Polytechnique de Toulouse.Pp : 22-38.*

**Fao (2003) : FAO (2003).** *Stratégie et politique agricoles ; la filière « Plantes Aromatiques et*

**Favier, (2003) : Favier A.** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'Actualité chimique 2003; 108-117

**Favier, (2006) : Favier A.** Stress oxydant et pathologies humaines. Ann. Pharm. Fr. 2006; 64: 390-396

**Ghrib Khaldi, Mohammed Samir and Vahid Bouguerra,** Antioxidant activities and Chemical composition of *Marrubium vulgare L.* essential oil from Tunisia, Frontiers of Agriculture and Food Technology Vol. 1 (12), pp. 144-149, December, 2013.

**Guinebert et al, (2005) : Guinebert E., Durand P., Prost M., Grinand R. and Bernigault R.** Mesure de la résistance aux radicaux libres. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole 2005; 554-558.

**Guinoiseau.E, 2010.** Molécules, antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de doctorat de l'université de Corse, option : BiochimieBiologie Moléculaire, France.50p

**Hammer KA. Carson CF., Riley TV., 1999.**Antimicrobial activity of essential oilsand other plant extracts. J. Appl. Microbiol. 86: 985-990.

**HERZI Nejia, (2013)** Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles.

**Hubert (2005) : PREFACE DE HUBERT RICHARD;** Les plantes aromatiques et les huiles essentielles grasse, le harmattan Paris. 2005. Pp : 209-211.

**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.

**Laichaoui Amira,** Cactérisation préliminaire d'une plante médicinale de marrube « *Marrubium vulgare.L* » pour son utilisation dans l'industrie alimentaire, mémoire 2016.

**Majinda et al (2001) : MAJINDA R. R. T, ABEGAZ B.M & BEZABIH (2001).** Recent results from naturel production research at the University of Botswana. Pure. Appl. chem. 73(7): 1197-1208 Médicinales», Préparé par Anthoula DOSSIDES.

**Millago et al (2005) : MILLAGO H, GUISSON I.P, NACULMA O and TRAORE A.S (2005).** Savoir traditionnel et médicament traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre centre européen de santé humanitaire ; Lyon

**Mr Hyerisam, (2013) :** livre, médecine et santé : Propriétés médicinales du marrube blanc: *Marrubium vulgare L.*

**Pavela R. (2004) :** insecticidal activity of certain medicinal plants ; fitoterapia 75 ; ;745-749

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

**Prieto et al.,1999:** Prieto P., Pineda M., Anguilar M.: Anal. Biochem. 269, 337 (1999).

**QUEZEL et SANTA, 1962, (1963):** Quezel. F et Santa. S., 1963 : Nouvelle Flore de L'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Vol. 1-2, 801-802, Ed. CNRS, Paris France, 1962,1963.

**Sahpaz S.Garabacki N. Tits M. bailleul F. (2002):** isolation and pharmacological activity of phenylpropanoids esters from *Marrubium vulgare*; journal of Ethnopharmacology 79; 389-392.

**Said-Al Ahl Hussein A. H, Gendy Ahmed S. H, Mahmoud Abeer A, Mohamed Hanaa F. Y,** Essential Oil Composition of *Marrubium vulgare L.* Cultivated in Egypt, International Journal of Plant Science and Ecology Vol. 1, No. 4, 2015, pp. 138-141.

**Salama M.M, Taher E.E, El. Bahy M.M,** Molluscicidal and mosquitocidal activities of the essential oils of *Thymus capitatus L.* and *Marrubium vulgare.L,* American journal of drug discovery and development 2 (4): 204-211, 2012.

**Schlemper V.,Ribias A., Nicolau M., Cechinel V.(1996) :** Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *marrubium vulgare* on isolated tissues ;phytomedicine 7; 103-107.

**Schlempher et al., (1996): Schlempher V (1996).** « Antispasmodic effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues » Phytomedecine, 3 (2), 211-216.

**Suffy S.J. Vita J.A. (2003):** Effects of phenolics on vascular endothelial Function; current opinion in lipidology 14; 21-27

**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

**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.

**Zawiślak G.** Chemical composition of essentials oils of *Marrubium vulgare L.* and *Marrubium incanum* Desr. Grown in Poland. Chemija. 2012; 23(2):136–140.

# Annexes

Préparation des milieux YPG et LB (1L) :

 **Annexe 1 :**

Milieu LB :

5g d'extrait de Levure

1g de Peptone

1g NaCl

17g d'Agar

 **Annexe 2 :**

Milieu YPG :

10g d'extrait de Levures

10g de Peptone

20g de Glucose

17g d'Agar

 **Annexe 3 :**

Milieu LB liquide = Composition du milieu LB solide – agar-agar (Annexe 3)

Milieu YPG liquide = Composition du milieu YPG solide – agar-agar (Annexe 3)