

République Algérienne Démocratique & Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et la Recherche scientifique
Université de Saida Dr. Tahar-Moulay
Faculté des Sciences
Département de Biologie

Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et la Vie (SNV)
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

Thème

Etude comparative des activités biologiques des extraits
des plantes *Mentha puligium*, *Artemisia absinthium* et
Camelia sinensis contre la flore buccale

Présenté par :

- Mlle BERRACHEDI Nour El Houda
- Mlle ALLOUCHE Fatima Zohra

Soutenu le / 07 / 2021 devant le jury :

Président : Mr AMMAM Abdelkader	MCA	Université de Saida
Examineur : Mr TERRAS Mohamed	Prof	Université de Saida
Encadreur : Mr BERROUKCHE Abdelkrim	Prof	Université de Saida

Année universitaire : 2020 – 2021



آية الكرسي سورة البقرة آية ٢٥٥



Remerciement

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus vifs à notre encadreur monsieur Dr Berroukche Abdelkrim qui a su nous guider et nous aider dans ce travail avec beaucoup de tact et gentillesse et qui nous a permis de découvrir un domaine très intéressant celui : Etude comparative des activités biologiques des plante ; *Mentha pulegium*, *Artemisia absinthium*, *Camelia sinensis* contre la flore buccal.

qu'il trouve ici notre estime et notre profond respect.

Je remercie en particulier monsieur Boudou Farouk, pour m'avoir donné l'occasion extraordinaire de réaliser mon travail de terrain ...et avoir eu la patience de répondre à mes innombrables questions.

Je tiens à remercier tigrine adel et sedjad riad pour tout l'aide qu'ils m'ont apportées

Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé, à titre professionnel ou personnel à la réalisation de ce travail.

Nos irons un remerciement également vers tous ceux qui ont accepté avec bienveillance de participer au jury de ce mémoire.

Merci

A black fountain pen nib with a golden tip, positioned at the bottom right of the page, appearing to have just finished writing the word 'Merci'.

DEDICACE

Louanges à dieu seigneur des mondes

*pour ses bontés pour l'esprit dont il m'illumine pour
la foi, qu'il sème dans mon cœur, mon seul
créateur et le seul créateur de la création.*

Je dédie ce travail à :

*Mon père qui m'a inspiré le courage la rigueur le goût du travail et la vie, tout ce que
suis, n'est que le fruit de sa bonne éducation.*

Ma chère mère Et Ma grande Mère

Pour son affection, sa patience, sa compréhension,

sa disponibilité, son écoute permanente

et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

Mon très chers frères :Abd El Rezzak

Mes chères sœurs Fatima et Amina que dieu vous protège je

vous souhaite tout le bonheur et du réussit.

un dédicace spécial a mon oncle Aissa et ma tante Hafida

Mes oncles ; Mes Tantes et leur familles

Et mes collègues :

L'ensemble de ma famille :Berrachedi ;BenZidoune

qui mon données leurs soutiens

Toute la promotion2021 de la

BERRACHEDI NOUR EL HOUDA

BERRACHEDI NOUR EL HOUDA



DEDICACE

Spécialement à ma mère à qui je dois énormément, qui a cru en moi la lumière de ma vie et l'espoir de mon existence.

A mon père qui m'a éclairée mon chemin et qui m'a encouragé et soutenue toute au long de mes études.

A mon très cher frère Mohamed Amine, source de joie je vous souhaite tout le bonheur et du réussite .

A mes chers sœurs :Aya et Wafaa et Meriem.

Un dédicace spécial à :

Mes oncles Larbi et Khir eddin qui ont chaleureusement supporté et encouragé tous au long de mon travail.

Ma chère tante Hafida qui ma donné leur soutien.

L'ensemble de ma famille Allouche et Taouche qui son la source d'espoir et la motivation.

A ma chère binôme et toute la promotion2021 de BIOCHIMIE.



Allouche Fatima Louiza

Résumé

Notre travail porte sur l'étude des activités biologiques des plantes appartient à des familles les plus importantes dans la flore algérienne et les plus utilisée par les thérapeutes traditionnels. Notamment *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis* contre la flore buccal

Notre étude concerne les analyses photochimiques des préparations des extraits des trois plantes, le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes, et l'étude de l'activité anti-radicalaire en utilisant le piégeage du radical libre DPPH.

Les rendements d'extraction par macération est égale a 1.15% , 6.7% et 14% respectivement pour *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *camélia sinensis* .

L'examen phytochimique réalisé sur les extraits des trois plantes a montré une présence importante des tanins et des flavonoïdes, polyphénols et des saponines et des Proanthocyanidols .

Le dosage des composé phénoliques, nous a permis de constater que l'extrait de *camélia sinensis* présente le taux le plus élevé en polyphénols totaux (38.3 ± 1.2856 mg EAG/ml) par rapport au *Artemisia abinthium* (33.9 ± 0.43) et *Mentha pulegium* (24.5 ± 2.14) , et en flavonoïdes (41.16 ± 26.36 , 75.89 ± 44.35 et 46.44 ± 22.50 respectivement).

Les résultats obtenus pour la mesure de l'activité anti-radicalaire montrent que les différents extraits de *Mentha pulegium* , *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis* a des concentration d'inhibition (IC50) donne 5.44 mg/ml , 2.17 mg/ml et 1.31 mg/ml respectivement après 30 min d'incubation par rapport à l'acide ascorbique. Cette activité anti-radicalaire est fortement liée à la richesse de *Camelia sinensis* en polyphénols par rapport aux autres plantes .

Mots clés : *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* , *Camelia sinensis* , Flore buccale , polyphénols , Activité antioxydante .

summary

Our work focuses on the study of the biological activities of plants belonging to the most important families in Algerian flora and the most used by traditional therapists. In particular *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* and *camellia sinensis* against oral flora. Our study concerns the photochemical analyzes of the preparations of the extracts of the three plants, the determination of total polyphenols and flavonoids, and the study of the anti-free radical activity using the scavenging of the free radical DPPH.

The extraction yields by maceration are equal to 1.15%, 6.7% and 14% respectively for *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* and *camellia sinensis*.

The phytochemical examination carried out on the extracts of the three plants showed a significant presence of tannins and flavonoids, polyphenols and saponins and proanthocyanidols.

The dosage of the phenolic compounds, allowed us to note that the extract of *camellia sinensis* has the highest rate of total polyphenols (38.3 ± 1.2856 mg EAG / ml) compared to *Artemisia abinthium* (33.9 ± 0.43) and *Mentha pulegium* (24.5 ± 2.14), and flavonoids (41.16 ± 26.36 , 75.89 ± 44.35 and 46.44 ± 22.50 respectively).

The results obtained for the measurement of the anti-free radical activity show that the various extracts of *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* and *Camellia sinensis* at inhibitory concentrations (IC₅₀) give 5.44 mg / ml, 2.17 mg / ml and 1.31 mg / ml respectively after 30 min of incubation with respect to ascorbic acid. This anti-free radical activity is strongly linked to the richness of *camellia sinensis* in polyphenols compared to other plants.

Keywords: *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium*, *Camelia sinensis*, Oral flora, polyphenols, Antioxidant activity.

ملخص

يركز عملنا على دراسة الأنشطة البيولوجية للنباتات التي تنتمي إلى أهم العائلات في النباتات الجزائرية والأكثر استخدامًا من قبل المعالجين التقليديين. على وجه الخصوص النعناع البري (فليو) شهية الشاي الأخضر ضد النباتات الفموية

تتعلق دراستنا بالتحليلات الكيميائية الضوئية لمستخلصات النباتات الثلاثة ، وتحديد إجمالي البوليفينول والفلافونويدات ، ودراسة النشاط المضاد للجذور الحرة باستخدام الكسح من الجذور الحرة DPPH. عوائد الاستخلاص بالنقع تساوي 1.15% ، 6.7% و 14% على التوالي لنبات النعناع البري ، نبات الشهيبة و الشاي الأخضر.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي الذي تم إجراؤه على مستخلصات النباتات الثلاثة وجودًا كبيرًا للعفص والفلافونويد والبوليفينول والسابونين والبروانثوسيانيدول.

سمحت لنا جرعة المركبات الفينولية أن نلاحظ أن مستخلص الشاي الأخضر يحتوي على أعلى معدل من إجمالي البوليفينول (1.2856 ± 38.3 مجم / EAG مل) مقارنة مع (33.9 ± 0.43) *Mentha* و *Artemisia abinthium* (24.5 ± 2.14) *Pulegium* ، والفلافونويدات (26.36 ± 41.16 ، 44.35 ± 75.89 و 22.50 ± 46.44 على التوالي). أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها لقياس النشاط المضاد للجذور الحرة أن المستخلصات المختلفة من *Mentha* و *Pulegium* و *Artemisia abinthium* و *Camellia sinensis* بتركيزات مثبطة (IC50) تعطي 5.44 مجم / مل و 2.17 مجم / مل و 1.31 مجم / مل على التوالي بعد 30 دقيقة من الحضارة فيما يتعلق بحمض الاسكوربيك. يرتبط هذا النشاط المضاد للجذور الحرة ارتباطًا وثيقًا بتراء الشاي الأخضر في مادة البوليفينول مقارنة بالنباتات الأخرى.

الكلمات الرئيسية :

فلورا الفم ، البوليفينول، الأكسدة نشاط مضادات ، *Camelia* ، *Artemisia abinthium* ، *Mentha pulegium* ، *sinensis*

Table des Matières

Remercîments

Dédicace

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

Chapitre 01 : Flore microbienne de la cavité buccale

1-Rappel sur l'anatomie de la cavité buccale.....	01
1-1. Muqueuse buccale.....	02
1-2.Os alvéolaire.....	02
1-3.Dents.....	02
1-4. Flore buccale.....	03
1-5. Plaque dentaire.....	03
2-Flore bactérienne pathogène.....	05
2-1. Microbiote.....	05
2-2. Microbiote buccal	06
2-2-1. Acquisition de la flore buccale	06
2-2-2.Composition de la flore buccale	06
2-2-3. Facteurs influençant la flore	09
3. Maladies associés à la cavité buccale.....	10
3-1.Apthes	10
3-2. Carie dentaire	11
3- 3. Mycose buccale	12
3-4. Gingivite	13

Chapitre 02 : Composés naturel bioactif et antioxydant

1-Métabolites secondaires.....	14
1-1-Classification	14
1-1-1-Les composés phénoliques.....	14
1-1-1-1. Classes des composés phénoliques.....	15
1-1-1-1-A. Composés phénoliques simples	15

➤ Acides phénoliques et coumarines	15
➤ Flavonoïdes.....	16
1-1-1-1-B. Composés phénoliques complexes.....	17
➤ Tanins	17
1-1-2- Composés azotés (alcaloïdes).....	18
1-1-3-Terpènes.....	18
2. Plantes médicinales aromatique	19
2-1. <i>Mentha pulegium</i>	19
2-1-1-Origine et répartition géographique	19
2-1-2-Description botanique	20
2-1-3-Systématique	21
2-1-4-Utilisation en médecine traditionnelle.....	21
2-2-<i>Artémisia Absinthium</i>	22
2-2-1-Distribution géographique et habitat	22
2-2-2-Description botanique.....	22
2-2-3-Classification.....	23
2-2-4-Utilisation thérapeutique de la plante.....	23
2-3-<i>Camellia sinensis</i>	24
2-3-1-Origine et distribution.....	24
2-3-2-Description botanique	24
2-3-3-Classification.....	25
2-3-4-Utilisation thérapeutique.....	26

Chapitre 03 : Méthodes d'extraction des extraits et des huiles essentielles

1. Introduction.....	27
Techniques d'extraction.....	27
2-1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	27
2-2.Extraction par Hydrodistillation d'huile essentielle.....	28
2-2-1.Hydrodistillation sous pression.....	28
2-2-2.Le système de thermopompage	29
2-2-3.Turbodistillation.....	29
2-2-4.L'hydrodistillation assistée par micro ondes.....	30
2-2-5.L'hydrodistillation assistée par ultrasons.....	30
2-3.L'expression à froid.....	31

2-4. Autres extractions et méthodes.....	32
2-4-1. Extraction par solvant organique.....	32
2-4-2. Extraction par fluide à l'état supercritique.....	33
2-4-3. Macération.....	33
2-4-4. Infusion.....	34
2-4-5. Décoction.....	34

Chapitre 04 : Matériels et Méthodes

1. Matériel	35
1.1. Matériel biologique.....	35
1.1.1. Matériel végétal.....	35
❖ Critères de choix des plantes.....	35
❖ Récolte, situation géographique, identification et conservation.....	35
1.2. Matériel non biologique.....	37
1-2-1.-Matériel de laboratoire.....	37
2. Méthodes.....	38
2.1. Préparation des extraits.....	38
2.1.1. Extraction par macération.....	38
2-1-2. Le rendement d'extraction.....	40
2-2. Analyse phytochimique.....	40
2-2-1. Analyses qualitatives.....	40
A. Les tanins.....	41
B. Saponines.....	41
C. Proanthocyanidols.....	42
D. Flavonoïdes.....	42
E. Polyphénols.....	42
2-2-2. Analyses quantitatives.....	42
A. Contenu phénolique total.....	42
B. Teneur totale en flavonoïdes.....	42
2-3. Activité antioxydante.....	43
2-3-1. Principe.....	43
2-3-2. Mode opératoire.....	43
2-3-3. Détermination de la concentration inhibitrice médiane (IC50).....	44
2-4. Caractérisation des polyphénols par HPLC (analyse qualitative)	44
2-4-1. Principe.....	44

2-4-2. Mode opératoire.....	45
2-4-3. Expression des résultats.....	45
2-5. étude épidémiologique sur les infections dentaires.....	45

Chapitre 05 : Résultats et Discussion

1. RESULTATS.....	46
1.1. Rendement des extractions.....	46
1-2. Screening phytochimique.....	46
1-3. Analyse quantitative et dosages biochimiques.....	50
1-3-1.Courbes d'étalonnages.....	50
a. Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux... ..	50
b. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.....	50
1-3-2.Analyses spectrophotométriques des extraits.....	51
1-4. Activité antioxydante des extraits.....	52
1-5. Chromatographie liquide à haute performance.....	52
1-6. Etude épidémiologique sur les infections dentaires.....	55
2-Discussion.....	58
2-1 .Rendement d'extraction.....	58
2-2.Screninig phytochimique.....	59
2-3.Dosage des polyphenols et flavonoïdes.....	60
2-4. Activité Antioxydant.....	61
2-4-1. Détermination de IC50.....	61
2-5. Chromatographie liquide à haute performance.....	62
2-6. Etude épidémiologique des infection dentaire	63

Liste des Figures :

N°	Titre	Page
01	Limites de la cavité buccale	02
02	Formation de la plaque dentaire	04
03	Mise en évidence de plaque dentaire par utilisation d'un indicateur de plaque	04
04	Principaux microbiomes du corps humain	05
05	Les espèces bactériennes appartenant à différents sous-ensembles de groupes bactériens (phyla) ordonnées sur un arbre phylogénétique	09
06	Aphtes-buccaux	11
07	Evolution de la carie	12
08	Candidose buccale	12
09	Gingivite	13
10	Structure de base des coumarines	15
11	Structure de base de flavonoïde	16
12	Différents classes des flavonoïdes	17
13	Structures chimiques des tannins	18
14	Exemples des classes des alcaloïdes	18
15	Représentation schématique et photo de <i>Mentha pulegium L</i>	20
16	<i>Artemisia absinthium L</i>	23
17	<i>Camellia sinensis var. sinensis</i>	25
18	<i>Camellia senensis var. Assamica</i>	25
19	Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur de l'eau	28
20	Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation	28
21	Principe schématisé de l'appareillage de Turbodistillation	29
22	Principe schématisé de l'appareillage de système de l'hydrodistillation sous micro ondes	30
23	Schéma du « procédé de récupération de l'huile essentielle de citron et autres agrumes »	31
24	Schéma d'une batterie d'extraction par solvant pour végétaux bruts	32
25	Schéma du système d'extraction CO2 des solides	33
26	Localisation d'Ain el hadjar dans la wilaya de Saïda	36
27	<i>Mentha pulegium</i> Dans son environnement	36
28	Localisation de Moulay larbi dans la wilaya de Saïda.	36
29	<i>Artemisia absinthium</i> dans son environnement	36
30	Feuille de la plante <i>camelia sinensis</i>	37
31	Méthode d'Extraction par macération des trois plantes	39
32	Extraits méthanolique des plantes <i>Mentha pulegium, Artémisia Absinthium</i> et <i>Camellia sinensis</i>	39
33	Extraction par infusion des trois plantes	40
34	Extraits aqueux des plantes des <i>Mentha pulegium, Artémisia Absinthium</i> et <i>Camellia sinensis</i> .	41
35	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	43
36	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols	50
37	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes	51

38	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits méthanolique des plantes	52
39	Chromatographie liquide à haute performance <i>Mentha pulegium</i>	54
40	Chromatographie liquide à haute performance d' <i>Artemisia abinthium</i>	54
41	Chromatographie liquide à haute performance <i>Camelia sinensis</i>	54
42	Moyenne des dents extraites par rapport à l'Age	57
43	Moyenne des dents extraites par rapport à consommation du tabac	57
44	Moyenne des dents extraites par rapport à consommation du thé	58
45	Moyenne des dents extraites par rapport à la consommation du sucre et gâteaux	58

Liste des tableaux :

N	Titre	Page
01	les principaux phylums et classes bactériens présents dans la cavité buccale humaine	08
02	Quelques dérivés d'acides phénoliques et de coumarines	16
03	Classification des terpénoïde	19
04	classification de <i>Mentha pulegium</i>	21
05	la classification phylogénétique APG III	23
06	classification de <i>Camellia sinensis</i>	25
07	Les produits chimiques et les appareillages utilisés dans la présente étude	38
08	les rendements d'extraction pour chaque plantes	46
09	Résultats des tests phytochimiques de la plante <i>Mentha Pelugium</i>	47
10	Résultats des tests phytochimiques de la plante <i>Artemisia abinthium</i>	48
11	Résultats des tests phytochimiques de la plante <i>camelia sinensis</i>	49
12	Teneur en polyphénols totaux, des extraits méthanolique des plantes <i>Mentha pulegium</i> , <i>Artemisia abinthium</i> et <i>camelia sinensis</i>	51
13	Teneur en Flavonoïdes totaux, des extraits méthanolique des plantes <i>Mentha pulegium</i> , <i>Artemisia abinthium</i> et <i>camelia sinensis</i>	51
14	les valeurs des IC50 des différents extraits méthanolique des plantes	52
15	Résultat de chromatographie liquide a haute performance de <i>Mentha pulegium</i>	53
16	Résultat de chromatographie liquide a haute performance de <i>Artemisia abinthium</i>	53
17	Résultat de chromatographie liquide a haute performance de <i>Camelia sinensis</i>	53
18	Résultats d'étude épidémiologique	55

Liste d'Abréviation :

Abréviations	Signification
VHB	✓ virus de l'hépatite B
VHC	✓ virus de l'hépatite C
HSV	✓ virus de l'herpès
HPV	✓ Papillomavirus
CHV	✓ Cytomegalovirus
CVB3	✓ coxasackievirus ,
HPV	✓ Papillomavirus
CHV	✓ Cytomegalovirus
CVB3	✓ coxasackievirus
EBV	✓ Epstein-Barr
VIH	✓ virus de l'immunodéficience humaine
MII	✓ métabolites secondaires
kD	✓ Le kilodalton
APG III	✓ classification phylogénétique de la troisième version
g	✓ gramme
ml	

°C	✓ millilitre
R	✓ Celsius
%	✓ Rendement
Mext	✓ Pourcentage
Méch	✓ masse de l'extrait
DPPH	✓ masse de l'échantillon
IC50	✓ Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
mgEAG/g	✓ concentration inhibitrice médiane
mg EC/ g	✓ milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait
CR	✓ milligramme équivalent d'acide catéchique par gramme d'extrait
AB	✓ capture du radical DPPH
AA	✓ l'absorbance du blanc
HPLC	✓ l'absorbance de la solution de l'extrait
N.V.D	✓ Chromatographie liquide à haute performance
N.D.E	✓ Nombre de visite chez dentiste
	✓ Nombre des dents extraites

Introduction

Dès la naissance, l'Homme est exposé à une multitude de microorganismes (bactéries, virus, champignons...) qui viennent coloniser tout son corps : la peau, le colon, l'intestin, les bronches, les appareils génitaux, la bouche... Cette population microbienne est appelée microbiote et vit en équilibre avec son hôte dans une relation symbiotique que l'on appelle homéostasie .

Le microbiote normal de la cavité buccale est un écosystème complexe, d'une part indispensable au maintien de la santé, et d'autre part, responsable des deux pathologies les plus communes de l'homme : la maladie carieuse et la gingivite (Wade, W. G .,2012) . Ces pathologies sont causées par des bactéries pathogènes définies comme opportunistes à savoir qu'elles appartiennent au microbiote normal de la cavité buccale ne causant habituellement pas de maladie, mais pouvant devenir pathogènes quand l'homéostasie est rompue.

Cependant En raison des croyances et des pratiques locales ainsi que des considérations de coût, les médicaments à base de plantes restent un mode de traitement populaire dans les pays en développement Même dans la société industrialisée, le coût croissant des médicaments sur ordonnance et les effets secondaires du traitement qui en résultent rendent l'utilisation de la médecine traditionnelle extrêmement intéressante , en particulier pour les affections mineures (De Silva, 2009).

Les plantes sont toujours utilisées par l'homme à des fins curatives. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), 80% de la population des pays en développement ont recours presque exclusivement à la médecine traditionnelle pour les besoins de santé primaire (Michelline, 2009).

Les plantes médicinales sont des végétaux connus pour leurs pouvoirs bénéfiques, En d'autres termes, elles sont utilisées pour prévenir soigner ou soulager diverse maladies (Konsole, 2009). L'échec de traitements pharmaceutiques conventionnels surtout dans le cas des maladies chroniques (hypertension, cancer, diabète....) (Iserin et al., 2001) et la forte incidence des effets secondaires des médicaments de synthèse, qui selon l'OMS sont la cause de 60% des maladies actuelles, ainsi que l'inaccessibilité des soins modernes, font qu'une large tranche de la population mondiale dépendent de la médecine naturelle pour se soigner (Eddouks et al., 2007).

Actuellement, malgré le progrès de la Pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde de surtout les pays en voie de développement (Tabuti et al., 2003). En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, 80.000 possèdent des propriétés médicinales (Quyou, 2003) L'Algérie possède un

riche patrimoine d'agro-ressources médicinales utilisées traditionnellement pour traité plusieurs maladies (Kambouche et al., 2009)

Les plantes ont la capacité de produire des substances naturelles très diversifiées, a coté des métabolites primaires, elles accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires qui représentent une source importante de molécules utilisable par l'homme en particulier illustrés dans le domaine thérapeutique (Krief, 2003).

Ces composés sont synthétisés dans les différentes parties de la plantes (racines, tige, feuilles..). Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles sont métabolisées. On trouve ces métabolites dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles et cette distribution varie d'une plantes à l'autre. Toute fois, leur métabolisme produit des milliers de constituants différents, dont quelques-uns seulement sont responsable de l'effet thérapeutique (Hogan et Koler, 2002). C'est pourquoi, nous nous somme intéressé à étudier et évaluer les activités biologiques des extraits des plantes *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *camelia sinensis* contre la flore buccal .

Ces travaux sont décrits dans le présent manuscrit qui est composé de deux parties :

La première partie, consacrée à l'étude bibliographique, comprend trois chapitres :

- Le premier est un Rappel sur l'anatomie de la cavité buccale et la flore microbienne pathogène ainsi les maladies associe à la cavité buccal
- Le deuxième chapitre donne un aperçu sur les Métabolites secondaires et une description botanique générale des espèces étudiées (*Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *camelia sinensis*), leurs répartitions géographiques et leur utilisation en médecine traditionnelle.
- . - Et le troisième chapitre est explique les Méthodes d'extraction des extraits et des huiles essentielles

La partie expérimentale est axée sur :

- une préparation d'extraits méthanolique des trois plants étudiées

Un screening phytochimique,

- Teneur de flavonoïdes et de polyphénols totaux
- la mise en évidence in vitro du potentiel antioxydant des extraits méthanoliques par le test - du piégeage du radical libre DPPH
- une analyse HPLC et une étude épidémiologique sur les infections dentaires .

Enfin , Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion présentant une synthèse des meilleurs résultats obtenus, la liste des références bibliographiques, les annexes et la publication scientifique.

Chapitre 01 :

Flore microbienne

de la cavité

buccale

Chapitre 1 : Flore microbienne de la cavité buccale

1-Rappel sur l'anatomie de la cavité buccale

Alors qu'elle héberge les toutes premières étapes de la digestion que sont la mastication et la salivation. La cavité buccale, ou bouche, constitue la première partie du tube digestif. Elle abrite également l'organe du goût, et permet la phonation grâce à sa structure, en donnant aux « sons émis par le larynx une forme articulée et intelligible » (Devals et Anne ., 2003).

La figure 01 montre les différentes parties de la cavité buccale est délimitée (Devals et Anne ., 2003 ; Margaret J et al ., 2006) :

- ✓ En avant par les lèvres et l'orifice buccal.
- ✓ Latéralement par les joues.
- ✓ En haut par le palais, qui la sépare des cavités nasales.
- ✓ En bas par le plancher buccal.
- ✓ En arrière, elle est ouverte sur le pharynx grâce à l'isthme du gosier, orifice défini par les piliers du voile du palais, et la base de la langue.

Les arcades dentaires, supportées par les mâchoires maxillaire (mâchoire supérieure) et mandibulaire (mâchoire inférieure) séparent la cavité buccale en deux parties :

- En avant des arcades dentaires : le vestibule buccal, cavité en forme de fer à cheval, qui s'ouvre vers l'extérieur par l'orifice de la bouche, formé par les lèvres. Il est recouvert de muqueuse buccale, et est limité en haut et en bas par les culs de sac vestibulaires.
- En arrière des arcades dentaires : la cavité buccale proprement dite.

Lorsque la bouche est fermée, ces deux cavités communiquent par l'espace interdenteaire, et par l'espace rétro molaire qui se situe derrière les dernières molaires (B.K.B Berkovitz et al., 2009).

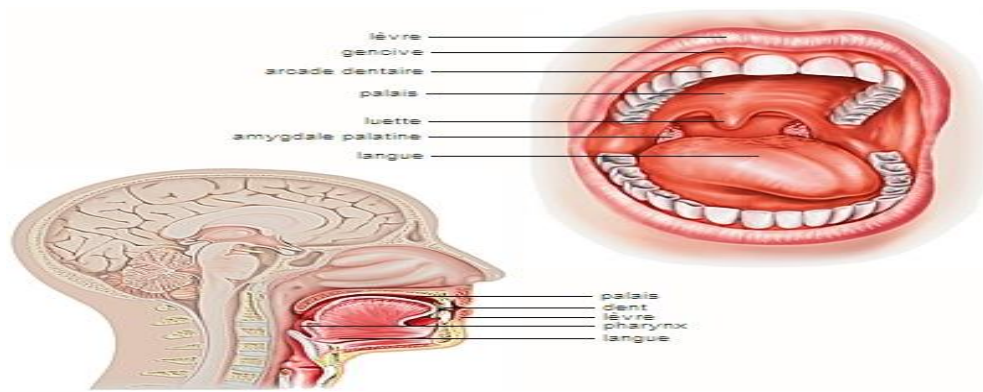


Figure01 : Limites de la cavité buccale (Marsh, 2009).

1-1. Muqueuse buccale

La bouche est tapissée par la muqueuse buccale qui se continue sur l'avant par les lèvres, et sur l'arrière par une muqueuse digestive et respiratoire. Cette muqueuse présente des modifications structurelles en fonction de sa localisation et des tissus qui lui sont sous-jacents (Mauriol et Le charpentier., 2008) :

la face interne des lèvres supérieure et inférieure, un repli médian, le frein labial, relie la muqueuse de la lèvre à la gencive (Roquier-Charles et Seiller.,2005 ; Kuffer et al .,2009).

1-2.Os alvéolaire

C'est un tissu minéralisé, dur. Il protège et supporte les dents (temporaires et permanentes), dont les racines sont enchâssées dans les procès alvéolaires, qui délimitent les cavités alvéolaires et doivent leur développement à la présence des dents dont ils dépendent : en effet, ils se résorberont à la disparition des dents. Tout au long de la vie, l'os alvéolaire subit, comme les autres os, les mécanismes cycliques de remaniements osseux (Devalset Anne ., 2003 ; Albert et Olivier.,1994 ; S. Lorimier et Kemoun.,2012).

1-3.Dents

Sont des structures vivantes et minéralisées, de couleur blanc ivoire. Grâce au parodonte, elles sont insérées dans l'os alvéolaire de la mâchoire, dessinant deux arcades dentaires en forme de fer à cheval. On peut les diviser en 3 parties : la racine et la couronne, séparées par le collet (Devals et Anne., 2003 ; D. Roquier-Charles et M. Seiller .,2005).

- La couronne est la partie visible de la dent, qui dépasse de la gencive.
- Le collet représente la limite entre la couronne et la racine.
- La racine, non visible, est cachée par la gencive. Elle ancre la dent dans l'os alvéolaire (Devals et Anne ., 2003 ; J.B. Woelfel, R.C. Scheid .,2007).

1-4. Flore buccale

Elle peut se définir comme un ensemble de micro-organismes qui regroupe des bactéries aérobies, anaérobies, des champignons, des virus et même des amibes. On peut dissocier cette population en deux sous-groupes : une flore commensale « amie » qui joue un rôle bénéfique sur la santé et une flore pathogène. L'essentiel étant de réussir à maintenir un équilibre entre ces populations afin qu'elles puissent cohabiter harmonieusement. Lorsque le microbiote est équilibré, on le dira en eubiose, c'est la situation idéale pour la santé. On parlera de dysbiose en cas de déséquilibre (Dumonteil ., 2012).

1-5. Plaque dentaire

La plaque dentaire est le matériau qui adhère aux dents et se compose de cellules bactériennes (*S. mutans* et *S. sanguinis*), de polymères salivaires et de produits extracellulaires bactériens (figure 2 et 3). La plaque est un biofilm à la surface des dents. Cette accumulation de micro-organismes soumet les dents et les tissus gingivaux à de fortes concentrations de métabolites bactériens, ce qui entraîne une maladie dentaire. Si elle n'est pas soignée, par brossage ou par les soins dentaires, la plaque peut se transformer en tartre (forme durcie) et entraîner une gingivite ou une maladie parodontale (Albert et al., 1994 ; Mouton et al., 1993).

La plaque dentaire varie également qualitativement par la nature des bactéries qui la compose. Il existe tout d'abord la plaque supra gingivale, qui est facilement détectée au cours d'un examen clinique à l'aide d'une sonde ou par des colorants. Elle se compose majoritairement de bactéries aérobies, qui sont responsables des caries. Le deuxième type est la plaque sous gingivale, beaucoup plus difficilement évaluable cliniquement et qui n'est pas accessible au patient. Elle contient des bactéries anaérobies, plus virulentes, qui se développent en pH basique, qui sont à l'origine des maladies parodontales. (Zijnge et al., 2010).

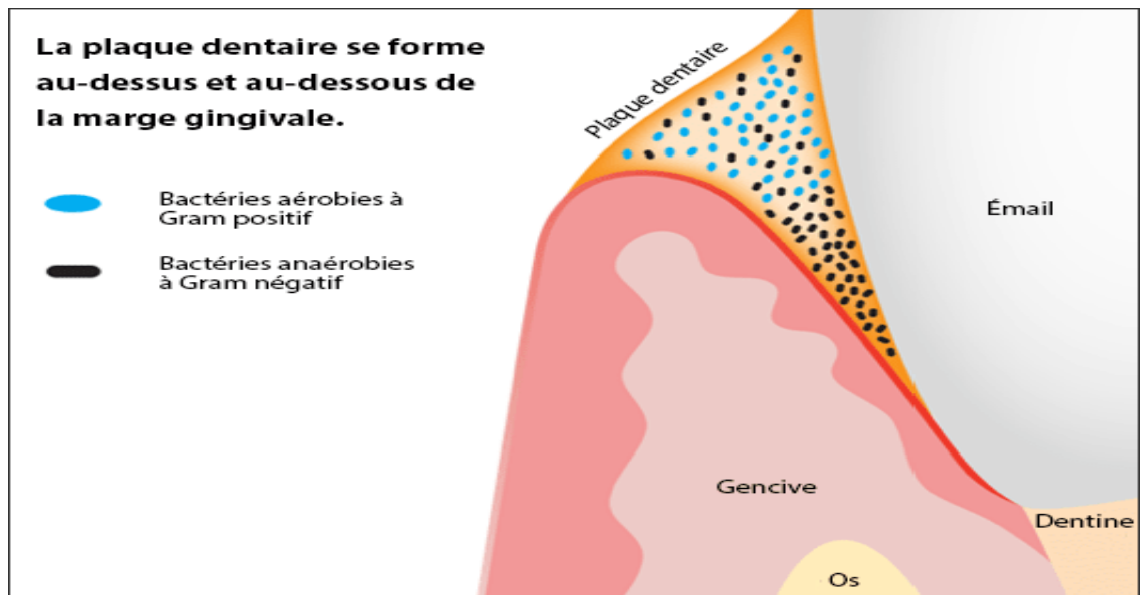


Figure 02 : Formation de la plaque dentaire (Vasudevan,2019).



Figure 03 : Mise en évidence de plaque dentaire par utilisation d'un indicateur de plaque (Arweiler et Netuschil ,2016).

2-Flore bactérienne pathogène

L'estimation du nombre total d'espèces bactériennes présentes dans notre monde est de l'ordre du million même si, à ce jour, nous n'en connaissons que 10.000 et que seules 538 sont considérées comme infectieuses pour l'homme. Environ 1010 bactéries résident dans le biotope buccal d'un individu sain. Elles s'acquièrent initialement par contamination maternelle vagino-buccale puis, par la suite, la cavité orale est accessible aux bactéries aéroportées (poussières, aérosols...), manuportées ou contenues dans les aliments (fruits, viandes crues...). Elle est par conséquent extrêmement variée. On considère que plus de 700 espèces bactériennes différentes sont hébergées dans une bouche saine. Selon la localisation et l'état pathologique de l'hôte, la flore buccale peut être drastiquement différente en qualité et en quantité (Magon et Kumar.,2012 ; Nuriel-Ohayon et al .,2016).

2-1. Microbiote

Le microbiome est l'ensemble des micro-organismes vivant à la surface et à l'intérieur du corps. Il constitue l'ensemble de cette flore. Le microbiote lui est restreint à la flore d'un organe. Les recherches actuelles donnent au microbiome une place importante dans la physiopathologie de l'organisme humain.

Chaque interface du corps avec l'extérieur possède un microbiote particulier. Les microorganismes de chaque microbiote contribuent, lorsque leurs populations sont en déséquilibre, à de nombreuses familles de maladies (figure 04) (Martel et al.,2017).

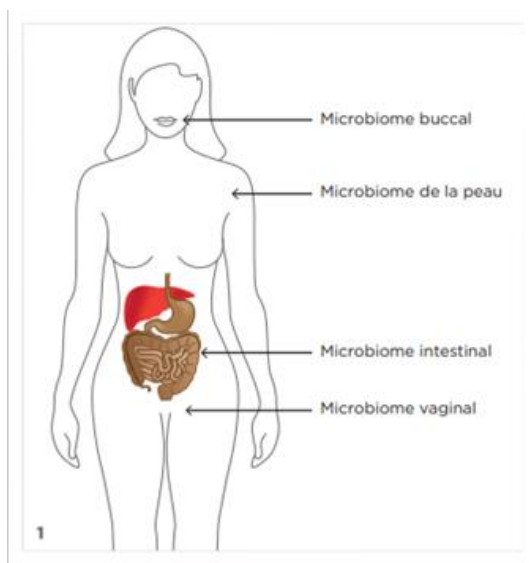


Figure 04 : Principaux microbiomes du corps humain (Sampaio-Maia et Monteiro-Silva .,2014).

2-2. Microbiote buccal

2-2-1. Acquisition de la flore buccale

La cavité buccale est stérile à la naissance et sa flore buccale inexistante, une première contamination se produit à l'accouchement par des bactéries de la flore vaginale maternelle (*Lactobacilles*). Ce n'est qu'à partir du 3^e au 5^e jours que va se constituer la flore buccale. *Streptococcus salivaires* se fixent surtout sur les surfaces épithéliales. On retrouve aussi le genre *Actinomyces* qui colonise la salive, la muqueuse, la langue et les cryptes amygdaliennes. A 6 à 9 mois, l'éruption des dents lactéales s'accompagne de l'apparition des bactéries colonisant ces surfaces dures et du développement des zones anaérobies. Parmi les premières bactéries qui colonisent les dents, on retrouve (*S. orales*, *S. sanguin* et *S. mutans*). Le genre *actinomyces* déjà présent avant l'éruption dentaire, colonise les surfaces dentaires et les sillons gingivo-dentaires.

<https://chirdent25.weebly.com/uploads/8/4/8/3/84838684/1%C3%A9cosyst%C3%A8me-buccal.pdf>

2-2-2. Composition de la flore buccale

Le microbiote buccal (la flore buccale) contient un ensemble de micro-organismes diversifiés. Une partie est commune aux différents microbiotes de l'organisme, par exemple le champignon *Candida albicans* présent dans le microbiote intestinal et le microbiote vaginal, la bactérie *Helicobacter pylori* que l'on retrouve également dans l'estomac ou la bactérie anaérobie *Porphyromonas gingivalis* que l'on trouve dans les poches parodontales et « qui migrent » ensuite dans l'organisme via le système vasculaire. Mais une autre partie de ces bactéries est tout à fait spécifique à la bouche. On va ainsi retrouver de nombreuses bactéries aérobies du fait de l'air que l'on respire, ainsi que des bactéries anaérobies qui se cachent dans des poches difficiles d'accès et seront donc plus difficiles à éliminer (Dumonteil, 2017).

Le microbiote diffère selon les différents tissus. En effet, la muqueuse buccale, les gencives et le palais dur ont un microbiote similaire, tandis que la salive, la langue, les amygdales et la gorge et la plaque supra et sous-gingivale ont chacune des communautés distinctives. Le microbiome oral peut être considéré comme un groupe de biofilms microbiens diversifiés (Duran-Pinedo et al., 2015).

❖ Les biofilms (Macroscopiquement, le biofilm également appelé plaque dentaire) sont majoritairement observés dans les milieux aqueux et se développent sur tout type de surface naturelle ou manufacturée, minérale ou organique. Les microbiologistes distinguent habituellement deux types de biofilms : les biofilms mono espèces qui ne sont composés que d'une espèce et les biofilms pluri espèces au sein desquels plusieurs espèces bactériennes sont associées (Lamont et Jenkinson., 2010). Parmi les micro-organismes qui constituent la flore buccale on retrouve :

✓ Des champignons qui ne forment qu'une petite partie de la microflore (Chardin et al .,2006 ; Philip et al .,2009).Parmi eux, *Candida albicans* est le plus fréquemment retrouvé sans pourtant être porteur de maladie.

- *Cladosporium*,
- *Aspergillus*,
- *Fusarium*,
- *Glomus*,
- *Alternaria*,
- *Penicillium*,
- *Cryptococcus*

✓ Des protozoaires, tels que *Entamoeba gingivalis* et *Trichomonas tenax*. Leur nombre augmente lors d'une mauvaise hygiène buccale mais les chercheurs n'ont pas mis en évidence de lien direct avec des maladies.

✓ Des archaea, constitués d'une cellule qui ne comprend ni noyau ni organites, à l'instar des bactéries. Ils représentent une composante mineure mais leur prévalence et leur nombre sont élevés chez les sujets atteints de parodontite.

✓ Des bactéries : La communauté bactérienne de la bouche est dominée par le *phyla Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Spirochètes* et *Fusobacteria* qui représentent 96% des espèces détectées (Tableau 1). En retrouve aussi les genres :

- Coques Gram positif comme les *Streptocoques*, qui représentent plus de 20% de la flore buccale (*Streptococcus mutans* jouant un rôle dans la carie, *Streptococcus mitis* impliqué dans la plaque dentaire).
- Bacilles et filaments Gram positif comme *Actinomyces*, *Lactobacillus* ou *Eubactérium*
- Coques Gram négatif comme *Neisseria* et *Veillonella*
- Bacilles Gram négatif comme *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Porphyromonas*, *Fusobactérium*.

Ces bactéries peuvent être aérobies ou anaérobies, facultatives ou obligatoires. (Chardin et al .,2006 ; Philip et al .,2009).

✓ Les virus : VHB (virus de l'hépatite B) ,VHC (virus de l'hépatite C) ,HSV(virus de l'herpès) , Papillomavirus(HPV) , Cytomegalovirus (CMV) coxasackievirus (CVB3) , Epstein-Barr (EBV).(On les trouve isolés , très faible quantité).

<https://chirdent25.weebly.com/uploads/8/4/8/3/84838684/1%C3%A9cosyst%C3%A8me-buccal.pdf>

Tableau01 : les principaux phylums et classes bactériens présents dans la cavité buccale humaine (ASSIM., 2017).

Phylum	Class
Actinobacteria	Actinobacteria
Bacteroidetes	Bacteroidetes [C-1] Bacteroidetes [C-2] Bacteroidia Flavobacteria Sphingobacteria
Chlamydiae	Chlamydia
Chlorobi	Chlorobia Ignavibacteria
Chloroflexi	Anaerolineae Caldilineae
Firmicutes	Bacilli Clostridia Erysipelotrichia Mollicutes Negativicutes
Fusobacteria	Fusobacteria
Gracilibacteria (GN02)	GN02 [C-1] GN02 [C-2]
Proteobacteria	Alphaproteobacteria Betaproteobacteria Deltaproteobacteria Epsilonproteobacteria Gammaproteobacteria
Saccharibacteria (TM7)	TM7 [C-1]
Spirochaetes	Spirochaetia
SR1	SR1 [C-1] SR1 [C-2] SR1 [C-3]
Synergistetes	Synergistia
WPS-2	WPS-2 [C-1]

En effet, la flore buccale est dynamique et sa composition évolue au fur et à mesure que la biologie de la cavité buccale se modifie (figure 05) (Cassard, 2019) , Dans une bouche saine, la composition des communautés microbiennes est remarquablement stable (après maturation pendant l'enfance) mais des changements biologiques au cours de la vie peuvent affecter l'équilibre de ces communautés. Lors de ces changements physiologiques (vieillesse, puberté et grossesse), les individus sains s'y adaptent normalement sans que cela ait d'effet sur leur santé bucco-dentaire. Mais à d'autres moments, l'écosystème de la cavité buccale peut se déséquilibrer, conduisant à des changements dysbiotiques de la composition du biofilm qui augmente alors le risque de maladie (Marshet Devine,2011) .

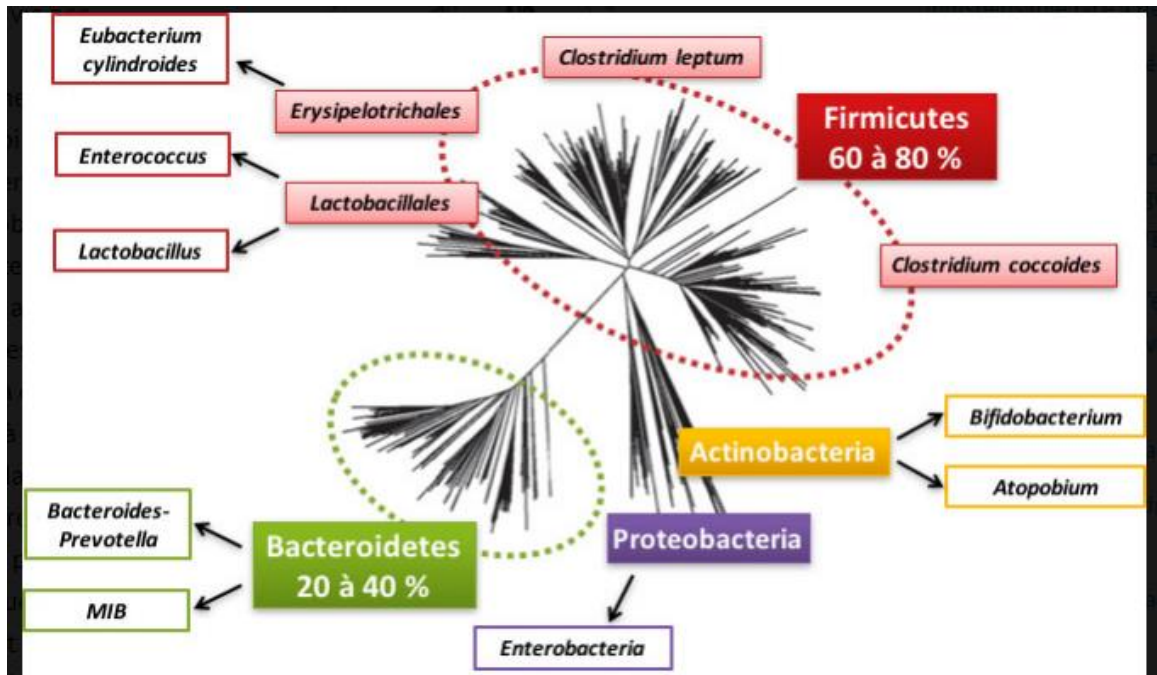


Figure 05 : Les espèces bactériennes appartenant à différents sous-ensembles de groupes bactériens (phyla) ordonnées sur un arbre phylogénétique (Cassard, 2019).

2-2-3. Facteurs influençant la flore

La composition de la flore n'est pas figée, et pourra être modifiée au cours de la vie, par :

(<https://chirdent25.weebly.com/uploads/8/4/8/3/84838684/1%C3%A9cosyst%C3%A8me-buccal.pdf>)

❖ Facteurs physicochimiques :

✓ Température :

- constante 34 à 36°C.
- permet la croissance d'un très grand nombre d'espèces.
- peut varier durant l'alimentation, pendant une courte période.

✓ pH :

- proche de la neutralité 6,7 à 7,3 .
- peut varier durant l'alimentation ou par le métabolisme bactérien.
- dans la zone particulière du site sous gingival, pH = 7,5 à 8,8 .

✓ Présence d'oxygène :

- La grande diversité dans les concentrations en oxygène moléculaire permet la croissance des bactéries aérobies, micro aérophile, aéro-anaérobie facultatives, anaérobie stricte.

✓ Humidité :

- la cavité buccale est en permanence baigné par la salive et le fluide gingival ce qui permet la multiplication des microorganismes.
- ❖ Facteurs liés à l'hôte :
 - ✓ Alimentation.
 - ✓ mécanique de défense de l'hôte.
 - ✓ changements hormonaux : grossesse
- ❖ Facteurs génétiques :
 - ✓ facteurs génétiques semblent influencer les flores intestinales et buccales.
- ❖ Age :
 - ✓ à partir de 70 ans : l'augmentation de la prévalence des staphylocoques (*S.aureus*), les lactobacilles , *Actinomyces naeslundii*.
 - ✓ à partir de 80 ans : l'augmentation de nombre de levures (*Candida albicans*).

3. Maladies associés à la cavité buccale

La microflore buccale est dite commensale car elle vit en harmonie avec l'hôte, dont elle tire profit, sans pour autant y être défavorable. La flore et l'hôte sont en équilibre. Toutefois, toute perturbation ou changement de la microflore entraîne une rupture de cet équilibre. Le déséquilibre peut être créé par un changement biologique dans la bouche, comme la prise d'antibiotiques, une prise fréquente d'aliments sucrés, ou encore l'altération des défenses de l'hôte, due à une thérapie immunosuppressive par exemple. Cela pourra se traduire par une modification qualitative ou quantitative de la flore, avec le développement de micro-organismes pathogènes, ou avec la transformation de la flore résidente en pathogènes opportunistes, et ainsi la survenue des maladies, telle que :(Devalset et Anne ., 2003 ;Philip et al.,2009) .

3-1.Apthes

Les aphtes ou les stomatites aphteuses sont des petites ulcérations douloureuses bénignes localisées dans la bouche (figure 06). Cette forme fréquente est une lésion unique ou composée de quelques unités de 2 à 6 mm. Leur forme est arrondie, avec une base jaune et des bords rouges (*Zinelabidine et al., 2012*) , il est douloureux surtout pendant les repas.

Dans la bouche, les aphtes peuvent être présents sur les bords ou la pointe de la langue, à l'intérieur des lèvres et des joues, sur des gencives, rarement sur le palais. La guérison survient spontanément au bout de quelques jours et ne laisse pas de cicatrice (*Zinelabidine et al., 2012*).

Des lésions ressemblant à des aphtes peuvent apparaître au cours de certaines infections virales (mononucléose infectieuse, papillomavirus, VIH, varicelle, zona, herpès), ou bactériennes (Une infection à la bactérie *Helicobacter pylori*, la même bactérie qui peut

causer un ulcère dans l'estomac ou l'intestin grêle). ou de champignons (Rossant-Lumbrosoet Rossant., 2017 ; Pizzorno et Murray., 2006).



Figure 06 : aphtes-buccaux (Michel et al., 2003)

3-2. Carie dentaire

La carie dentaire est une infection endommageant l'émail puis la dentine en formant une cavité. Il s'agit du problème bucco-dentaire le plus fréquent au monde. Elle est causée par les bactéries présentes naturellement sur la plaque dentaire (Lewandowski, 2019).

Les bactéries résidant dans la cavité buccale, principalement *Streptococcus mutans* et *lactobacilles*, décomposent les sucres en acides. Elles se lient aux acides, aux particules alimentaires et à la salive pour former ce qu'on appelle la plaque dentaire, à l'origine de la carie dentaire (figure 07) (Lamirand,2012).



Figure 07 : évolution de la carie (Hauteville., 2015)

3- 3. Mycose buccale

La mycose buccale, ou candidose buccale, est une infection des muqueuses buccales par un champignon, le candida, dont l'espèce la plus fréquemment rencontrée en pathologie humaine est le *Candida albicans* (<https://www.centredentaireduvertgalant.com/tout-savoir-sur->

[la-candidose-buccale](#)). Les symptômes du muguet peuvent être une inflammation de la muqueuse. C'est la première phase du muguet. La paroi buccale se couvre d'un enduit blanchâtre: sur la paroi des joues, la langue et le pharynx. Au niveau du palais, on peut observer des points ou taches blanches, sous ces taches la couleur est rouge (figure 08). La langue est souvent blanche, en partie ou entièrement (Gruffat, 2020).



Figure 08 :Candidose buccale

https://www.google.com/search?q=mycose+buccale.&hl=fr&sxsrf=ALeKk01xz3sDVkJyVbhZt5AN_KGPdw7Y1g:1610466957731&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKEwisgMD34JbuAhXgSBUIHS00CHUQ_AUoAXoECA8QAw&biw=1024&bih=600#imgrc=bsrHaWQZ4DQsjM

3-4. Gingivite

La gingivite est une inflammation caractérisée de la gencive. C'est une affection très fréquente dans la plupart des populations. La gingivite, lorsqu'elle se manifeste, peut se résorber sans dommage si elle est traitée à temps. Par contre, si la gingivite évolue, elle se transforme en parodontite (figure 09) (Lamboley.,2020) .

Les causes de gingivites (Roquier-Charles et Seiller, 2005) sont :

- ✓ l'origine bactérienne : *Neisseria gonorrhoea* responsable de la gonorrhée, *Treponema pallidum* responsable de la syphilis, *Streptocoques*, ...
- ✓ l'origine virale : infection à Herpès simplex virus.
- ✓ l'origine mycosique : *Candida albicans* entraînant des lésions blanchâtres (observé notamment chez les individus porteurs du VIH).



Figure 09 : Gingivite

https://www.google.com/search?q=parodontite+a+cause+de+quelle+bacterie&hl=fr&sxsrf=ALeKk032BX8OVcvQSxXvmFruyvbjaScnbA:1610468667036&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwir38em55buAhUVURUIHSULBiQQ_AUoAXoECAkQAw&biw=1024&bih=600#imgrc=R0HayNKL_p2wnM

Chapitre 02 :

Composés naturels

bioactif et antioxydant

Chapitre2 : Composés naturel bioactif et antioxydant

1-Métabolites secondaires

Les métabolites primaires sont des macromolécules assimilables (carbohydrates, protéines et lipides), qui participent à la structure de la cellule végétale ainsi qu'à son fonctionnement de base (Hopkins, 2003). Ils sont souvent produits en grande quantité mais présentent une valeur ajoutée relativement basse. Ces métabolites sont aussi définis comme des molécules qui se trouvent dans toutes les cellules végétales et, nécessaires à leur croissance et à leur développement (Raven et al., 2000). Par opposition, les métabolites secondaires (MII) ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais sont synthétisés à partir des métabolites primaires et résultent des réactions chimiques ultérieures. Leurs rôles dans la physiologie de la plante ne sont pas encore tous élucidés. Ces composés sont limités à certaines espèces de végétaux et sont importants pour la survie des espèces qui les synthétisent et à leur adaptation à l'environnement écologique (Croteau et al., 2000 ; Raven et al., 2000).

Les métabolites secondaires sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre (Raven et al., 2000). Avec une structure chimique parfois complexe, ils sont très différents selon les espèces et s'accumulent le plus souvent en faible quantité. Ces molécules bioactives sont produites à différents endroits de la cellule dans des parties spécifiques de la plante en fonction du stade de développement (par exemple durant le développement de la plantule, de la fleur, du fruit, de la graine, ou de la racine). De façon générale, le rôle du métabolite secondaire est en lien avec sa localisation au sein de la plante (Pathak et al. 1962 ; Zobel et Brown., 1990).

1-1-Classification

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. Ils présentent une énorme valeur économique, en particulier pour les industries pharmaceutique et cosmétique (Aref et Heded., 2015).

1-1-1-Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides, ils sont présents dans toutes les parties des végétaux et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits.

Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives, ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antimicrobiens (Djemai, 2008).

Les composés phénoliques sont une vaste classe de substance organique cyclique qui dérive du phénol C₆H₅OH (Walton et Brown., 1999).

1-1-1-1. Classes des composés phénoliques

Les polyphénols sont une famille constituée d'environ 8000 composés répartis en différentes classes. Plusieurs classifications sont citées dans la littérature. La classification adoptée dans ce travail est celle de Freudenberg (1920) citée par (Despande et al., 1986) qui distingue, selon leurs structures, des composés simples de type phénols et des composés complexes de type tannins.

1-1-1-1-A. Composés phénoliques simples

➤ Acides phénoliques et coumarines

- Les Acides phénoliques sont des acides hydroxy-benzoïques (proto-catéchique, vanillique et gallique) sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C₆-C₁ (Macheix et al., 2005). Les acides hydrox cinnamiques, d'autre part, ont la structure C₆-C₃ (acide caféique –fêrulique-sinapique) et ont une distribution très large (Bruneton, 2009).

- Les coumarines sont des lactones des acides cinnamiques. Ils sont largement distribués dans tous le règne végétal et possèdent des propriétés très diverses. Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et dans des solvants organiques ou des solvants chlorés avec lesquels on peut les extraire. Ex : la coumarine simple (Figure10).

https://fsnv.univ-setif.dz/telecharger/EDT2017/CoursElKolli_Meriem.pdf

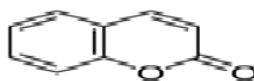
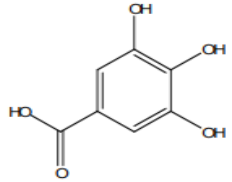
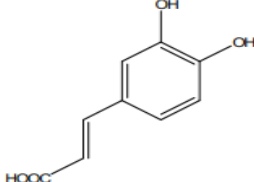
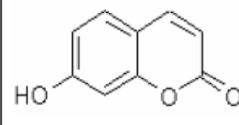


Figure 10 : Structure de base des coumarines (Igor ., 2002)

Tableau 02: Quelques dérivés d'acides phénoliques et de coumarines (Richter, 1993).

Dérivé de l'acide benzoïque (C ₆ - C ₁)	Dérivé de l'acide cinnamique (C ₆ - C ₃)	Dérivé de coumarine (C ₆ - C ₃)
		
Acide gallique	Acide caféique	Umbelliférone

➤ Flavonoïdes

- Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (figure 11) (Bouakaz, 2006). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen,2002).En 2003, environ de 4000 composés flavoniques sont connus (Edenharder et Grünhage., 2003).
- Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires (Erlund, 2004), où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits et jouent un rôle important dans la protection des plantes (Yezza et Bouchama., 2014).
- Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (Yezza et Bouchama., 2014).

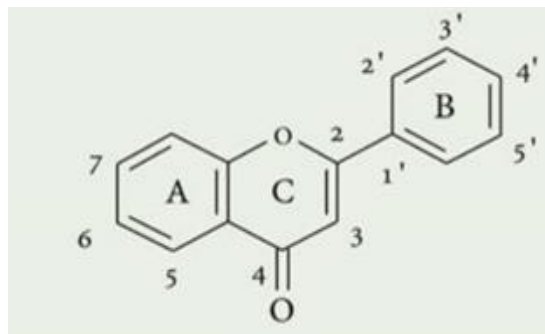


Figure 11 : Structure de base de flavonoïde (Collin et Crouzet.,2011)

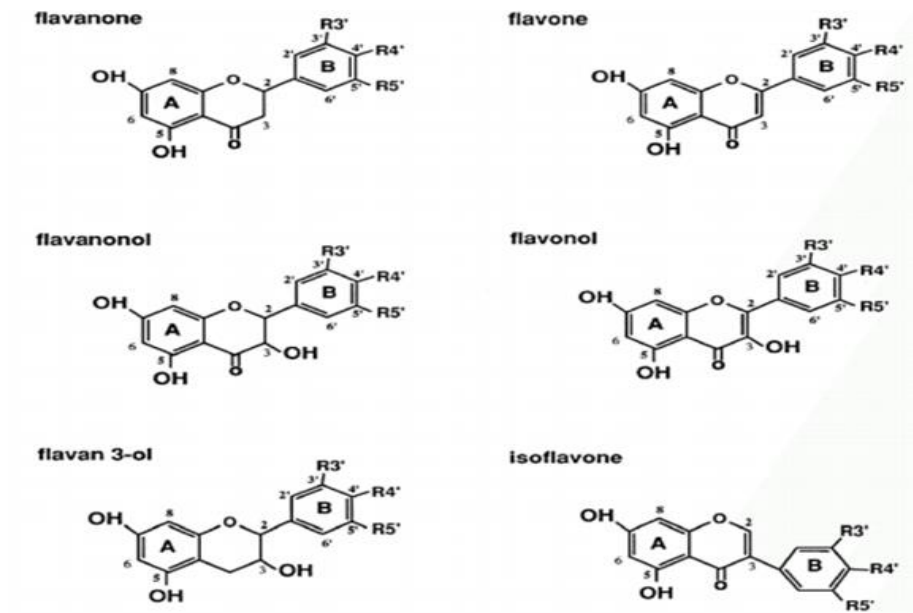


Figure 12 : Différents classes des flavonoïdes (Manchando et Cheynier ., 2006)

1-1-1-1-B. Composés phénoliques complexes

➤ Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques de masse moléculaire comprise entre 500 à 4000kD. Les tanins sont communément trouvés combinés avec les alcaloïdes, des polysaccharides et des protéines (Haung, 2009). On les trouve dans presque toutes les parties de la plante, l'écorce, le bois, les feuilles et les fruites. Les deux principaux types de tanins sont chimiquement assez différents; les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Hygerman, 1988).

✓ Tannins hydrolysables sont des esters de glucides et d'acides phénoliques, la molécule glucidique est en général du glucose. Ils sont facilement scindés par les acides ou les enzymes (tannases) en ose et en acide phénolique, selon la nature de celui-ci, on distingue les gallotannins et les ellagitannins (Ribereau-Gayon, 1968 ; Remesy et al., 1996).

✓ Les tanins condensés, appelés aussi pro-anthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine. Ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique (Guigniard, 1995).

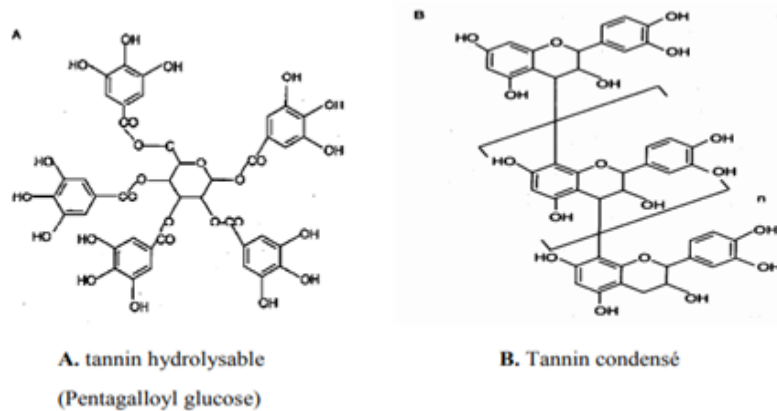


Figure 13 : Structures chimiques des tannins (Binnick., 2002)

1-1-2- Composés azotés (alcaloïdes)

Les alcaloïdes sont des substances organiques le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques (Zenk et Juenger., 2007). Leur synthèse, se fait au niveau du réticulum endoplasmique (Guignard et al., 1985). Ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme, anti tumoraux (taxol), vasodilatateurs (vincamine) (Kone, 2009).

✓ On distingue trois classes d'alcaloïdes (figure 14) (Bruneton, 1999).

Alcaloïdes vrais : sont biosynthétiquement formés à partir d'un acide aminé et comporte un atome d'azote dans un système hétérocyclique, exemple : hyoscyamine.

Pseudo-alcaloïdes : représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés, exemple : conine.

Proto-alcaloïdes : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique, exemple : cathionone (Figure 14).

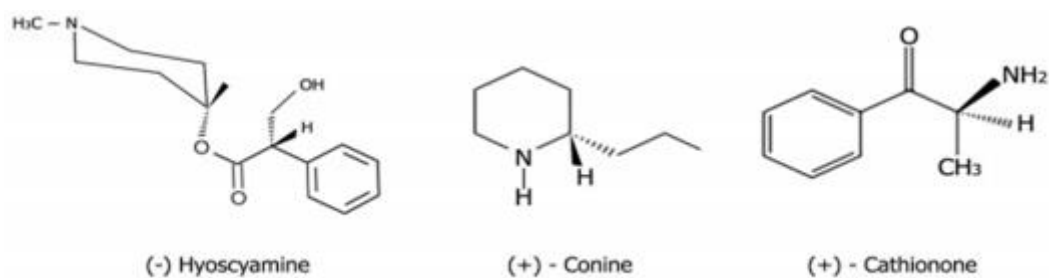


Figure 14 : Exemples des classes des alcaloïdes (Tadeusz., 2007)

1-1-3-Terpènes

La très grande majorité des terpènes sont spécifiques du règne végétal, mais on peut en rencontrer chez les animaux (Manchado et Cheynier., 2006). Les terpènes sont des dérivés de L'isoprène C_5H_8 et ont formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire $(C_5H_8)_n$.

La plupart de ces composés ont des structures polycycliques qui diffèrent les unes des autres non seulement par les groupes fonctionnels, mais aussi par la structure basique de leur squelette hydrocarboné (Fontanay, 2012).

Tableau 03 : Classification des terpenoïdes (McGarvey et Croteau.,1995)

classes	Formule brute	N° d'isoprène
Monoterpènes	$C_{10}H_{16}$	2
Sesquiterpènes	$C_{15}H_{24}$	3
Diterpènes	$C_{20}H_{32}$	4
Sesterpènes	$C_{25}H_{40}$	5
Triterpènes	$C_{30}H_{48}$	6
Tétraterpènes	$C_{40}H_{64}$	8
Polyterpènes	$(C_5H_8)_n$	45-30000

2. Plantes médicinales aromatique

2-1. *Mentha pulegium*

Les Menthes, du nom latin *Mentha*, sont des herbacées vivaces, indigènes et très odorantes appartenant à la famille des Lamiacées (Jahandiez et Marie, 1934). Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces de menthe doivent leur odeur et activité à leurs huiles essentielles ou essences de menthe (Benayad, 2008).

La *Menthe pouliot*, *Mentha pulegium*, est l'espèce la plus exploitée pour ses vertus médicinales et aromatiques (Rana et al., 1997 ; Cantino, 1998). Elle est représentée par deux sous espèces: *Mentha pulegium ssp. Vulgaris* et *Mentha pulegium ssp. Pulegium* (Quézel et Santa, 1962) qui fait partie de la sixième et la dernière série de la famille des labiées (Zaidi et al., 1998) (ou lamiacées) qui renferme 4000 espèces en 200 genres, nombreuses dans les pays méditerranéens dont 146 espèces en Algérie (Abdel, 2003).

2-1-1-Origine et répartition géographique

Au départ, elle était d'origine méditerranéenne. Aujourd'hui, elle est répandue aussi en Europe de l'Ouest, du Sud et centrale, aux canaries et à l'ouest de l'Asie, ainsi qu'en Amérique. *M. pulegium*, est connue sous le nom de « *Menthe pouliot* ». Le nom de « pouliot » vient du latin *pulegium*, qui dérive de pulex : la puce ; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces. Elle est fréquente dans les milieux humides, elle pousse sur des sols sablonneux, et acides, mais elle est très sensible au gel (Anton, 2005). Elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. Malgré son utilisation ancestrale pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons, son intérêt économique demeure limité.

- Principaux pays producteurs : Etats Unis, Maroc et Espagne.
- Principaux pays exportateurs : Les parties aériennes sont peu commercialisées alors que l'huile essentielle est exportée par les Etats Unis (Boukenna et Bouzidi ; 2007).

2-1-2-Description botanique

La famille des lamiacées connue également sous le nom des labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites ; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen (Botineau, 2010). Le genre *Mentha* comprend 25-30 espèces présentes dans le monde (Dorman et al., 2003). Les Menthes sont des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes appartenant à la famille des labiacées (Jahandiez et Marie, 1934). Elles conservent depuis l'antiquité une infinie diversité d'emplois et occupent une large place dans la thérapeutique (Il Edrissi, 1982).

Mentha pulegium L. est une plante à tiges dressées. Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense. Les tiges à section carrée, sont plus ou moins dressées, verdâtres ou grisâtres, très ramifiées. Les feuilles, opposées et petites, sont ovales ou oblongues presque entières (légèrement dentelées ou crénelées) et munies d'un court pétiole. C'est une plante glabre de 10 - 30cm à inflorescences formées de nombreux verticillatres denses, feuillés et distants (Queze Sauta, 1963).

Les fleurs, qui apparaissent l'été, de Mai à fin Septembre, sont rose lilas, parfois blanches, et sont groupées à l'aisselle des feuilles en glomérules largement espacés le long de la tige (Queze Sauta, 1963).

Le calice est à cinq dents pileuses, à gorge obstruée de poils à la maturation. La corolle est à gorge pileuse, bossée d'un côté à la gorge (Raybaud, 1985). (Figure15).



Figure 15 : Représentation schématique et photo de *Mentha pulegium L.*(Amina.,2015)

2-1-3-Systématique

Mentha pulegium est une plante vivace de la famille des Lamiacées (Lamiaceae) D'après Quézel P. et Santa S. en 1963 et Guignard J.L. et Dupont F. en 2004, la classification systématique de la *Mentha pulegium* est donnée dans le tableau ci-dessous

Tableau 04 : classification de *Mentha pulegium* (Quézel et Santa., 1963)

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Labiacées
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Pulegium</i>

2-1-4-Utilisation en médecine traditionnelle

La *Menthe pouliot*, connue sous le nom vernaculaire arabe de « fliyou », est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures (Agnihotri et al., 2005 ; Maroto et al., 2007) .

La *Menthe pouliot* combat l'ingestion et rétablit les troubles gastriques comme les crampes et les gaz intestinaux, elle est carminative, excellent contre les ballonnements, elle est également cholagogue : efficace contre les brulements d'estomac (stomachique). (Baba Aissa, 2000).

Les parties aériennes fleuries de cette plante sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes, expectorantes, carminatives et antispasmodiques dans le traitement du rhume, la bronchite, la tuberculose, la sinusite, le choléra, les intoxications alimentaires, les flatulences et les coliques intestinales (Zargari, 1990 ; Delille, 2007).

Les feuilles de la menthe pouliot confites ou séchées sont particulièrement appropriées pour parfumer et décorer les plats, les sauces et les soupes, Elle est aussi utilisée pour préparer les tisanes. Le pouliot est surtout employé pour parfumer les savons, les détergents, ainsi que les dentifrices. (Boukenna et Bouzidi., 2007).

Cette plante a aussi la particularité d'être insecticide puisqu'elle a été déjà utilisée pour faire éloigner les insectes. (Bremness, 2001).

En usage externe, la menthe pouliot fraîche est appliquée sur les contusions, les enflures, les engorgements laiteux, les points douloureux des rhumatismes et en compresses contre la névralgie faciale et la migraine (Hyerisam, 2013).

La plante entière s'utilise en inhalation, en infusion ou en décoction dans du lait ou du thé et est conseillé en cas de refroidissements, de rhume, de grippe, de bronchite, de toux et de douleurs abdominales (Gardès et al., 2003).

2-2-Artémisia Absinthium

Les astéracées constituent l'une des plus vastes familles du règne végétal, c'est la deuxième après les orchidées. Cette famille comprend plus de 20000 espèces végétales. Le métabolisme terpénique est généralement intense chez cette famille qui élabore une grande variété de structure : mono, sesqui, di et tri-terpénique. La Famille des astéracées comprend de nombreuses plantes aromatique et médicinale. Parmi les genres importants : *Artémisia* avec 300 espèces, ils sont utilisés dans une grande partie des pharmacopées locales en raison de leurs diverses propriétés médicinales (Bruneton j, 2005).

2-2-1-Distribution géographique et habitat

Artémisia absinthium est une plante originaire des régions continentales à climat tempéré d'Europe, d'Asie et d'Afrique du Nord (Sharopov et al., 2012). On la trouve aussi sur la côte Est des États-Unis (Iserin, 2001). Elle y pousse sur les terrains incultes et arides, sur les pentes rocheuses, au bord des chemins et des champs.

2-2-2-Description botanique

Artémisia Absinthium est une plante aromatique, vivace, herbacée qui mesure entre 0.50 et 1 mètre, très ramifiée dont les feuilles sont très divisées, ovées, gris-verdâtre au-dessus, blanche dessous, soyeuse, pétiolées et profondément découpées en lanières obtuses. Les feuilles inférieures sont tripennatiséquées, les supérieures sont moins divisées. Les tiges vertes argentées, duveteuses, dressées et cannelées portent des fleurs jaunes, en petits capitules globuleux, groupés en panicules feuillés. Le fruit est un akène lisse, couronné par une cupule membraneuse très courte. La plante possède un rhizome dur. Elle possède une forte odeur (essence d'Absinthe) et une saveur amère due à l'absinthine (Figure 16) (Sharopov et al., 2012)



Figure 16: *Artemisia absinthium* L (Shultz LM., 2006)

2-2-3-Classification ([https://fr.wikipedia.org/wiki/Absinthe_\(plante\)](https://fr.wikipedia.org/wiki/Absinthe_(plante)))

Artemisia absinthium est une espèce de [plantes](#) de la famille des [Astéracées](#), la classification APG III (2009) *Artemisia absinthium* est donnée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 05 : la classification phylogénétique APG III (2009) de *Artemisia absinthium*

Règne	Végétal
Sous-règne	Trachéophytes
Division	Spermatophytes
Sous-division	Angiospermes
Classe	Eudicotylédones ou Dicotylédones vraies
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Astérales
Famille	Astéracées
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Absinthium</i>

2-2-4-Utilisation thérapeutique de la plante

Plusieurs travaux scientifiques font part d'*Artemisia Absinthium*. (Cazin et al., 1876 ; Fournier et al., 1947) ont montré ses effets vermifuge, antiseptique, insectifuge, anti-malarique, apéritive, eupeptique, diurétique, vulnéraire et cholérétique. De plus, d'autres travaux ont souligné ses activités antipyrétique, antitumorale, contraceptive et hépatoprotectrice (Khattak et al., 1985 ; Chemesova et al., 1987 ; Rao et al., 1988).

De même, cette plante est connue pour ses effets antimicrobiens, antifongique, anti-malarique, insecticide ou insectifuge (Kaul et al., 1976; Kaul et al., 1978; Hernández et al., 1990 ; Kalemba et al., 1993 ; José et al., 2007).

2-3-Camellia sinensis

Le thé est probablement une des boissons les plus consommées au niveau mondial après l'eau avant d'être une plante médicinale. Son utilisation remonte à plus de 4 000 ans en Orient. Le thé vert représente 18 % de la consommation de thé mondiale, et le thé noir 80 %. (Guy Rousseau, 2010).

La phytothérapie s'est surtout intéressée au thé vert pour ses vertus amaigrissantes. Il entre dans la composition d'une dizaine de spécialités pharmaceutiques sous différentes formes soit extrait hydro-alcoolique, extrait aqueux ou poudre de feuille (Peyrin-Biroulet et al., 2004). *Camellia sinensis* peut être divisée en trois catégories basée sur le processus de fabrication du thé (ou fermentation):

- Thé vert (Non fermenté),
- Thé oolong (partiellement fermenté),
- Thé noir (Entièrement fermenté).

2-3-1-Origin et distribution

La Chine est le berceau du thé et le pays d'origine de sa culture. D'après les recherches botaniques récentes, on évalue l'origine de premières plantes de théiers entre 60 et 70 millions d'années dans le sud-ouest de la Chine. Puis de cette région, la culture des théiers s'est propagée dans d'autres provinces de Chine, puis au Vietnam et en Inde. C'est au IX^{ème} siècle que le thé fut introduit au Japon et dans le monde arabe. L'Europe le découvrit plus tardivement grâce à la Compagnie des Indes Orientales : Pays bas(ou Hollande) en 1610, France en 1636 et l'Angleterre en 1650 (Peyrin-Biroulet et al., 2004).

2-3-2-Description botanique

Camellia sinensis, *Théa sinensis* (Théacées ou Théier), couramment appelé le Thé, est un arbuste à feuilles vert foncé persistantes et à fleurs blanches et odorantes (Iserin et al., 2007). Cet arbuste peut atteindre 20 m de haut, c'est pour cela qu'on le surnomme l'arbre à thé mais dont la plantation ne dépasse pas 1,50 m. On récolte les jeunes bourgeons pointus et les feuilles qui produiront le thé. Le théier nécessite un climat chaud et humide et peut être cultivé jusqu'à 3000m d'altitude. Les récoltes débutent au printemps (début avril) et s'échelonnent jusqu'en automne (Arnal-Schnebelen et al., 2008 ; Debuigne et Couplan, 2009).

Camellia Sinensis possède deux variétés :

- Variété *Sinensis*, provient de Chine et de Taiwan, d'où son nom latin *Sinensis*. Elle a une stature plus petite (6m max. à l'état sauvage) et des feuilles délicates et est extrêmement riche en nutriments.
- Variété *Assamica*, est une espèce originaire de la région d'Assam en Inde, d'où son nom scientifique *Assamica*. Cette variété est beaucoup plus coriace et imposante (jusqu'à 20m max. à l'état sauvage), elle pousse bien dans des basses altitudes, et par conséquent remarquablement plus vite. Cependant, elle offre nettement moins de composants chimiques nutritifs et médicinaux et a un goût plus amer (Jörg Schweikart ,2011).



Figure 17 : *Camellia sinensis var. sinensis*
(Jorg Schweikart .,2011)



Figure 18 : *Camellia sinensis var. Assamica*
(Jorg Schweikart .,2011)

2-3-3-Classification

([https://fr.wikipedia.org/wiki/Th%C3%A9ier#:~:text=Le%20th%C3%A9ier%20\(Camellia%20sinensis\)%2C,originaire%20d'Extr%C3%A4me%2DOrient.](https://fr.wikipedia.org/wiki/Th%C3%A9ier#:~:text=Le%20th%C3%A9ier%20(Camellia%20sinensis)%2C,originaire%20d'Extr%C3%A4me%2DOrient.))

Camellia sinensis est une espèce d'arbustes de la famille des Théacées , la classification de Cronquist (1981) de *Camellia sinensis* est donnée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 06 : classification de *Camellia sinensis*

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Division	Angiospermes
Classe	Dicotylédones ou Magnoliopsidae
Ordre	Ericales
Famille	Theaceae
Genre	Camellia
Espèce	Sinensis

2-3-4-Utilisation thérapeutique

Le thé vert est une plante médicinale naturelle très puissante. Elle a des applications dans la prévention et le traitement d'un très grand nombre de maladie. Voici quelques-unes de ses propriétés médicinales (Phunget al, 2010) :

- ✓ Un des plus puissants antioxydants (neutralise les radicaux libres) (Frei B, Higdon JV, 2003)
- ✓ Puissant désintoxiquant

- ✓ Baisse du cholestérol dans le sang
- ✓ Active le métabolisme
- ✓ Stimule la brûlure des graisses (arriver à son poids idéal)
- ✓ Amélioration de la vitalité et performance sportive (force et endurance)
- ✓ Augmente la sensibilité à l'insuline (baisse du risque de diabète de type 2)
- ✓ Aide à la prévention de différents cancers, de l'artériosclérose, des maladies cardiovasculaires
- ✓ Anti-inflammatoire
- ✓ Antiviral, Antibactérien, Antifongique
- ✓ Anti-angiogénique (détruit l'arrivée d'oxygène vers les tumeurs)
- ✓ Renforce l'immunité
- ✓ Anti-hypertenseur (réduction de la tension artérielle)
- ✓ Anti-caries dentaires
- ✓ Aide à la digestion
- ✓ Désacidifiant (Augmente le PH du corps .i.e. baisse l'acidité).

Chapitre 03 :

Méthodes d'extraction

des extraits et

des huiles essentielles

Chapitre 3 : Méthodes d'extraction des extraits et des huiles essentielles

1-Introduction

Les huiles essentielles sont des liquides huileux aromatiques très concentrés renfermant des mélanges complexes des substances volatils constitués de plusieurs dizaines de composés (Bourrel ,1993; Touil et al., 2003; Boussaid et al ., 1998) obtenus à partir d'un type d'aromates et plantes aromatiques (fleurs, bourgeons, graines, permissions, brindilles, aboiement, herbes, bois, fruits et racines), et dans toutes les régions climatiques du globe.

La norme AFNOR NF T 75 - 006 (octobre 1987) a donné la définition suivante d'une Huile essentielle : "Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur (M.E.Lucchesi et al ., 2004),soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec" (N. Nait Said, 2007).

Un extrait végétal est une préparation naturelle à base d'extraits de plantes. Le but d'un extrait végétal est d'extraire les oligo-éléments et les principes actifs de certaines plantes pouvant avoir un effet bénéfique.

(<http://duchere.pistyles.fr/wp-content/uploads/sites/87/2017/06/Atelier-2-Tutoriel-Extraits-v%C3%A9g%C3%A9taux.pdf>)

On parle d'extraction végétale lorsqu'on utilise un solvant sur une matière première végétale pour en extraire certains composés ou molécules. Le solvant est ensuite éliminé partiellement ou totalement pour obtenir un extrait.

(<http://www.newonat-sas.fr/PBCPPlayer.asp?ID=684083>)

2. Techniques d'extraction

2-1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic (Richard et Peyron, 1992).

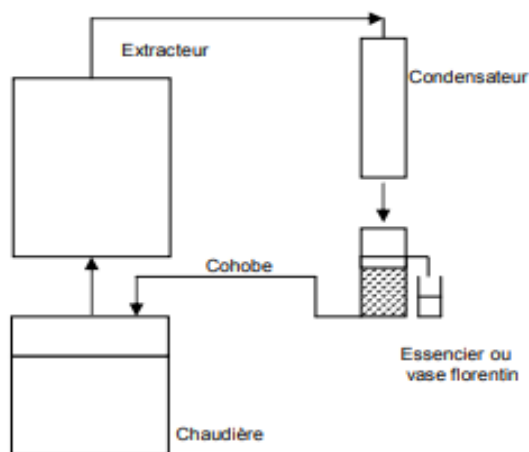


Figure19 : Principe schématisé de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur de l'eau (Richard et Peyron, 1992).

2-2.Extraction par Hydrodistillation d'huile essentielle

L'Hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors la décantation.

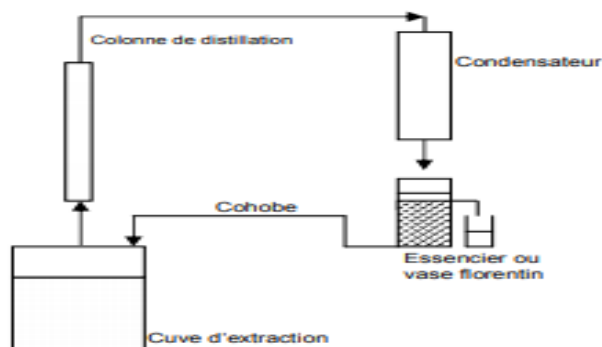


Figure 20:Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation

2-2-1.Hydrodistillation sous pression

C'est une technique de choix pour les essences difficilement distillables (Bocchio, 1985). On traite ainsi certaines matières premières dont les constituants ne peuvent être entraînés par la vapeur à la pression atmosphérique du fait de leur masse moléculaire élevée, par exemple le santal, le girofle, les rhizomes de vétiver, de gingembre ou encore d'iris (Garnero, 1985 ; Tournaire, 1980). Bien que le procédé sous pression conduise à une amélioration du rapport d'entraînement, donc, à des économies d'énergie (Bocchio, 1985 ; Garnero, 1985), l'influence d'une température élevée (supérieure à 100°C) sur la qualité de l'huile essentielle donne lieu à certains artéfacts. De plus, les prix et les contraintes des équipements nécessaires contribuent à freiner l'utilisation du procédé (Tournaire, 1980).

2-2-2. Le système de thermopompage

Le séparateur Tournaire consiste à pomper la chaleur du condenseur et à l'utiliser pour la production de vapeur de telle sorte que l'on se retrouve en présence d'un cohobage en phase gazeuse. Les économies d'énergie calorifique et d'eau de refroidissement se situeraient entre 60 et 90% (Tournaire, 1980).

2-2-3. Turbodistillation

C'est une hydrodistillation accélérée en discontinu. Son objectif est de limiter les inconvénients d'une longue durée d'extraction ou d'une surpression. Pour activer la distillation à la pression atmosphérique, l'alambic est équipé d'une turbine qui permet d'une part, la dilacération des matières végétales, d'autre part une agitation turbulente, d'où un meilleur coefficient de transfert thermique et une augmentation de la surface de vaporisation.

Le procédé permet en outre la récupération des fractions les plus volatiles grâce à un système de condensation secondaire. La présence d'une colonne à plateaux contribue à l'enrichissement des vapeurs en huile essentielle, d'où une amélioration du rapport d'entraînement. Un système de cohobage recycle les eaux aromatiques en tête de colonne afin de favoriser l'entraînement des composés non décantés (Ganou, 1993).

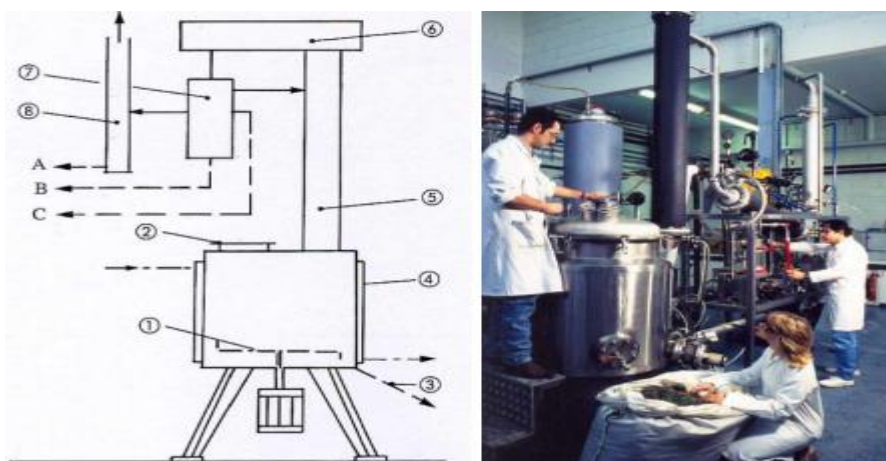


Figure 21 : Principe schématisé de l'appareillage de Turbodistillation (DCFAROMAPROCESS). 1) broyeur humide à turbine ; 2) ouverture de chargement ; 3) vidange du broyat ; 4) chauffage/double enveloppe ; 5) colonne de distillation ; 6) condensation et reflux ; 7) système de décantation ; 8) piégeage des têtes. Recette : A. Eaux aromatique ou terpènes ; B. Huiles lourdes ; C. Huiles légères. (Martini et Seiller, 1999).

2-2-4. L'hydro-distillation assistée par micro ondes

Il existe divers exemples d'applications de cette technique à l'extraction de certains organes végétaux : épices de *Cuminumcyminum* L. et *Zanthoxylumbungeanum* L. par (Wang et al., 2006), fruits de *Xilopia* par (Stashenko et al., 2004), hysope, sarriette, marjolaine, sauge

(*Salvia officinalis*) et thym par(Collin ,1991), feuilles de Lippiasidoïdes par(Craveiro et al.,1989), menthe poivrée et persil commun par(Pare et al., 1989). L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation (ramenée à quelques minutes) et incrémente le rendement d'extrait. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. Il semble que les problèmes technologiques concernent la mise en œuvre d'un générateur de rayonnement haute fréquence susceptible d'irradier un volume important. Nombre d'expérimentations stipulent l'intervention conjointe d'un solvant organique (tétrachlorure de carbone, dichlorométhane, hexane, éthanol) sans en préciser la mise en œuvre.

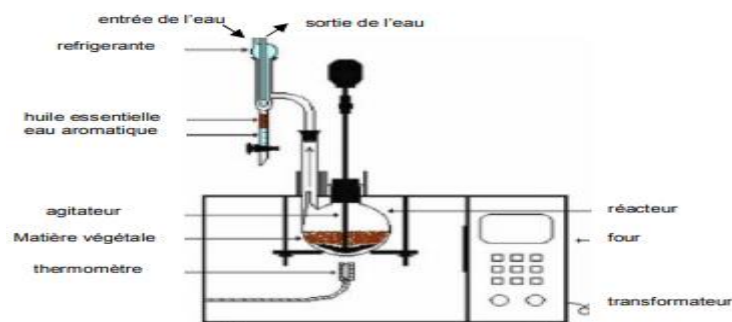


Figure22 : Principe schématisé de l'appareillage de système de l'hydrodistillation sous micro ondes (Wang et al, 2006)

D'autres recherches sont menées sur l'extraction des métabolites secondaires dans l'optique de développement de technologies innovantes : étude de l'extraction par micro ondes sans solvant de (*Cuminumcyminum* L.) et (*Zanthoxylumbungeanum*) où le rapport matière sèche par poudre de carbonyle de fer (matière inerte à l'huile et absorbante de rayonnement) a été 1/6 (Wang et al., 2006).

2-2-5.L'hydrodistillation assistée par ultrasons

Il s'agit dans ce cas précis d'un traitement « pré » ou « post » opératoire. En effet, les micro cavitations générées par les ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines celluloses. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation des constituants des huiles essentielles. Dans certains cas, les rendements en huile essentielle sont augmentés et les cinétiques accélérées.

L'utilisation des ultrasons pendant l'hydrodistillation est vaine. Une unité d'hydrodistillation équipée d'une fontaine d'ultrasons peut produire plus vite des points d'ébullition, mais ne dégonflent pas les bulles (Vinatoru, 2001). Par conséquent, les ultrasons ne sont pas une bonne option pour les procédés par ébullition. Cependant, l'extraction assistée par les ultrasons est une technique de choix pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition.

De nombreux travaux d'extraction assistée par ultrasons sont décrits, pour des cas récents comme l'extraction des graines de carvi par (Chemat et al., 2004), de fenouil (*Foeniculum vulgare*), houblon (*Humulus lupulus*), consoude (*Calendula officinale*), Rue de Syrie (*Peganum harmala*), menthe (*Mentha piperita*), tilleul (*Tilia cordata*), et inule aulnée (*Inula helenium*) par (Toma et al., 2001), de menthe, camomille (*Camomilla commune*), arnica (*Arnica montana*), sauge (*Salvia officinalis*), coriandre (*Coriandrum sativum*), aneth (*Anethum graveolens*) et fenouil (*Foeniculum vulgare*) par (Vinatoru et al., 1997). L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction, d'augmenter le rendement en extrait et de permettre on faciliter l'extraction de molécules thermosensibles.

2-3.L'expression à froid

L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'huile essentielle (AFNOR) (Martini et Seiller, 1999).

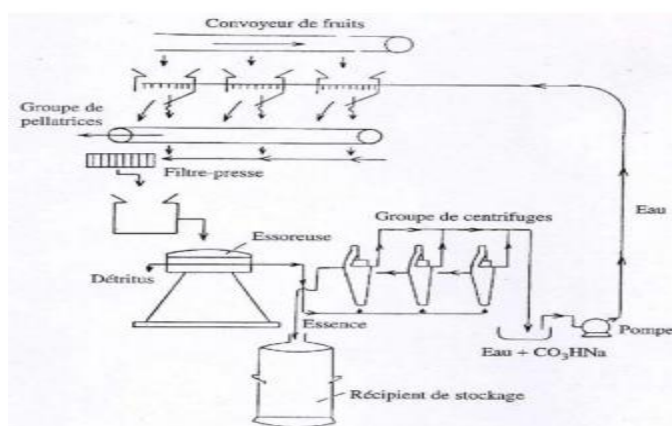


Figure23 : Schéma du « procédé de récupération de l'huile essentielle de citron et autres agrumes » (Martini et Seiller, 1999).

2-4. Autres extractions et méthodes

2-4-1. Extraction par solvant organique

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (Kim et Lee, 2002 ; Dapkevicius et al., 1998 ; Legrand, 1993).

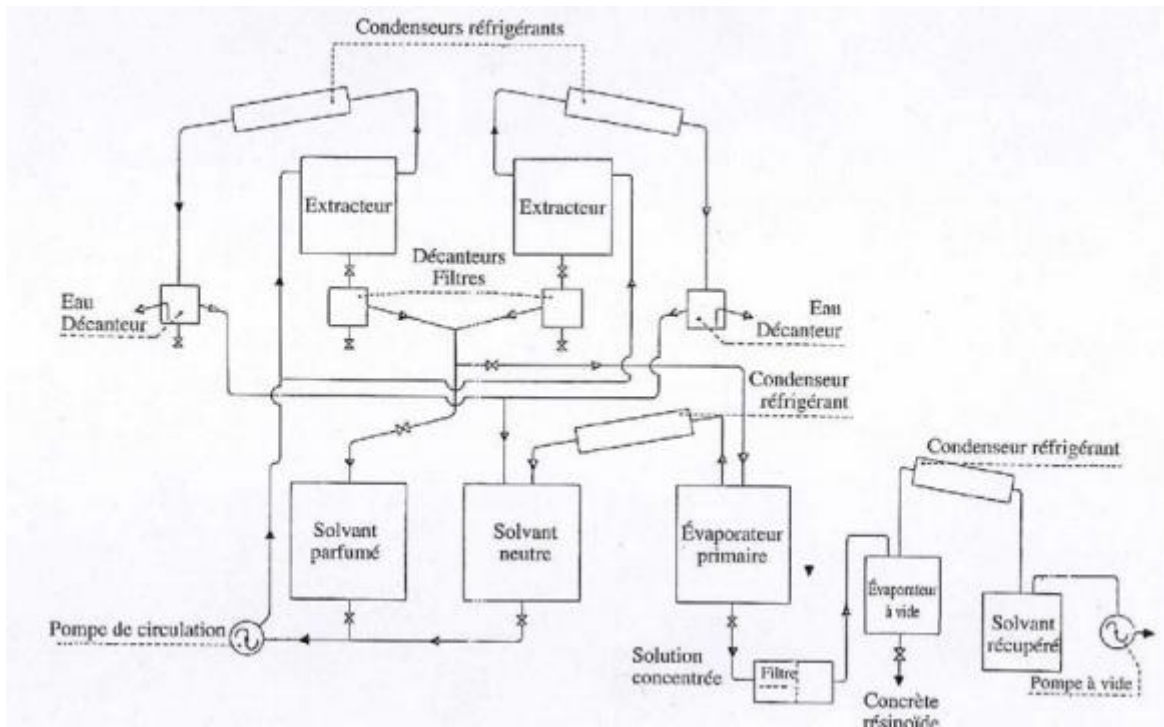


Figure 24 : Schéma d'une batterie d'extraction par solvant pour végétaux bruts. (Martini et Seiller, 1999).

En fonction de la technique et du solvant utilisé on obtient (AFNOR) :

- Des hydrolysats : extraction par solvant en présence d'eau ·
- Des alcoolats : extraction avec de l'éthanol dilué
- Des teintures ou solutions non concentrées obtenues à partir de matières premières traitées par l'éthanol ou des mélanges éthanol/eau.
- De résinoïdes ou extraits éthanoliques concentrés ·
- Des oléorésines et des concrètes qui sont respectivement des extraits à froid et à chaud au moyen de solvants divers.

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement.

2-4-2.Extraction par fluide à l'état supercritique

L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en œuvre généralement le dioxyde de carbone (Khajeh et al., 2005 ; Braga et al., 2005 ; Carvalho et al., 2005, Moura et al., 2005, Khajeh et al. 2004 ; Aghel et al., 2004 ; Baysal et Starmans, 1999). D'autres travaux de recherches de (Deng et al. ,2005), Ozel et al., 2003 ;Gámiz-Gracia et Luque de Castro 2000), Luque de Castro et Jiménez 1998) montrent l'utilisation de l'eau dans son état supercritique. Dans ce système le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état

désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente.

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles. A ces différents avantages s'ajoutent ceux de l'innocuité, d'inertie et d'inflammabilité de CO₂. En outre, en fonction des conditions de pression et de température, on modifie le pouvoir solvant. Il est donc possible dans certaines limites d'orienter la composition de l'extrait, d'autant qu'il est envisageable d'utiliser un agent de co-extraction pour réguler la polarité. Le frein du développement de cette technologie est le coût élevé des appareillages lié à l'application de pressions de plusieurs centaines de bars.

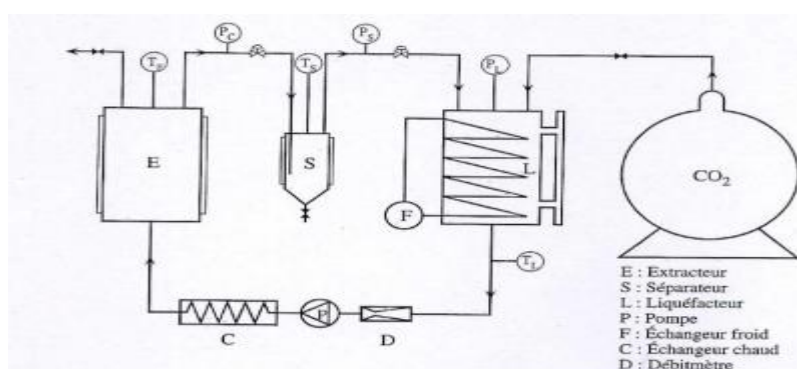


Figure 25 : Schéma du système d'extraction CO₂ des solides (Martini et Seiller, 1999).

2-4-3. Macération:

Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre. Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures) (Pierre et Lis, 2007). Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide (Pierre et Lis, 2007).

Pour l'alcool, le vinaigre, huiles, cette macération peut se prolonger plusieurs jours sans inconvénients (Pierre et Lis, 2007).

2-4-4- Infusion

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (Sofowora, 2010).

2-4-5- Décoction

Les plantes sont versées dans l'eau froide et portées à ébullition un temps plus ou moins long, deux ou trois minutes pour les feuilles, les tiges et les fruits ; cinq minutes ou plus pour les écorces et les racines (Pierre et Lis, 2007).

Chapitre 04 :

Matériels

et

Méthodes

Chapitre 4 : Matériels et Méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

❖ Critères de choix des plantes

Pour la valorisation de la médecine traditionnelle et vu l'importance de la biodiversité de notre région, on a étudié trois espèces végétales : *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis* ; les critères de sélection des deux premières plantes médicinales objets dans notre étude sont les suivants :

- Abondance de ces plantes dans notre région.
- Utilisation traditionnelle dans le traitement des maladies d'origine microbienne.
- La non toxicité des plantes, vu qu'elles sont utilisées dans les préparations culinaires et dans les tisanes.
- Leurs richesses en substances aromatiques (extraits) et polyphénols.
- Le manque de travaux sur la composition chimique et des activités biologiques des extraits et polyphénols isolés des plantes de cette région.

❖ Récolte, situation géographique, identification et conservation

La plante *Mentha pulegium*, ont été récoltées dans la région AÏN EL HADJAR (Saida) durant le mois de Mars 2021. La cueillette s'est effectuée le matin.

Ain el Hadjar est située dans la Wilaya de Saïda l'Ouest de l'Algérie, à une Latitude: **34° 45' 31" Nord** , Longitude: **0° 8' 40" Est** et une altitude égale à 1014 m. Cette région est caractérisée par un climat semi-aride sec et froid (Classification de Köppen: BSk).

(<https://fr.db-city.com/Alg%C3%A9rie--Sa%C3%AFda--A%C3%AFn-El-Hadjar--A%C3%AFn-El-Hadjar>)



Figure 26 : Localisation d'Ain el hadjar dans la wilaya de Saïda



Figure 27 : Mentha pulegium Dans son environnement

[https://fr.wikipedia.org/wiki/A%C3%AFn_El_Hadjar_\(Sa%C3%AFda\)#/media/Fichier:Dz_-_20_-_A%C3%AFn_El_Hadjar.svg](https://fr.wikipedia.org/wiki/A%C3%AFn_El_Hadjar_(Sa%C3%AFda)#/media/Fichier:Dz_-_20_-_A%C3%AFn_El_Hadjar.svg)

La plante *Artemisia absinthium* ont été récolté entre le mois février et mars 2021 dans la région de **Moulay Larbi** (Saida).

Moulay Larbi est située dans la Wilaya de Saïda, à une Latitude: 34° 38' 55" Nord,, Longitude: 0° 0' 58" Est et une altitude égale à 1141 m. Cette région est caractérisée par un climat semi-aride sec et froid (Classification de Köppen: BSk) (<https://fr.db-city.com/Alg%C3%A9rie--Sa%C3%AFda--A%C3%AFn-El-Hadjar--Moulay-Larbi>)



Figure 28 : Localisation de moulay larbi dans la wilaya de Saïda.



Figure 29 : Artemisia absinthium dans son environnement

https://fr.wikipedia.org/wiki/Moulay_Larbi#/media/Fichier:Dz_-_20_-_Moulay_Larbi.svg

Pour la plante *Camelia sinensis* nous avons achetés cette plantes a partir du supermarché On l'a eu prêt et séché et on l'a utilisé directement dans notre étude.



Figure 30 : Feuille de la plante *camelia sinensis*

L'identification des échantillons de la *Mentha pulegium* et *Artemisia absinthium* ont été réalisées au Laboratoire de Biologie végétale de la Faculté des Sciences Biologiques de l'Université Dr Moulay- Taher de Saïda. Les plantes ont été débarrassées des débris, lavées avec de l'eau de robinet, ensuite Le matériel végétal recueilli est séché à température ambiante et à l'ombre pendant quinze jours, afin de préserver au maximum l'intégrité de ses molécules. Par contre la plante *Camelia sinensis* Nous avons achetés secs et prêts à l'emploi dans notre étude.

Les plantes ainsi obtenues sont conservées dans des flacons en verre ambrés en vue des expérimentations (screening phytochimique, Dosage des polyphénols)

1.2. Matériel non biologique

1-2-1.-Matériel de laboratoire

Plusieurs réactifs chimiques et appareillages (Tab. 07) ont été utilisés dans la présente étude (extraction, dosage et activités biologiques).

Tableau 07 : Les produits chimiques et les appareillages utilisés dans la présente étude.

Appareillages	Réactifs chimiques
Bécher	Méthanol

Micropipettes (ISOLAB)	Ethanol
Balance de précision (OHALUS)	Chlorure ferrique (FeCl3)
Etuve (Memmert)	Acide gallique
Spectrophotomètre	HCl
Distillateur	Butanol
Agitateur	Alcool chlorhydrique
Appareil HPLC de type Shimadzu Prominence-i LC-2030C 3D	Alcool isoamylique
Colonne c18	Folin-Ciocalteu
Détecteur UV	Catéchine
	NaNO2
	NaOH
	DPPH
	Eau distillé
	Acide acétique

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits

Les extraits méthanoliques des parties aériennes des *Mentha pulegium*, *Artémisia absinthium* et *Camellia sinensis* sont obtenus par méthodes Extraction à froid.

2.1.1. Extraction par macération

Suivant le protocole d'extraction décrit par (Stanković, 2011); le matériel végétal sec et broyé de chaque plante (20 g) est soumis à une extraction par macération dans le méthanol (200ml) pendant 48 heures avec renouvellement de solvant après 24 heures et sous agitation magnétique de temps en temps. Les macéras sont filtrés sur papier filtre Whatman N°1, les filtrats sont évaporés à sec au moyen d'un évaporateur rotatif, Après séchage à l'étuve (45°C) pendant 24 h. les extraits obtenus sont utilisés pour les tests phytochimiques et biologiques.



Figure 31 : Méthode d'Extraction par macération des trois plantes



Figure 32 : Extraits méthanoliques des plantes *Mentha pulegium*, *Artémisia absinthium* et *Camellia sinensis*

2-1-2. Le rendement d'extraction

On calcule le rendement d'extraction après l'étape d'extraction :

Le rendement exprimé en pourcentage par rapport au poids du matériel de départ est déterminé par la relation suivante :

$$R(\%) = \frac{M_{ext} \times 100}{M_{éch}}$$

R : rendement en %

M_{ext} : est la masse de l'extrait après l'évaporation du solvant en g

M_{éch} : est la masse de l'échantillon végétal en g (Clémence et Dongmo, 2009).

2-2. Analyse phytochimique

2-2-1. Analyses qualitatives

Pour la réalisation de criblage phytochimique on a préparé un extrait aqueux par la méthode d'infusion : Il consiste à verser sur la plante (10g) à infuser de l'eau frémissante (100ml), c'est à dire tout juste bouillante, à une température de 80-90°C ce mélange repose de quelques minutes à une demi-heure, en le remuant de temps en temps. Le mélange final est tamisé et le liquide obtenu est souvent clair.



Figure 33 : Extraction par infusion des trois plantes

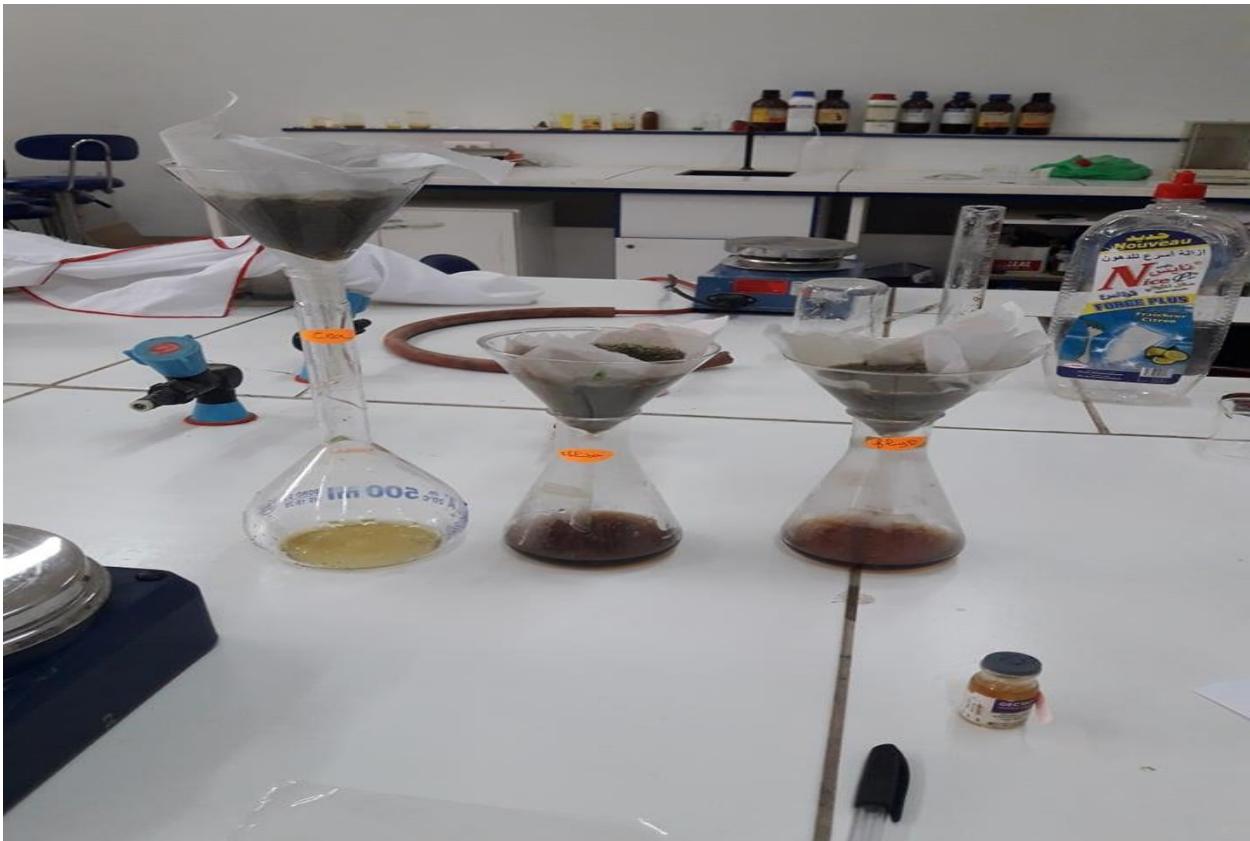


Figure 34 : Extraits aqueux des plantes des *Mentha pulegium*, *Artémisia absinthium* et *Camellia sinensis*.

✓ Les tests phytochimiques ont été réalisés pour détecter les métabolites secondaires selon la caractérisation du protocole standard, les saponines, le tanin, les flavonoïdes, les proanthocyanidines et polyphénols ont été caractérisés selon les procédures expérimentales décrites par Trease-Evans (1987), Sofowora (1982) et Harborne (1973); Le résultat de chaque test est exprimé qualitativement et phytochimiquement par le signe (+) positif et (-) négatif.

F. Les tanins

Les tanins gaulois ont été identifiés par addition de $FeCl_3$; l'ajout de 5 gouttes de $FeCl_3$ à 2% sur 5mL de la solution aqueuse l'extrait a montré l'apparence d'une couleur bleu-noir profond indiquant la présence de tanins galliques. Une solution alcoolique d'acide gallique est utilisée comme Témoin.

G. Saponines

Les saponines ont été mises en évidence en agitant 10 ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai. Le tube a été agité pendant 15 secondes puis laissé reposer 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm, indique la présence de saponines.

H. Proanthocyanidols

Les proanthocyanidols ont été identifiés en chauffant à ébullition un mélange de 2 ml d'extrait aqueux et 2 ml de réactif (HCl concentré 20 mL + 20 mL butanol), l'apparition d'une couleur rouge indique la présence de proanthocyanidines.

I. Flavonoïdes

Pour confirmer la présence des flavonoïdes, la «réaction à la cyanidine» a été utilisée. Deux 2 ml de chaque extrait étaient évaporé et le résidu a été repris dans 5 mL d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois. Ajout de 2-3 magnésiums les éclats entraînent une réaction exothermique puis une couleur rose-orange ou violette (violet) a été observée. L'ajout de 3 gouttes d'alcool isoamylique ont intensifié cette coloration qui a confirmé la présence de flavonoïdes. Une solution alcoolique de quercétine a été utilisée comme témoin.

J. Polyphénols

Pour mettre en évidence les polyphénols, la réaction avec le chlorure ferrique (FeCl_3) a été utilisée. Ainsi, 2 ml de chaque solution ont été l'ajout d'une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés polyphénoliques l'apparition d'une coloration vert noirâtre ou bleu plus ou moins sombre. Le contrôle a été réalisé avec la solution alcoolique d'acide gallique.

2-2-2. Analyses quantitatives

C. Contenu phénolique total

Les composés phénoliques totaux ont été dosés en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu, suivant la méthode de Singleton et Rosi (1965), légèrement modifiée par Dewanto, Wu, Adom et Liu (2002). Une aliquote de fraction d'échantillon diluée a été ajoutée à 0,5 ml d'eau distillée et 0,125 ml de réactif Folin-Ciocalteu. Le mélange a été secoué et incubé pendant 6 min avant d'ajouter 1,25 ml. Na_2CO_3 (7%). La solution a ensuite été ajustée avec de l'eau distillée à un volume final de 3ml et soigneusement mélangée. Après incubation dans l'obscurité, l'absorbance a été lue à 760 nm par rapport à un blanc préparé.

Les teneurs phénoliques totales ont été exprimées en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de résidu sec (mg GAE g^{-1}) à travers la courbe d'étalonnage avec de l'acide gallique. La courbe d'étalonnage était de 0-400 mg / mL ($R^2=0.99$). Tous les échantillons ont été analysés en trois répétitions.

D. Teneur totale en flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux ont été mesurés en utilisant un test colorimétrique développé par Dewanto et al. (2002). Une aliquote d'échantillon dilué ou de solution standard de catéchine a été ajoutée à 75 μL NaNO_2 solution (7%) et mélangé pour 6 min avant d'ajouter 150 μL AlCl_3 (dix%). Après 5 min, 500 μL NaOH une solution (1 M) a été ajoutée. Le volume final a été ajusté à 2,5 ml, soigneusement mélangé, et l'absorbance du mélange a été

déterminée à 510 nm. Les flavonoïdes totaux ont été exprimés en mg équivalent catéchine par gramme de résidu sec (mg CE / g), par la courbe d'étalonnage de catéchine (0-400 mg / mL). Les échantillons ont été analysés en trois exemplaires.

2-3.Activité antioxydante

2-3-1.Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution. Il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm. Sa couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine (jaune) par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (Figure 35). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

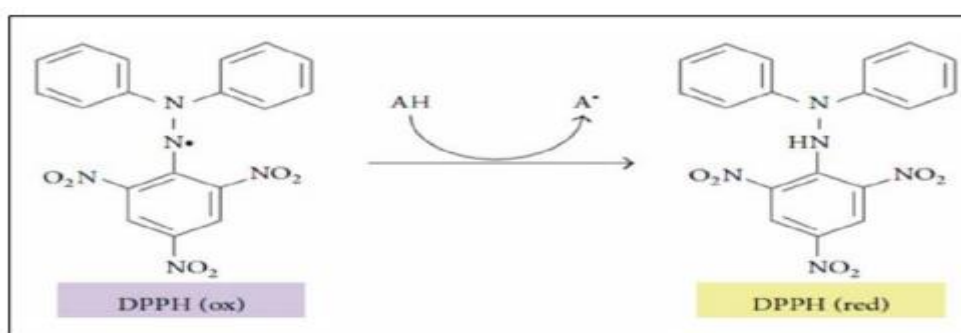


Figure 35 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Teixeira et al., 2013).

2-3-2.Mode opératoire

Test de piégeage du radical libre DPPH : Le test antioxydant a été réalisé avec la méthode au DPPH (Sanchez-Moreno C et al ; 1998). 50µl de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations (de 0,0125 à 5mg/ml) sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test est répété 3fois. Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%).

$$\% \text{ CR} = [(\text{AB} - \text{AA}) / \text{AB}] * 100$$

% CR : le pourcentage de capture du radical DPPH.

AB : l'absorbance du blanc (t = 0min).

AA : l'absorbance de la solution de l'extrait testé

2-3-3. Détermination de la concentration inhibitrice médiane (IC50)

L'IC50 est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants (extrait ou toute autre substance antioxydant) nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux. Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testés. Pour chaque extrait ou antioxydant de référence, une courbe de régression linéaire ($Y = a X + b$) est établie afin de calculer l'IC50 qui permettra la caractérisation du pouvoir antioxydant des extraits. Une faible valeur de l'IC50 indique une forte activité antioxydante (Molyneux, 2004).

2-4 .Caractérisation des polyphénols par HPLC (analyse qualitative)

Les méthodes de dosage classiques sont le plus souvent, colorimétriques ou spectrophotométriques. La chromatographie en phase liquide à haute performance (l'abréviation anglaise HPLC - High Performance Liquid Chromatography est plus fréquemment utilisée) est sans doute la technique de séparation la plus appréciée en analyse phytochimique, elle offre la possibilité d'une caractérisation rapide et précise de tous les composés phénoliques présents dans un mélange (Bruneton, 1999 ; Gomez-Caravaca et al., 2006 ; Proestos et al., 2006). La composition chimique des extraits méthanoliques de plantes *Mentha pulegium*, *Artémisia absinthium* et *Camellia sinensis* est déterminée par HPLC/UV. Ces analyses ont été réalisées par le laboratoire de Mesure ,Université Abdelhamid Iben Badis , Mostaganem .

2-4.1. Principe

Cette méthode de séparation fait appel aux mêmes éléments de base que ceux employés pour la chromatographie classique sur colonne, soit un ou plusieurs solvants et une colonne remplie avec une phase stationnaire, mais avec un appareillage plus sophistiqué. La grande différence par rapport à la chromatographie classique sur colonne réside dans la durée d'élution. Cette vitesse est obtenue par l'application d'une pression élevée grâce à une pompe qui maintient constant le débit de l'éluant.

Dans la colonne, les divers composés de l'échantillon sont séparés les uns des autres en raison de leurs diverses affinités à l'égard des deux phases stationnaire et mobile. Elle se distingue également de la chromatographie classique par l'utilisation d'un détecteur relié au système où le message est enregistré puis exploité (Braithwaite et Smith, 1999 ; Macheix et al., 2005).

Les phases mobiles utilisées sont des mélanges d'eau et d'un solvant organique miscible (acétonitrile, méthanol) ou des combinaisons de solvants organiques (alcools, hexane, dichlorométhane...) miscibles entre eux. Souvent, la composition de la phase mobile est modifiée au cours de l'analyse, c'est le mode dit « gradient » ou « élution graduée » en

opposition au mode « isocratique » pour lequel la composition de la phase mobile reste la même tout au long de l'analyse. A la sortie de la colonne les composés sont détectés à l'aide d'un détecteur (pouvant être UV, IR, SM).

2-4-2. Mode opératoire

Les analyses par HPLC sont effectuées à l'aide d'un appareil de type Shimadzu Prominence-i

LC-2030C 3D

- ✓ Colonne c18 : 25cm x4.6mm (Supelco), épaisseur 5 µm.
- ✓ Température de colonne : 27 °C.
- ✓ Elution par gradient de solvants :

Phase A : eau + acide acétique (pH=3).

Phase B : Méthanol+ acide acétique (pH=3).

- ✓ Débit : 0.8 ml/min.
- ✓ Détection : 280 et 345 nm.

2-4-3. Expression des résultats

Les différents composés à analyser sont identifiés par comparaison de leurs temps de rétention et leurs spectres UV- visible avec ceux des étalons. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la réponse chromatographique.

2-5. étude épidémiologique sur les infections dentaires

Nous avons mené une étude analytique sur un échantillon de 100 patients venant se faire traiter leur cavité buccal au niveau de la polyclinique nord de Saida car il s'agit d'un service d'urgence 24h /24h, proche de la plus part des centre d'hébergement qui reçoit quotidiennement un grand nombre du patients de différents catégories, sur la base d'un ensemble de 17 questions direct auxquelles répondre et les noter dans des fiches de questionnaires dans un délai de 2 mois.

Les résultats sont traités par logiciel Microsoft office Excel 2007.

Chapitre 05 :

Résultats

et

Discussion

Chapitre 5 : Résultats et discussion

1. RESULTATS

1.1. Rendement des extractions

Les rendements d'extraction de *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis* sont déterminés d'après la relation suivante :

$$R(\%) = M_{\text{ext}} \times 100 / M_{\text{éch}}$$

Tableau 08 : résumé de rendement d'extraction pour chaque plantes.

	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Artemisia abinthium</i>	<i>Camelia sinensis</i>
Masse d'échantillon (g)	20	20	20
Masse d'extrait (g)	0.23	1.34	2.8
Rendement (%)	1.15	6.7	14

1-2. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis* en utilisant des réactifs spécifiques de révélation basés sur des réactions de précipitation et de turbidité ou un changement de couleur spécifique. Ainsi :

- Une réaction franchement positive est représentée par: + + +
- Une réaction moyennement positive est représentée par: + +
- Une réaction faiblement positive est représentée par: +

Les résultats expérimentaux du criblage phytochimique sont mentionnés dans les tableaux 09, 10, 11

Tableau 09 : Résultats des tests phytochimiques de la plante *Mentha Pelugium*

Composes chimiques	Résultats	Photos
--------------------	-----------	--------


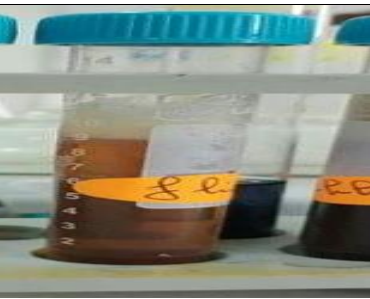


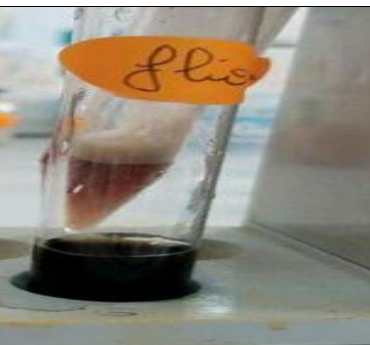
<p>Tanins</p> <p>couleur bleu-noir</p> <p>+++</p>	
<p>Saponines</p> <p>hauteur de mousse</p> <p>+</p>	
<p>Proanthocyanidols</p> <p>Couleur rouge</p> <p>+++</p>	
<p>Flavonoïdes</p> <p>couleur rose-orange</p> <p>++</p>	
<p>Polyphénols</p> <p>vert noirâtre ou bleu plus ou moins sombre</p> <p>+</p>	

Tableau 10 : Résultats des tests phytochimiques de la plante *Artemisia abinthium*

Composes chimiques	Résultats	Photos
--------------------	-----------	--------


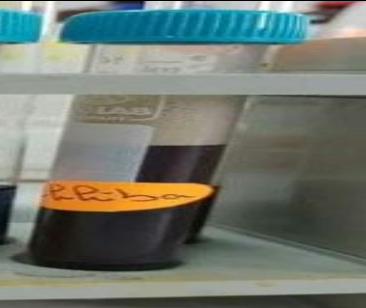


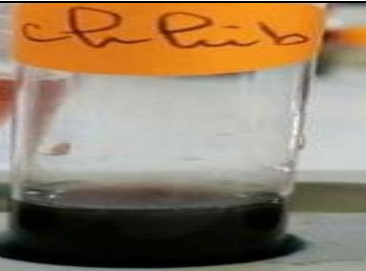





<p>Tanins</p> <p>couleur bleu-noir +++</p>	
<p>Saponines</p> <p>hauteur de mousse ++</p>	
<p>Proanthocyanidols</p> <p>Couleur rouge ++</p>	
<p>Flavonoïdes</p> <p>couleur rose-orang +++</p>	
<p>Polyphénols</p> <p>vert noirâtre ou bleu plus ou moins sombre ++</p>	

Tableau 11 : Résultats des tests phytochimiques de la plante *Camelia sinensis*

Composes chimiques	Résultats	Photos
--------------------	-----------	--------

<p>Tanins</p> <p>couleur bleu-noir +++</p>	
<p>Saponines</p> <p>hauteur de mousse +++</p>	
<p>Proanthocyanidols</p> <p>Couleur rouge +++</p>	
<p>Flavonoïdes</p> <p>couleur rose-orange ++</p>	
<p>Polyphénols</p> <p>vert noirâtre ou bleu plus ou moins sombre +++</p>	

1-3. Analyse quantitative et dosages biochimiques

Un dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes a été effectué afin de caractériser la teneur des extraits méthanolique préparés à partir des plantes *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis*. Le contenu en polyphénols totaux a été déterminé par la

méthode du Folin ciocalteu (suivant la méthode de Singleton et Rosi ., 1965 , légèrement modifiée par Dewanto, Wu, Adom et Liu .,2002, où l'acide gallique a été utilisé comme standard (760nm). Pour les flavonoïdes, le dosage a été réalisé selon la méthode du trichlorure d'aluminium (Dewanto et al., 2002, en utilisant la catéchine comme standard (510nm).

1-3-1.Courbes d'étalonnages

c. Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux

Cette courbe est établie en utilisant l'acide gallique comme référence. La formule de la régression linéaire de cette courbe est de $y=0.0033x + 0,0029$ avec un coefficient de corrélation R^2 égal à 0.996 (figure 36).

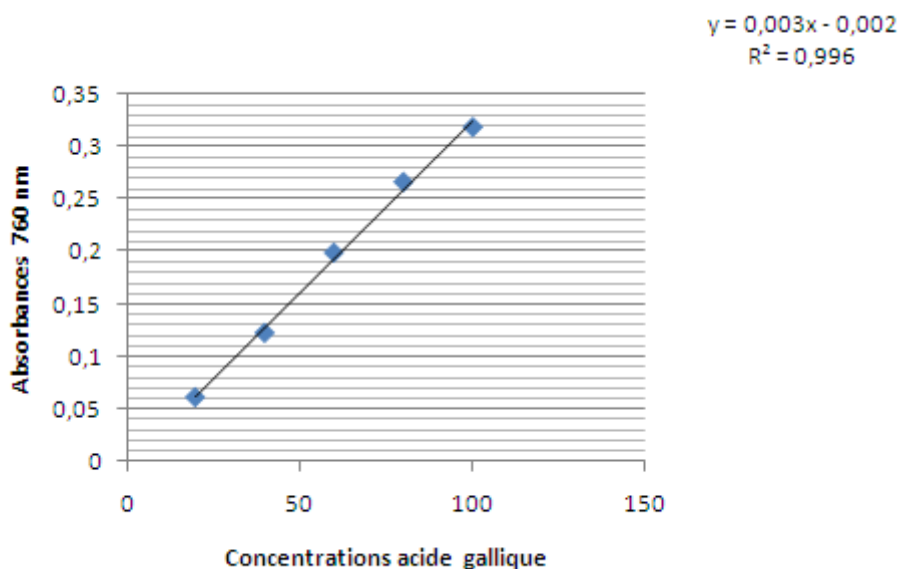


Figure 36 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

d. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

Le composé de référence utilisé pour l'établissement de cette courbe est la catéchine. La formule de la régression linéaire de cette courbe est de $y=0,0011x + 0,0621$ avec un coefficient de détermination R^2 égal à 0,995 (figure 37).

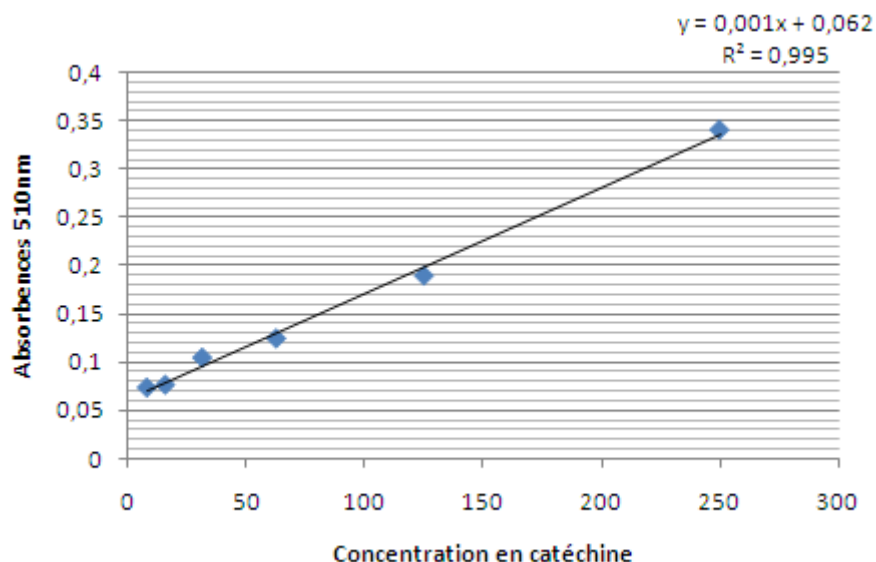


Figure 37 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

1-3-2. Analyses spectrophotométriques des extraits

Les extraits méthanoliques ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre, pour leurs contenus en polyphénols et en flavonoïdes, les résultats du dosage sont présentés dans les tableaux 12 et 13.

Tableau 12 : Teneur en polyphénols totaux, des extraits méthanoliques des plantes *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis*. Les valeurs représentent la moyenne de deux essais \pm SD.

	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Artemisia abinthium</i>	<i>Camelia sinensis</i>
Polyphénols (mgEAG/g)	24.5 \pm 2.14	33.9 \pm 0.43	38.3 \pm 1.2856

Tableau 13 : Teneur en Flavonoïdes totaux, des extraits méthanoliques des plantes *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis*. Les valeurs représentent la moyenne de deux essais \pm SD.

	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Artemisia abinthium</i>	<i>Camelia sinensis</i>
Flavonoïdes (mg EC/g)	46.44 \pm 22.50	75.89 \pm 44.35	41.16 \pm 26.36

1-4. Activité antioxydante des extraits

Les résultats obtenus de piégeage de radical libre DPPH sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits de chaque plante (Figure 38)

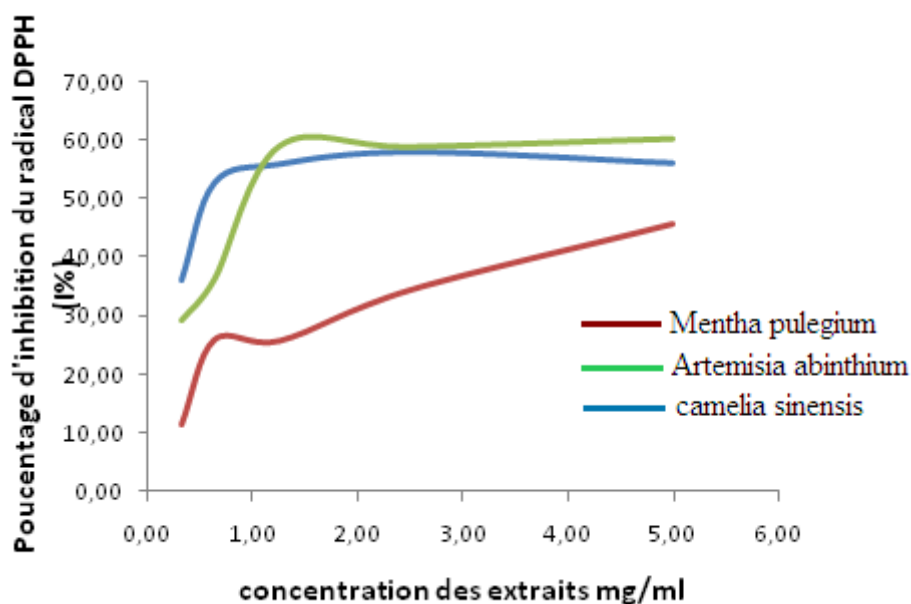


Figure 38 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des extraits méthanoliques des plantes .

Les IC50, Pour les trois extraits, ou les concentrations nécessaires pour réduire 50% du radical libre DPPH (mg/ml) est calculée à partir des équation des régressions linéaire des graphes .Les valeurs sont représentées dans le tableau 14.

Tableau 14 : les valeurs des IC50 des différents extraits méthanolique des plantes.

	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Artemisia abinthium</i>	<i>Camelia sinensis</i>
IC50 (mg/ml)	5.44	2.17	1.31

1-5. Chromatographie liquide à haute performance

Les résultats de l'analyse HPLC/UV des extraits méthanoliques des trois plantes *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis* sont présentés dans les tableaux 15 ,16 et 17 respectivement.

Tableau 15: résultat de chromatographie liquide a haute performance de *Mentha pulegium*

RT	Lambda max	Compound	Area	% area
22,383	325/284	Inconnu	1249139	1,628

23,136	223/283	Inconnu	4196676	5,470
25,606	283	Inconnu	2120485	2,764
25,862	223/320	Inconnu	1402742	1,828
27,407	345/265/312	Inconnu	1994307	2,599
28,802	331	Inconnu	1244515	1,622
29,505	223	Inconnu	838936	1,093
30,539	223/326/313	Inconnu	8669937	11,300
33,675	221/344	3,4,5 trimethoxycinnamic	1031353	1,344
34,315	261/343/353	Inconnu	2148731	2,800
35,272	303/223/282/256/353	P-coumaric acid	3076641	4,010
36,837	342/291	Inconnu	4578040	5,967
37,815	226/302	Inconnu	1893275	2,468

Tableau16 : résultat de chromatographie liquide a haute performance de *Artemisia abinthium*

RT	Lambda max	Compound	Area	% area
16,711	265	Caffeic acid	1331950	1,922
23,191	282/322	Syringic acid	2347133	3,387
25,661	279/317/348	Syringic acid	1487448	2,146
26,964	267/322	Epigallocatechin gallate	855705	1,235
27,499	251/341/295	Vanillic acid	1096201	1,582
28,163	321/295	Chlorogenic acid	3072035	4,433
34,669	233/271/326	Inconnu	7428652	10,719
35,342	295/377	Inconnu	1448294	2,090
36,956	341/287	Apigenin	1456990	2,102

Tableau 17: résultat de chromatographie liquide a haute performance de *Camelia sinensis*

RT	Lambda max	Compound	Area	% area
16,706	205/274/321	Caffeic acid	3826600	5,522
21,530	205/274/396	Inconnu	1658730	2,393
24,446	267/337/380	Syringic acid	1282062	1,850
34,674	237/274/357/370/318	Inconnu	10599049	15,294

Datafile Name:Mentha - 2 -1.lcd
Sample Name:Mentha - 2 -
Sample ID:Mentha - 2 -

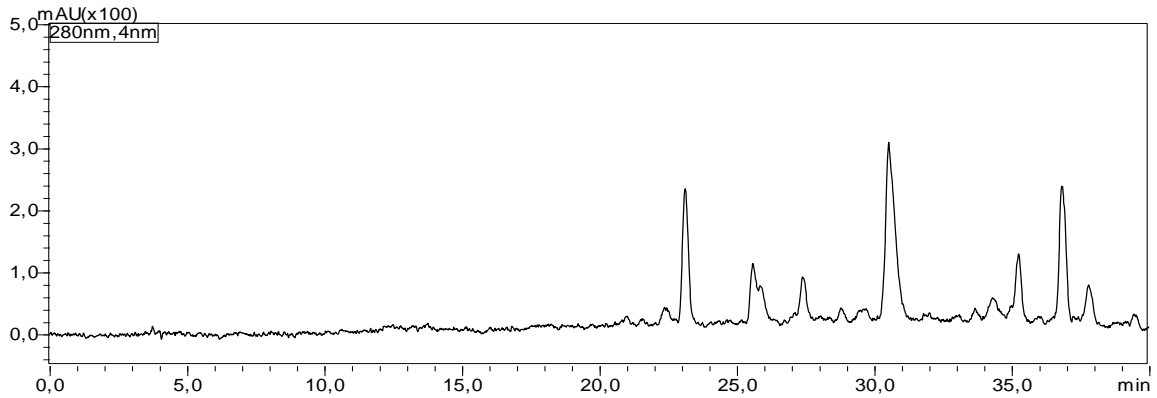


Figure 39 : Chromatographie liquide à haute performance *Mentha pulegium*

Datafile Name:Artemisia1.lcd
Sample Name:Artemisia1
Sample ID:Artemisia1

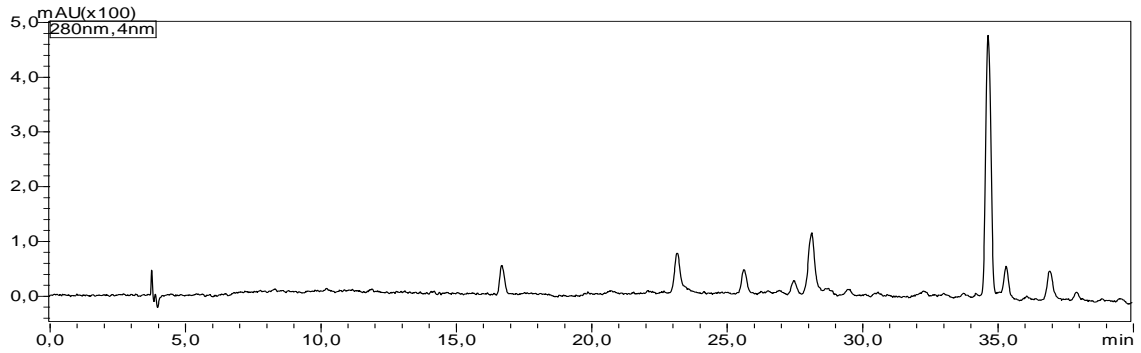


Figure 40 : Chromatographie liquide à haute performance d' *Artemisia abinthium*.

Datafile Name:Camelia2.lcd
Sample Name:Camelia
Sample ID:Camelia

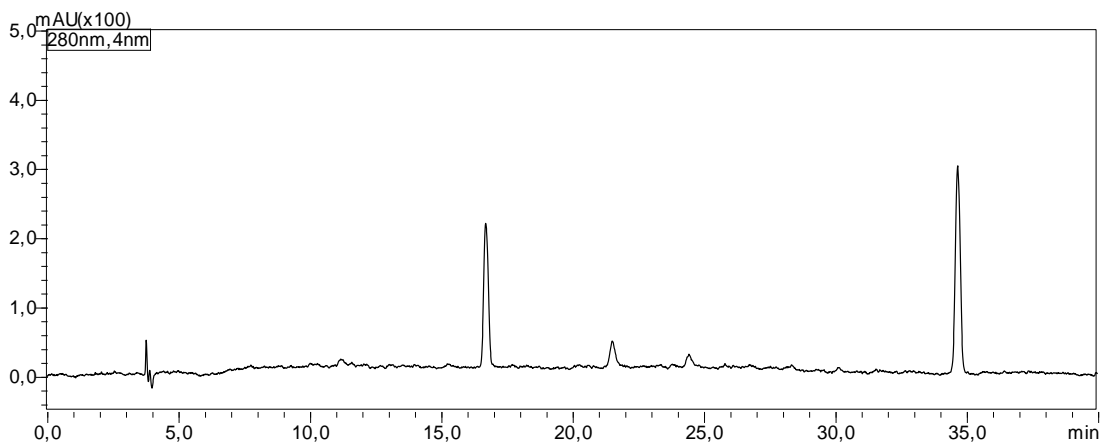


Figure 41 : Chromatographie liquide à haute performance *Camelia sinensis*.

1-6. Etude épidémiologique sur les infections dentaires

Les résultats obtenu par cette étude sont exprimes dans le tableau suivants :

Tableau18 : résultats d'étude épidémiologique

Caractéristiques	Hommes		Femmes	
Nombre (%)	36	0.36	65	0.65
Age (ans)				
✓ 0-10	4	0.04	5	0.05
✓ 10-20	3	0.03	7	0.07
✓ 20-30	14	0.14	28	0.28
✓ 30-40	7	0.07	12	0.12
✓ 40-50	4	0.04	10	0.10
✓ 50-60	3	0.03	3	0.03
✓ 60-70	0	0	0	0
✓ 70-80	1	0.01	0	0
Poids (kg)				
>50kg	29	0.29	52	0.52
<50kg	7	0.07	13	0.13
Tailles (m)				
>1.50	30	0.30	57	0.57
<1.50	6	0.06	8	0.08
Statut familial				
✓ Marie	12	0.12	21	0.21
✓ Célibataire	23	0.23	31	0.31
✓ Veuf	0	0	7	0.07
Nombre d'enfants				
✓ Garçons	15	0.15	31	0.31
✓ Filles	19	0.19	30	0.30
Etat de la dentition				
✓ Bonne	11	0.11	17	0.17
✓ Moins bonne	13	0.13	34	0.34
✓ Mauvaise	10	0.10	13	0.13
N.V.D				
✓ 1 fois	5	0.05	7	0.07
✓ 2 fois	8	0.08	12	0.12
✓ Plus de 2 fois	22	0.22	46	0.46
N.D.E				
>5 dents	23	0.23	23	0.23
<5 dents	13	0.13	42	0.42

Saignement prolonge après extraction dentaire				
✓ Oui	7	0.07	14	0.14
✓ Non	29	0.29	51	0.51
Prothèse dentaire				
✓ Oui	7	0.07	13	0.13
✓ Non	29	0.29	52	0.52
Pathologie associées				
✓ Diabète	3	0.03	4	0.04
✓ Hypertension	4	0.04	4	0.04
✓ Maladie cardiovasculaire	3	0.03	2	0.02
Prise de médicaments				
✓ Oui	6	0.06	14	0.14
✓ Non	30	0.30	51	0.51
Fumeur				
✓ Oui	8	0.08	0	0
✓ Non	28	0.28	65	0.65
The				
✓ Non	12	0.12	19	0.19
✓ Oui :				
• Avec menthe	24	0.24	44	0.44
• Sans menthe	0	0	2	0.02
• Avec chihiba	6	0.06	7	0.07
• Sans chihiba	18	0.18	39	0.39
Nombre de tasse				
✓ 1 tasse	10	0.10	20	0.20
✓ 2 tasses	9	0.09	21	0.21
✓ Plus de 2 tasse	5	0.05	5	0.05
Gâteaux et sucres				
✓ Quotidiennement	26	0.26	35	0.35
✓ Tous les 3 jours	8	0.08	26	0.26
✓ 15 jours	2	0.02	4	0.04

Pour l'évaluation des facteurs qui peuvent influencer la santé bucco-dentaire, en particulier la carie dentaire, une étude a été réalisée sur la moyenne du nombre de dents extraites pour les deux sexes Homme et Femme par rapport à différents paramètres qui sont montrés dans les figures 42, 43 et 44.

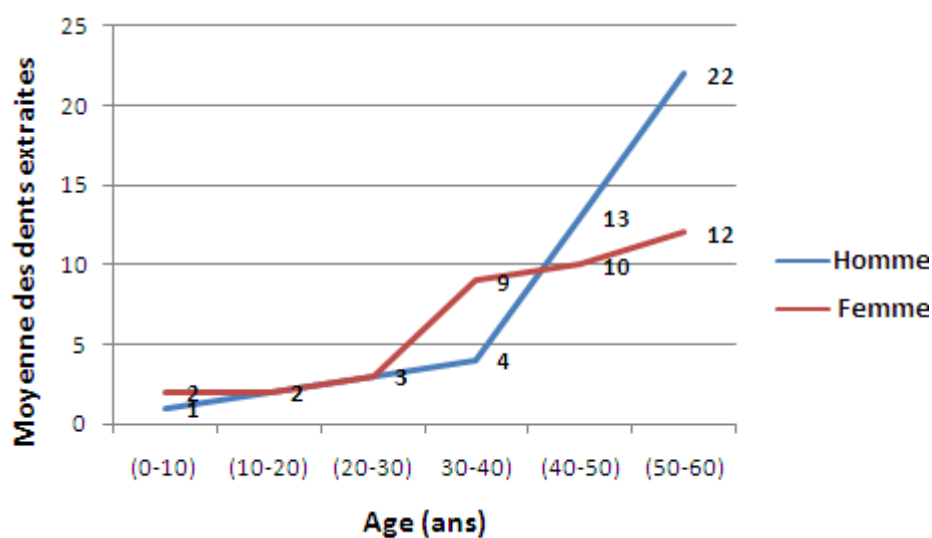


Figure 42 : Moyenne des dents extraites par rapport à l'Age

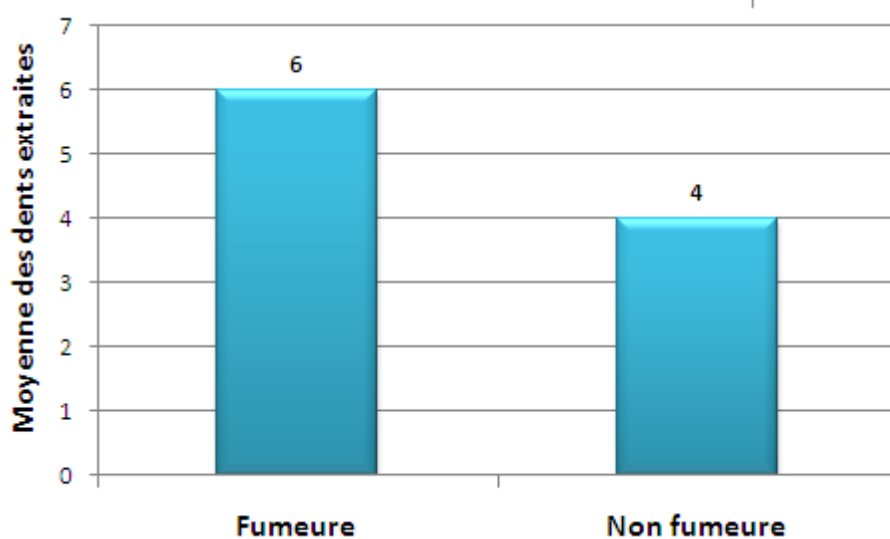


Figure 43 : Moyenne des dents extraites par rapport à la consommation du tabac

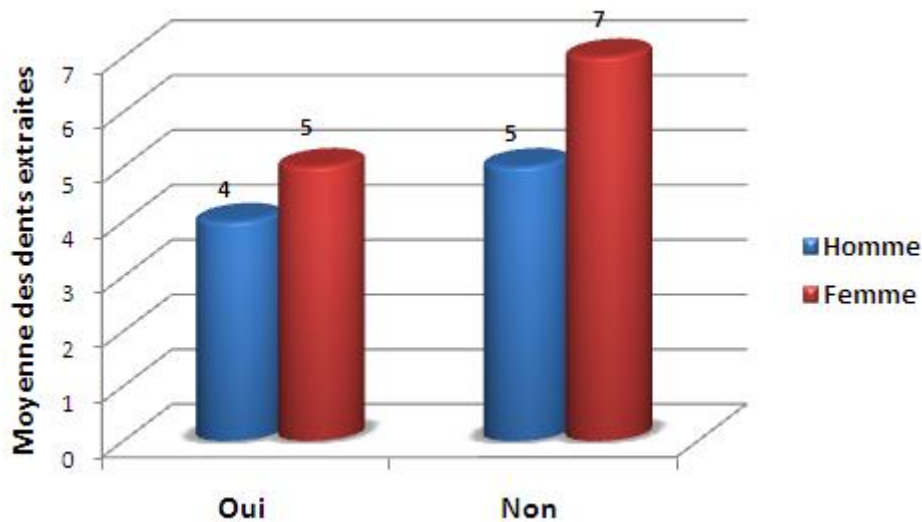


Figure 44 : Moyenne des dents extraites par rapport à consommation du thé.

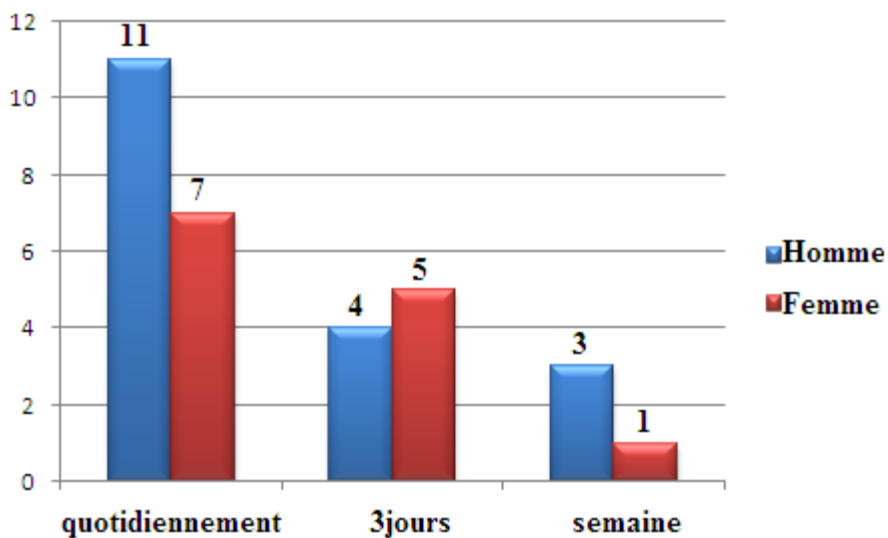


Figure 45 : Moyenne des dents extraites par rapport à la consommation du sucre et gâteaux

2-Discussion

2-1 .Rendement d'extraction

Les résultats du rendement d'extraction obtenus sont représentés par le tableau 08. On constate que les rendements sont variables selon les plantes testées. Le taux d'extraction le plus élevé a été obtenu pour les deux plantes avec 14% et 6.7% respectivement *Camelia sinensis* et *Artemisia abinthium* alors le taux le plus faible était pour la plante *Mentha pulegium* est égal à 1.15%.

Aussi, selon une étude menée par Medjekal Samir et al ., 2016 sur *Mentha pulegium* de la région de M'sila, Algérie, le rendement d'extraction pour l'extrait méthanolique est de 17.16% qui est supérieur à celui obtenu dans notre étude .

Pour les extraits chloroformiques, le rendement est plus bas de 1.46% à celui trouvé dans notre étude. La différence entre le rendement d'extrait brute et le rendement de chloroforme peut être expliqué par la présence de composés lipophiles (acides gras, caroténoïdes, chlorophylles) de poids moléculaire élevé qui le rendre plus soluble dans le premier solvant que dans le second.

En revanche, le rendement en extraits obtenu avec *Artemisia abinthium* est supérieure à celui obtenu par BOUCHENAK Fatima et al., 2018 dans la région de Blida, Algérie. Qui est de 0.43%. Ce qui confirme que la région d'origine influe fortement sur le rendement d'extraction d'une plante aromatique.

Les travaux mené par Gramza-Michalowska., 2007, sur le rendement des extraits éthanolique de la plante *Camellia sinensis*, qui est de 12,61%. Cette valeur est inférieure à celle de notre extraits méthanolique qui est de 14 %. Ces résultats indiquent que la nature de solvant peut influencer sur la quantité de rendement d'extraction .

2-2.Screening phytochimique

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de nos trois plantes (*Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis*): les tanins, les proanthocyanidols, les saponines, les flavonoïdes et les polyphénols. Cependant, les tests se sont révélés positifs pour ces métabolites secondaires.

De même, les tests phytochimiques réalisés au Maroc sur *Mentha pulegium* par Zekri et al., 2013 ont montré la présence des mêmes constituants chimiques détectés dans la plante étudiée, en plus des alcaloïdes et des tanins galliques. La présence de ces métabolites secondaires au niveau de la plante étudiée explique leur fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle par la population locale.

Aussi Nos résultats actuels d'analyse phytochimique de la plante *Artemisia abinthium* sont en accord avec les résultats d'Ashok et Upadhyaya 2013 ; Rajeev et al., 2012 ; Aberham et al., 2010. Kundan et Anupam, 2010 ainsi que Kamel et al., 2015 et ont également signalé des saponines, des composés polyphénoliques et des tanins comme composés phytochimiques majeurs d'*Artemisia abinthium* dans plusieurs solvants. Extraits avec du méthanol. Monika et Kaur, 2016 ont estimé que les phytoconstituants des extraits de méthanol de la plante sont plus efficacement responsables de l'activité antimicrobienne par rapport à d'autres extraits.

Dans une revue Saiedi et Masoudi, 2017 a déclaré que différentes actions thérapeutiques et pharmacologiques d'*A. Absinthium* sont dues à la présence de produits chimiques majeurs tels que les polyphénols.

Les tests phytochimiques effectués ont été révélés la richesse de cette plante *Camelia sinensis* en flavonoïdes, tanins, polyphénols, et les saponines. Ces résultats sont comparables à ceux publiés par Kangogo K. Geoffrey et al., 2014, qui ont révélé la présence des flavonoïdes et des polyphénols dans le thé vert. De même, ils sont en accord avec ceux de Roedig-Penman et Gordon., 1997 et Astill et al., 2001, qui ont montré que le thé vert contient une quantité importante de tanins et flavonoïdes.

2-3. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

L'étude quantitative des extraits méthanoliques de *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis* au moyen de dosage spectrophotométrique de la méthode au réactif de Folin Ciocalteu, a pour objectif de la détermination de teneur des polyphénols totaux. Les plantes *Camelia sinensis* et *Artemisia abinthium* présente un teneur élevé de 38.3 mg EAG/g et 33.9 mg EAG/g par rapport à celle de *Mentha pulegium* 24.5mg EAG/g. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes sont attribués.

La concentration des polyphénols totaux pour l'extrait méthanolique de *Mentha pulegium* est de 24.5 mg EAG/g. Ce teneur reste faible par rapport à ce trouvée dans d'autres travaux scientifiques.

Hajlaoui et al., 2009 ont indiqué une quantité de composés phénoliques totaux d'une valeur de 37.4 mg EAG/g d'extrait, Aussi l'extrait méthanolique de *Mentha pulegium* de Bejaia a présenté un taux en phénols totaux de 72.84 mg EAG/g (Khaled-Khodja et al., 2014. Ces études antérieures ont montré que la quantité de polyphénols chez les plantes dépend des facteurs biologiques (génotype, organe et ontogénèse), mais aussi des facteurs environnementaux (température, salinité, stress hydrique et intensité lumineuse).

L'analyse quantitative des extraits de *Mentha pulegium* a révélé un taux de flavonoïde 46,44mg EC/g supérieure à Une étude faite sur cette plante par Ghazghazi et al., 2013, a montré que l'extrait méthanolique donne un teneur de 37 mg EC/g en flavonoïdes.

Les travaux de BOUCHENAK Fatima et al., 2018 ont montré que l'extrait méthanolique d'*Artemisia absinthium* présente un teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes d'environ 24,8mg EAG/g d'extrait et 12,68mg EC/g d'extrait respectivement.

Ces résultats sont nettement inférieure par rapport aux résultats de notre étude qui est de 33.9 mg EAG/g et de 75.89mg EC/g, ces variations sont probablement liées aux facteurs écologiques (le climat, la période de récolte, le soleil..) qui ont un rôle important dans le teneur de ces composés phénoliques.

Les résultats obtenus ont confirmé la richesse de notre plante *Camelia sinensis* en composés phénoliques. L'extrait préparé a présenté un taux en polyphénols totaux et en

flavonoïdes, avec des valeurs respectives d'ordre de 38.3mg EAG/g et de 41.16mg EC/g. Des études récentes de Nor Qhairul Izzreen et Mohd Fadzelly ., 2013 ont révélé un teneur des polyphénols de l'ordre de 80,27 mg. Eq acide gallique par g d'extrait, et un teneur de flavonoïdes de 35,17 mg EC/g. Dans l'étude de Karabi et al., 2015, ils ont trouvé un taux de polyphénols par un extrait éthanolique égale à 13,22 mg EAG /g, et un teneur de 13,95 mg EC/g des flavonoïdes. La déference de teneur de ces composés est due a la nature des solvants utilisés lors d'extraction.

2-4. Activité Antioxydante

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les extraits méthanoliques est différent entre les trois plantes étudiés pour toutes les concentrations utilisées. Il oscille entre 11.26% et 45.56% pour *Mentha pulegium* et entre 29.18% et 60.24% pour *Artimisia absinthium* mais pour *Camelia sinensis* varie entre 36.01% et 55.97%. Le pouvoir de piégeage du radical DPPH pour *Mentha pulegium* est inferieur à celui de deux autres plantes.

2-4-1. Détermination de IC50

Les résultats des propriétés antioxydantes des extraits des plantes utilisées indiquent que *Camelia sinensis* a montré la meilleure activité antioxydante sur le radicale DPPH avec IC50 de 1.31 mg/ml par rapport à *Artimisia absinthium* (2.17 mg/ml) et *Mentha pulegium* (5.44 mg/ml). D'après les résultats obtenus, on peut classer la capacité antioxydante des extraits et de la substance de référence comme suite :

Camelia sinensis > *Artimisia absinthium* > *Mentha pulegium*

Etudes menées par Ouakouak et al. , 2015, sur *Mentha pulegium* des différentes populations du sud d'Algérie (El-Oued et Ain Defla) ont montré un fort pouvoir antioxydant des extraits qui ont donné des IC50 de 1.210 mg/ml par rapport à IC50 de 5.44mg /ml l'extrait de nos plante. La région de récollette et les condition environnemental (climat , humidité....) peuvent influence sur la plantes et leur activité antioxydants .

Les testes réalisé par Humara Wani et al., 2014 ont montré que la concentration d'inhibition de l'activité antioxydants de radical DPPH de la plante *Aretimisia absinthium* est égal à 14.14 mg/ml tandis que IC50 de notre étude a une valeur de 2.17mg/ml alors que les résultats de notre étude indique que l'activité antioxydants est importante par rapport a celle de Humara Wani et al .,2014.

A partir des résultats obtenues, on constate que la concentration d'inhibition de l'activité antioxydante du radical DPPH dépend de la concentration de l'extrait méthanolique de *Camellia sinensis* qui à montré une IC50 de 1.31 mg/ml, cette dernière est supérieur de celle retrouvée par Khalaf et al., (2008) qui est de 6,7 mg/ml.

2-5. Chromatographie liquide à haute performance

L'analyse de ces résultats montre que dans l'extrait méthanolique *Mentha pulegium*, l'acide rosmarinique est largement le composé majoritaire avec un pourcentage de la réponse chromatographique de 11.30% suivi de deux composés inconnus avec des quantités appréciables de 5.96% et 5.47% respectivement. Acide P-coumarique (4.01%), 3, 4, 5 triméthoxycinnamique (1.34%) étaient aussi présents en quantités moindres.

Comme pour l'extrait méthanolique de *Mentha pulegium* celui d'*Artemisia abinthium* est fortement représenté par un composé inconnu à 10.71 %, suivi par L'acide chlorogénique présent à un taux non négligeable de 4.43% et d'Acide syringique à 3.38%.

Un deuxième composé inconnu est noté à un teneur de 5.8%, l'acide Apigénine et Acide vanillique et Gallate d'épigallocatechine exhibent des taux à 2.10%, 1.58% et 1.23% respectivement.

Aussi pour l'extraits méthanolique de la plante *Camelia sinensis*, le composé inconnu avec un pourcentage majoritaire de 15.29% Suivi par Acide caféique à 5.52% et d'Acide syringique 1.85%.

Quelques études ont été effectuées pour l'identification des composés polyphénoliques dans les extraits de *Mentha pulegium* l'aide de l'HPLC. Une étude menée par Hajlaoui et al.,2015 a démontré que l'extrait méthanolique de *Mentha pulegium* de Tunisie est constitué majoritairement d'un composé inconnu à 26.18%, acide chlorogénique (23.31%), acide férulique (12.37%), apigénine (8.23%) et acide trans-2- dihydroxycinnamique (4.48%), mais il s'est révélé la présence de l'acide rosmarinique. L'acide rosmarinique est bien connu, c'est un métabolite secondaire appartenant à la classe des esters de l'acide caféique et de l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique. D'après la littérature, il est couramment identifié dans les espèces de la famille des Lamiacées, Litvinenko et al., 1975. L'acide rosmarinique est un contributeur majeur aux nombreuses propriétés bénéfiques de la menthe et de l'origan Exarchou et al., 2002 ; Pizzale et al., 2002.

Aucune analyse de Chromatographie liquide à haute performance n'était trouvé pour la faire comparé avec notre étude concernant *Aretimisia absinthium* et *Camelia sinensis*.

2-6. Etude épidémiologique des infections dentaires

Les caries dentaires résultent d'un processus de destruction de la dent par dissolution progressive du revêtement externe solide de la dent (l'émail) et qui progresse vers l'intérieur de la dent.

Notre étude trouve que Les facteurs de risque d'une mauvaise hygiène buccodentaire sont très nombreux chez le sujet âgé, une autre étude confirme que la carie reste une pathologie fréquente chez la personne âgée, que l'on retrouve dans tous les pays; elle est fortement associée à des facteurs sociaux et comportementaux. La diminution de la dextérité

manuelle et la perte d'autonomie représentent aussi des obstacles à la pratique de l'hygiène buccale, ce qui se traduit par l'accumulation de plaque bactérienne en particulier au niveau du collet dentaire. L'alimentation souvent molle a également tendance à adhérer aux surfaces dentaires. Petersen PE., et al ., 2005

Ainsi que l'étude sur des groupes de fumeurs montre que la personne fumeur présente plus de carie qu'une personne non fumeur. En bref : Les fumeurs sont plus exposés aux caries que les non-fumeurs. Des chercheurs ont suggéré une susceptibilité accrue à la carie dentaire chez les enfants exposés à la fumée secondaire au tabagisme. Dans leur étude, Leroy et al., 2008 ont constaté que les enfants de 3 ans qui avaient des parents fumeurs présentaient un risque deux fois plus élevé d'avoir des caries que les enfants de parents non fumeurs , L'augmentation du risque de carie pourrait être le résultat d'un effet direct sur la croissance des bactéries cariogènes et d'un effet indirect en induisant des changements physiologiques chez l'hôte.

En revanche , la consommation quotidienne du sucre et gâteaux a un impacte positif sur l'apparition des caries .une étude réalisé par F. Fioretti et Y. Haïkel .,2010 montrent que Le potentiel cariogène des aliments est lié à leur contenu en sucres ,le saccharose est considéré comme le plus cariogène : il est facilement fermentescible en acides organiques (acide lactique) par les bactéries de la plaque, favorise la colonisation de la cavité buccale par *streptococcus mutans*, et augmente la quantité de la plaque en servant de substrat par la production des polysaccharides extra-cellulaires. Il existe une corrélation entre la quantité de saccharose ingérée et l'augmentation du nombre de *streptococcus mutans* au sein de l'écosystème buccal et donc le risque cariogène.

Notre étude a montré que le processus cariogène est inversement proportionnelle avec la consommation de thé , des études révélés que les composants bioactifs présents dans le thé vert, et plus particulièrement les polyphénols, sont en mesure d'influencer sur le processus de formation de la carie dentaire à plusieurs niveaux. En effet, ces derniers peuvent inhiber la croissance de *S. mutans* et *S. sobrinus*, de même que la production d'acide par ces derniers. De plus, les polyphénols du thé peuvent interférer avec le processus d'adhésion des bactéries cariogènes à l'émail des dents et agir comme inhibiteurs de la glucosyltransférase, limitant ainsi la biosynthèse du glucane, et de l'amylase salivaire et bactérienne (métabolisme et activité enzymatique) . (Taylor, P.W et al ., 2005 , Xu, X., X.D. Zhou, et C.D. Wu.,2011).

Conclusion général

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et biologique des plantes médicinales *Mentha pulegium*, *Artemisia abinthium* et *Camelia sinensis*.

Dans le présent travail on a effectué l'extraction et l'évaluation phytochimique des Métabolites secondaires et l'étude de l'activité antioxydante de nos plantes qui sont largement utilisée en médecine traditionnelle.

Mentha pulegium est particulièrement excellente pour carie buccodentaire des études clinique ont confirmes des propriétés anti microbiennes et anti inflammatoires ainsi que sa capacité à stimulé la production de salive , le tout jouant un rôle important pour une bouche seine .C'est un antioxydant aide notre corps a surmonté les dommages cellulaires.

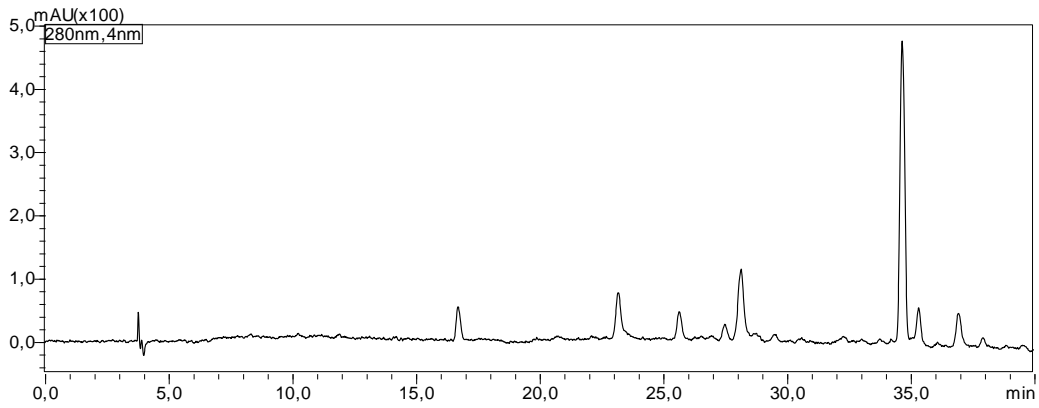
Artemisia absinthium présente des propriétés antibactériennes très intéressantes, les antibiotiques traditionnel étant victime de plus en plus de multi résistance, beaucoup d'étude sont donc penché sur cette plante. Elle est plus active sur bactérie gram positive résistant au pénicilline ainsi que sont activité anti inflammatoire sur la cavité buccal et le tube digestif.

Les chercheurs en ont conclu que l'extrait de thé vert est un agent efficace pour prévenir les caries dentaires. Le polyphénol du thé vert agissent comme agent anti plaque dentaires.

✓ **Sucres , gâteaux et pains** : quotidiennement / tous les 3 jours / semaine / 15 jours / 1 fois par moi

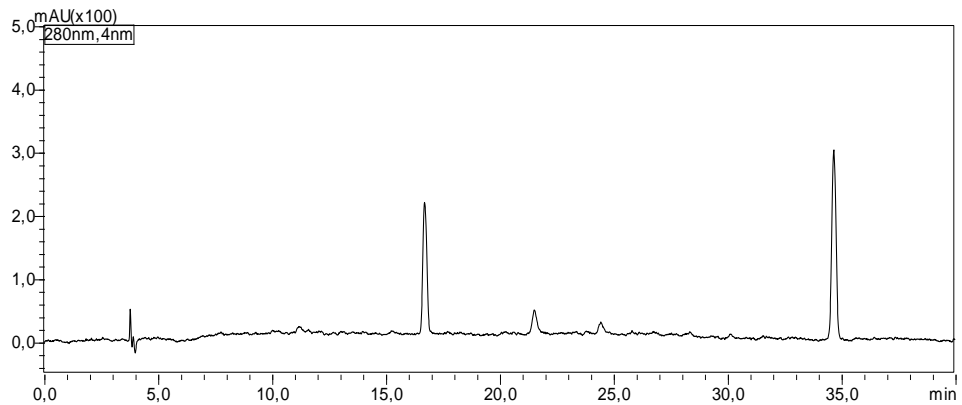
Annex

Datafile Name:Artemisia1.lcd
 Sample Name:Artemisia1
 Sample ID:Artemisia1



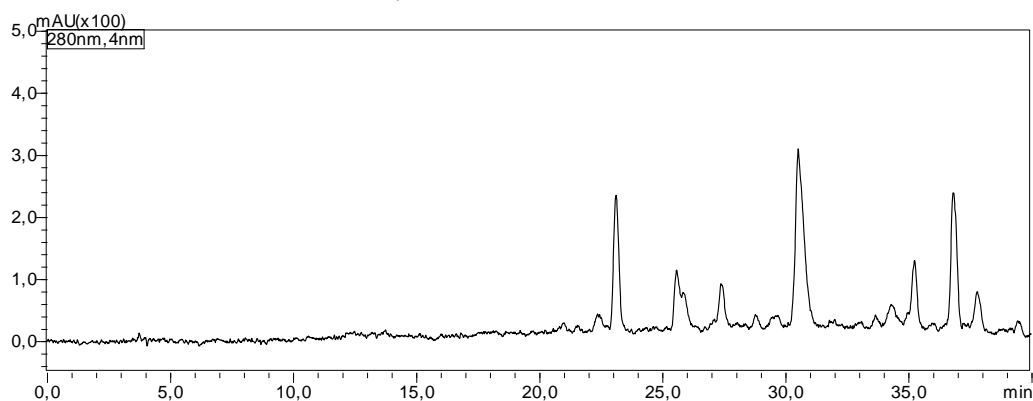
RT	Lambda max	Compound	area	% area
16,711	265	Caffeic acid	1331950	1,922
23,191	282/322	Syringic acid	2347133	3,387
25,661	279/317/348	Syringic acid	1487448	2,146
26,964	267/322	Epigallocatechin gallate	855705	1,235
27,499	251/341/295	Vanillic acid	1096201	1,582
28,163	321/295	Chlorogenic acid	3072035	4,433
34,669	233/271/326	??????	7428652	10,719
35,342	295/377	????	1448294	2,090
36,956	341/287	Apigenin	1456990	2,102

Datafile Name:Camelia2.lcd
 Sample Name:Camelia
 Sample ID:Camelia



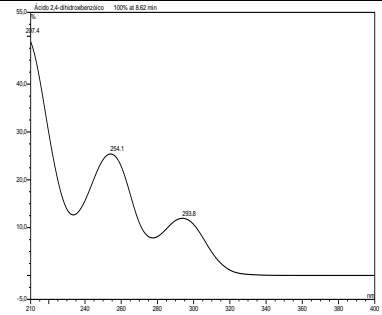
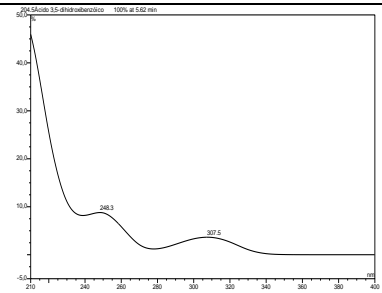
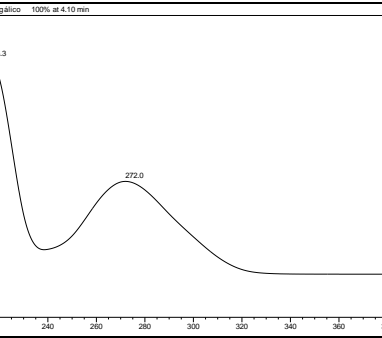
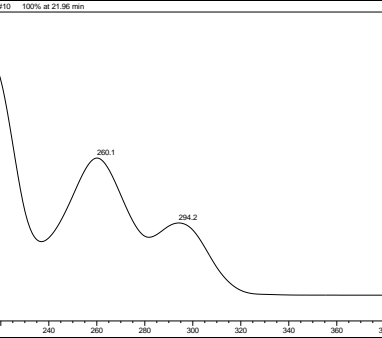
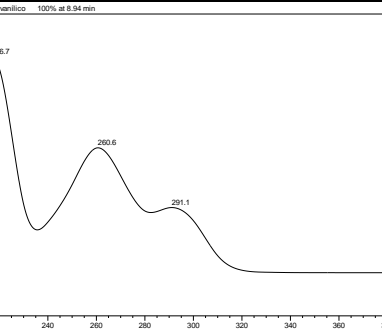
RT	Lambda max	Compound	Area	% area
16,706	205/274/321	Caffeic acid	3826600	5,522
21,530	205/274/396	?????	1658730	2,393
24,446	267/337/380	Syringic acid	1282062	1,850
34,674	237/274/357/370/318	?????	10599049	15,294

Datafile Name:Mentha - 2 -1.lcd
Sample Name:Mentha - 2 -
Sample ID:Mentha - 2 -



RT	Lambda max	Compound	area	% area
22,383	325/284	???	1249139	1,628
23,136	223/283	???	4196676	5,470
25,606	283	???	2120485	2,764
25,862	223/320	???	1402742	1,828
27,407	345/265/312	???	1994307	2,599
28,802	331	???	1244515	1,622
29,505	223		838936	1,093
30,539	223/326/313	rosmarinic acid	8669937	11,300
33,675	221/344	3,4,5 trimethoxycinnamic	1031353	1,344
34,315	261/343/353	???	2148731	2,800
35,272	303/223/282/256/353	P-coumaric acid	3076641	4,010
36,837	342/291	???	4578040	5,967
37,815	226/302	???	1893275	2,468

Composés	Uv spectre	λ max
Coumarin		278 310

<p><u>Acide 2,4-dihydroxybenzoic</u></p>	 <p>Acide 2,4-dihydroxybenzoic 100% at 5.62 min</p> <p>50.0 40.0 30.0 20.0 10.0 -5.0</p> <p>210 240 280 320 360 400</p> <p>251.1 293.8</p>	<p>254 293</p>
<p><u>Acide 3,5-dihydroxybenzoic</u></p>	 <p>Acide 3,5-dihydroxybenzoic 100% at 5.62 min</p> <p>50.0 40.0 30.0 20.0 10.0 -5.0</p> <p>210 240 280 320 360 400</p> <p>248.3 307.2</p>	<p>248 307</p>
<p>Gallicacid</p>	 <p>Acide gallico 100% at 4.10 min</p> <p>60.0 50.0 40.0 30.0 20.0 10.0 -10.0</p> <p>210 240 280 320 360 400</p> <p>215.3 272.0</p>	<p>272</p>
<p>Protocatechuicacid</p>	 <p>Peak #10 100% at 21.96 min</p> <p>55.0 50.0 40.0 30.0 20.0 10.0 -5.0</p> <p>210 240 280 320 360 400</p> <p>260.1 294.2</p>	<p>260 294</p>
<p>Vanillicacid</p>	 <p>Acide vanillico 100% at 8.94 min</p> <p>60.0 50.0 40.0 30.0 20.0 10.0 -10.0</p> <p>210 240 280 320 360 400</p> <p>210.7 260.6 291.1</p>	<p>260 291</p>

<p>Cinnamicacid</p>		<p>277</p>
<p>2,4- dihydroxycinnamicacid</p>		<p>293 329</p>
<p>Sinapicacid</p>		<p>235 323</p>
<p><i>p</i>-coumaricacid</p>		<p>224 309</p>
<p>Caffeicacid</p>		<p>219 239 323</p>

<p>Chlorogenicacid</p>		<p>218 240 326</p>
<p>Ferulicacid</p>		<p>221 237 323</p>
<p>Rutin</p>		<p>259 355</p>
<p>Quercetin</p>		<p>256 372</p>
<p>Apigenin</p>		<p>268 336</p>

Naringenin		220 284
Quercetinglicoside		259 354
Quercetingalactoside		259 355
HydrocaffeicAcid		285, 325
Kaempferol glucoside		258 365
Naringin		284
Luteolin		260 348
Luteoline di-glucoside		260 350
Kaempferol		265 363

Référence Bibliographique

(A)

- ✓ Abdel, H, 2003 Biosystémati
- ✓ ue végétale ., INA EL –Harrach ,1-17
- ✓ Aghel N., Yamini Y., Hadjiakhoondi A., Mahdi Pourmortasavi S. 2004. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Talanta*. 62: 407-411.
- ✓ Agnihotri V.K., Agarwal S.G., Dhar P.L.,Thappa Baleshwar R.K., Kapahi B.K., Saxena R.K. & Qazi G.N., 2005. Essential oil composition of *Mentha pulegium* L. growing wild in the north-western Himalayas India. *Flavour Frag. J.* 20: 607–610
- ✓ A. Kreuter, U. Wieland, La leucoplasie orale chevelue : un indicateur clinique d'immunosuppression, *CMAJ*, 2011
- ✓ ALBERT, Olivier. Conseils à l'officine dans le domaine de l'hygiène buccodentaire. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Toulouse : Université Paul Sabatier, 1994.
- ✓ Anton R et Annelise L (2005).plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles, lavoisier, édition Tec &Doc.
- ✓ Aref M. et Heded M., 2015 : Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologique (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf).Université echahid hamma lakhdar d'el-oued faculté des sciences de la nature et de la vie département de biologie cellulaire et moléculaire.59 pages.
- ✓ arweiler et netuschil , (the oral microbiota , dans microbiota of the human body : implication in health and disease),2016
- ✓ ASSIM. Le complexe majeur d'histocompatibilité (En ligne, consulté le 22/12/2017) Disponible sur : http://www.assim.refer.org/raisil/raisil/L02_files/page82-4.-complexemajeur-d0027histocompatibilite.pdf
- ✓ A. Touil, S.Ghouati, J. Creche ; (2003), Flavonoid glucosides from *pituranthos chloranthus*. *Chemistry of compounds*, vol. 42, N. 1.
- ✓ Aude Thomas, Nathan Moreau, Anne-Laure Ejeil- Les glossodynies, expérience à l'hôpital Bretonneau - L'information dentaire n° 40 - 19 novembre 2014

(B)

- ✓ Baba Aissa , F,2000.Encyclopédie des plantes utiles ., Librairie Moderne,Rouiba,368p
- ✓ Baysal T, Starmans DAJ. 1999. Supercritical carbon dioxide extraction of carvone and limonene from caraway seed. *Journal of Supercritical Fluids*. 14 :225-234
- ✓ Benayad N., 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Faculté des Sciences Rabat, Maroc.

- ✓ Bensouag (LA PHYSIOLOGIE DIGESTIVE LA PHASE BUCCALE p 12 .,2006) sur le site web (<https://fmedecine.univ-setif.dz/ProgrammeCours/LA%20PHASE%20BUCCALE%20Cours%20de%20physiologie%201ere%20ann%C3%A9e%20pharmacie%20Dr%20BENSOUAGUE.pdf>)
- ✓ [Bernard J. Hennessy](#), DDS, Texas A&M University, College of Dentistry Dernière révision totale mai 2020| Dernière modification du contenu mai 2020.
- ✓ B.K.B BERKOVITZ, G.R HOLLAND, B.J MOXHAN. Oral anatomy, histology and embryology. Fourthedition. s.l : Mosby Elsevier, 2009.
- ✓ Bocchio E. 1985. Natural essentials oils. Parfums Cosmét. Arômes. 63 : 61 Boelens M.H., Valverde F., Sequeiros L., Jimenez R. 1990. Parfum. Flavor., 15 : 11.
- ✓ Botineau M., 2010 : botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC&DOC, la voisier, pari.1021-1043p.
- ✓ Bouakaz I., 2006 : Etude phytochimique de la plante Genista Microcephala. Mémoire de magister, Batna.
- ✓ BOUCHENAK Fatima, DEGAICHIA Hocème , LAMGHARBI Abdelbaki1 et BENREBIHA Fatima 2018, ÉVALUATION IN VITRO DU POTENTIEL ANTIFONGIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DES EXTRAITS MÉTHANOLIQUES D'UNE ASTERACEAE ARTEMISIA ABSINTHIUM L. 1.Université Blida 1- Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie- Laboratoire de Biotechnologie des Produits Végétales, B.P. 270,
- ✓ Boukenna M et Bouzidi M (2007). Extraction et analyse de l'huile essentielle de Mentha viridisL (menthe verte) et de la mentha pulegium (menthe pouliot). Thèse d'Ingénieur en Agronomie UMMTO.
- ✓ Braga M.E.M., Ehlert P.A.D., Ming L.C., Meireles M.A.A. 2005. Supercritical fluid extraction from Lippia alba: global yields, kinetic data, and extract chemical composition. The Journal of Supercritical Fluids. 34: 149-156.
- ✓ Braithwaite A. & Smith F.J., 1999. Chromatographic methods. 5th ed. Kluwer Academic Publishers, London.
- ✓ Bremness L., 2001 : plantes aromatiques et médicinales. BORDAS, France, 303.
- ✓ Bruneton J.1996. Plantes toxiques, Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 3ème édition, Lavoisier, Paris. 632 p
- ✓ Bruneton J (1999). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier 3ème édition: 1120.
- ✓ Bruneton j ; (plantes toxiques végétaux dangereux pour l'homme et les animaux)Ed.Tec&Doc. Paris185 ,2005

(C)

- ✓ CAIX, P. "Anatomie de la région labiale", Annales de Chirurgie plastique esthétique. Vol. 47, Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Bordeaux : 2002, pp. 332-345.
- ✓ Carvalho Jr. R.N., Moura L.S., Rosa P.T.V., Meireles M.A.A. 2005. Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Bibliographies 301 Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. *The Journal of Supercritical Fluids*. Article in press
- ✓ C. Bourrel; (1993), Analyse chimique, activités biologiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées, Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. Toulouse, France.
- ✓ Chapman and Itall, *Phytochemical methods*. Harborne J.B., New-york. 1973.
- ✓ Chemat S., Lagha A., AitAmar H., Bartels P.V., Chemat F. 2004. Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour and Fragrance Journal*. 19:188-
- ✓ Chemesova I I, Belenovskaya L M, Stukov A N (1987). Antitumour activity of flavonoids from some species of *Artemisia L*, *Rastit Resur* , 23(1), 100-103
- ✓ *Christophe Lequart, chirurgien dentiste et porte-parole de l'Union Française pour la santé bucco-dentaire*. Mis à jour le 23/11/20
- ✓ Clémence, R., Dongmo, M., 2009- Clinique et pharmacologie évaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fractions d'acalyphaman niana (euphorbiacées) et *Tristem mahirtum* (mélastomatacées). Université de Dshang-Master en biochimie. p34
- ✓ Collin J.J. 1991. Isolation and production. *Parfums. Cosmet. Arômes*. 97: 105
- ✓ Craveiro A.A. , Matos F.J.A. ,Alencar J.W. 1989. *Flav.Fragr.J*. 4: 43
- ✓ Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. (2000). Natural Products (Secondary metabolites). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Buchanan B., Grissem W, Jones R. (eds). *Americ. Soc. of Plant Physiologists*. 1250-1318.
- ✓ *Claire Lewandowski* (le journal des femmes santé) Mis à jour le 25/04/19 . disponible sur le web : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2519858-soigner-carie-dentaire-douleur/#:~:text=On%20appelle%20%22carie%22%20une%20maladie,naturellement%20sur%20la%20plaque%20dentaire>.
- ✓ Clémence Lamirand (Union française pour la santé bucco-dentaire disponible sur le web : https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=carie_pm#:~:text=En%20effet%2C%20les%20bact%C3%A9ries%20pr%C3%A9sentes,origine%20de%20la%20carie%20dentaire.

(D)

- ✓ Danielle Dumonteil 2012 article disponible sur le web : <https://www.pileje.fr/revue-sante/mieux-connaître-microbiote-buccal-entretien-danielle-dumonteil>
- ✓ Danielle Dumonteil ». Microbiotes et probiotiques. Consulté le 4 octobre 2017. Disponible sur : <https://www.microbiotes-sante.fr/entretien/mieuxconnaître-le-microbiote-buccal-entretien-avec-le-dr-danielle-dumonteil/>
- ✓ Danielle ROQUIER CHARLES, Monique SEILLER. Hygiène et soins bucco dentaires. Prévention et traitement des affections courantes. Pharmathèmes édition-communication santé, 2005, 63 p.
- ✓ Dapkevicius A., Venskutonis R, Van Beek T.A., Linszen J.P.H. 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of Science Food and Agriculture* 77(1): 140-146.
- ✓ Debuigie G. et Couplan F. (2009). *Petit Larousse des plantes médicinales*. Larousse Paris, p: 258.
- ✓ Delille L., 2007. *Les plantes médicinales d'Algérie*. Berti Editions, Alger. 240 p.
- ✓ Deng C., Yao N., Wang A., Zhang X. 2005. Determination of essential oil in a traditional Chinese medicine, *Fructus amomi* by pressurized hot water extraction followed by liquid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 536:237-
- ✓ *dentistes de l'espace dentaire du Vert Galant à Tremblay en France disponible sur le web* : <https://www.centredentaireduvertgalant.com/tout-savoir-sur-la-candidose-buccale>
- ✓ Despande S., Cheryan M. et Salunkhe D.K. 1986. Tannins analysis of food products. *CRC Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 24: 401-449.
- ✓ DEVALS, Anne. *Le conseil du pharmacien d'officine dans le domaine bucco dentaire*. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Toulouse : Université Paul Sabatier, 2003.
- ✓ Devoize L, Dallel R. Salivation [en ligne]. In : EMC (Elsevier Masson SAS) Médecine buccale 2010 ; 28-150-M-10. Disponible sur <http://www.em-premium.com/bases-doc.univ-lorraine.fr/article/189353/> (consulté le 14.06.2011).
- ✓ Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3010–3014.
- ✓ Diaz-Maroto M.C., Castillo N., Castro-Vazquez L., Gonzalez-Vinas M.A. & Perez-Coello M.S., 2007. Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) plants. *Flavour Frag. J.* 22: 114-118.
- ✓ Djemai Z (2008). *Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de Zizyphus lotus L*, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna.

- ✓ Dorman HJ ., Kosar M., Kahlos K., Holm Y., Hiltunen R. et Agric J., 2003: Food Chem: 51, 4563.
- ✓ Duran-Pinedo, et al (2015) « Beyond microbial community composition: functional activities of the oral microbiome in health and disease ». Microbes and Infection, Special Issue: Oral Pathogens and Microbiome in Health and Disease, 17, no 7: 505-516. Consulté 19/09/2017. Disponible sur : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457915000660>

(E)

- ✓ Edenharter, R., Grünhage, D., 2003 :Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in Salmonella typhimurium TA102. Mutat. Res. p540, 1–18.
- ✓ Erlund., 2004:Nut.Res. p24, 851-74.
- ✓ Exarchou V., Nenadis N., Tsimidou M., Gerothanassis I.P., Troganis A. & Boskou D., 2002. Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage and summer savory. J. Agr. Food Chem. 50(19): 5294–5299.

(F)

- F. Fioretti et Y. Haïkel 2010 . Carie et sucres , Service d'odontologie conservatrice et endodontie, Faculté de chirurgie dentaire, Université de Strasbourg, Strasbourg. 2 INSERM, Unité 977, Strasbourg.

(G)

- ✓ Gámiz-Gracia L., Luque de Castro M.D. 2000. Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques. Talanta. 51:1179-1185.
- ✓ Ganou L. 1993. Thèse de doctorat n° 689, Institut National Polytechnique de Toulouse.
- ✓ Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. et Jore D., 2003 : Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? Mécanismes biochimiques, p 91-96.
- ✓ Garnero J. 1985. Semipreparative separation of terpenoids from essential oil. Phytotherapy. 15 : 19
- ✓ G.E.Trease, W.C.Evans, A Text Book of Pharmacognosy. ELSB/Bailliere Tindal, Oxford, **1987**.
- ✓ Gomez-Caravaca A.M., Gomez-Romero M., Arraez-Roman D., Segura-Carretero A. & Fernandez-Gutierrez A., 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. J. Pharm. Biomed. Anal. 41: 1220-1234.
- ✓ Graham HN (1992). Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. Prev Med 21: 334-350, 1992.

- ✓ Gramza-Michalowska Anna, ANTIOXIDANT POTENTIAL AND RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF DIFFERENT FERMENTATION DEGREE TEA LEAVES EXTRACTS , The Agricultural University of August Cieszkowski, Wojska Polskiego 31, 60-624
- ✓ Guignard J. L., Cosson L., Henry M. 1985. Abrégé de phyto-chimie. Masson, Paris, pp 175- 191.

(H)

- ✓ Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R., & Bakhrouf A., 2009. Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. World J. Microbiol. Biotechnol. 25: 2227–2238.
- ✓ Hajlaoui H., Mighri H., Hamdaoui G. & Aouni M., 2015. Antioxidant activities and RPHPLC identification of polyphenols in the methanolic extract of *Mentha* genus. Tunisian J. Med. Plants Nat. Prod. 14: 1-11.
- ✓ Hauteville A. (2011). Les deux principales maladies des dents: chap. 1 La carie
- ✓ Havsteen B.H., 2002 : The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol. Therapeut. p96, 67–202.
- ✓ H. CHARDIN, O.BARSOTTI, M. BONNAURE-MALLET. Microbiologie en odontostomatologie. Paris : éditions Maloine, 2006
- ✓ Hernández H, Mendiola J, Torres D, Garrido N, Pérez N (1990). Effect of aqueous extracts of *Artemisia* on the in vitro culture of *Plasmodium falciparum*. Fitoterapia, 41(6), 540-541.
- ✓ Hopkins W.G. (2003). Assimilation du carbone et productivité. Dans: Physiologie végétale. Traduction de la 2ème édition américaine par Serge Rambour. Editions De Boeck université, 515p
- ✓ Huang W., Zhong C.Y., Zhang Y.2009. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: Potential use for cancer prevention. Nutrition and Cancer 62(1) : 1–20.
- ✓ *Humara Wani, Shakeel A. Shah, Javid A. Bandy* , Chemical composition and antioxidant activity of the leaf essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Kashmir, India **The Journal of Phytopharmacology 2014; 3(2): 90-94**
- ✓ Hygerman A. E and Larry G. B. 1988. Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. Journal of Chemical Ecology 15(6) : 1795-1810.
- ✓ Hyerisam. , 2013 : Propriétés médicinales de la menthe pouliot. (*Mentha pulegium*.L)

(I)

- ✓ Il Edrissi A., 1982 : Thèse de troisième cycle: Etude des huiles essentielles de quelques Espèces *Salvia*, *Lavandula* et *Mentha* du Maroc, Faculté des Sciences de Rabat, Maroc, 18-22 .
- ✓ Iserin P (2001), Larousse Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, préparations, soins. Ed Larousse, p 66, 292, 293, 295, 296, 298

- ✓ Iserin P., Masson M., Restellini J.P., De La Rocque R. et De La Roque O. (2007). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse, Paris.

(J)

- ✓ [Jacqueline Rossant-Lumbroso](#) Et [Dr Lyonel Rossant](#) (Fiche conseil "Comment se débarrasser d'un aphte ?", Union Française pour la Santé Bucco-Dentaire, UFSBD "Aphtes récidivants : comment faire face ?", Revue Médicale Suisse)27.01.2017
- ✓ Jahandiez E. & Marie R., 1934. Catalogues des plantes du Maroc, spermatophytes et ptéridophytes. Tome III. Ed. Paul Le chevalier, Paris.
- ✓ Jahandiez E. et Marie R., 1934 : Catalogues des plantes du Maroc, Spermatophytes et ptérydophytes. Tome III, P. Lechevalier, librairie 12, rue de Tournon VIe, Alger Paris, 42.
- ✓ J.B. WOELFEL, R.C. SCHEID. Anatomie dentaire, Application à la pratique de la chirurgie dentaire. Paris : Maloine, 2007.
- ✓ [Jesus Cardenas](#) 04.12.2017 disponible sur : https://www.doctissimo.fr/html/dossiers/herpes/sa_4804_herpes_visage.htm
- ✓ José AM, Ansuategui M, Bermejo P (2007). Active antifungal substances from natural sources, ARKIVOC, VII, 116-145.
- ✓ J.S. Greenspan, BDS, University of California, San Francisco and Sol Silverman, Jr., DDS via the Public Health Image Library of the Centers for Disease Control and Prevention 2020. Disponible sur https://www.merckmanuals.com/fr-ca/professional/multimedia/image/v26440692_fr).

(k)

- ✓ Kangogo K. Geoffrey¹, Kagira M. John², Maina Naomi³ and Karanja M. Simon Qualitative Phytochemical Screening of Camellia sinensis and Psidium guajava Leave Extracts from Kericho and Baringo Counties Vol5, Issue3, 2014, p506-512
- ✓ *KaoutarZinelabidine, IdrissiRhizlane, MeriameMeziane, Fatima Zahra Mernissi. Recurrent oral ulceration, and if it was celiac disease. Pan Afr Med J. 2012; 12: 88.*
- ✓ Karabi Chakraborty, Sanchita Bhattacharjee, Tapan Kumar P, Sauryya Bhattacharyya (2015). Evaluation of in vitro antioxidant potential of Tea (Camelia sinensis) leaves obtained from differents heights of Darjeeling Hill. Journal of Applied Pharmaceutical Science ; 10: 063-068, January, 2015
- ✓ Kaul V K, Nigam S S, Dhar K L (1976). Antimicrobial activities of the essential oils• of Artemisia Absinthium Linn., Artemisia vestita Wall., and Artemisia vulgaris Linn. Indian J. Pharm, 38(1), 21-22.

- ✓ Kaul V K, Nigam SS, Dhar K L (1978). Insecticidal activity of some essential oils. Indian J. Pharm, 40(1), 22.
- ✓ Kenneth M. Kaye, MD, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School disponible sur le web : . <https://www.msmanuals.com/fr/accueil/infections/infections-%C3%A0-virus-herp%C3%A8s/zona>
- ✓ [Kenneth M. Kaye](#), MD, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School Dernière révision totale mai 2018| Dernière modification du contenu juin 2018 disponible sur : <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/virus-herp%C3%A9tiques/infections-par-le-virus-herpes-simplex-hsv>
- ✓ Khajeh M., Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F., Bahramifar N. 2004. Comparison of essential oil composition of Carum copticum obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. Food Chemistry. 86: 587-591
- ✓ Khajeh M., Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F., Pirmoradei M.R. 2005. Comparison of essential oils compositions of Ferula assa-foetida obtained by supercritical carbon dioxide
- ✓ Khalaf N.A., Shakya A.K., Al-othman A., El-agbar Z. et Farah H. (2008). Antioxidant Activity of Some Common Plants. Turk J Biol, 32: 51-55.
- ✓ Khaled-Khodja N., Boulekbache-Makhlouf L. & Madani K., 2014. Phytochemical screening of antioxidant and antibacterial activities of methanolic extracts of some Lamiaceae. Ind. Crop. Prod. 61: 41–48.
- ✓ Khattak S G, Gilani S N (1985). Antipyretic studies on some indigenous Pakistani medicinal plants. J. Ethnopharmacol, 14(1), 45-51.
 - ✓ Kim N.S., Lee D.S. 2002. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from Lavandula species by gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 982: 31-47.
 - ✓ Kone D. 2009. Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes -extraction identification d'alcaloïdes- caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. thèse docteur de l'université de Bamako

(L)

- ✓ LAURENT DEVOIZE - CLERMONT-FERRAND 2015.
- ✓ Legrand G. 1993. Manuel de préparateur en Pharmacie. Masson, Paris
- ✓ Leroy et CHAUSSAIN C Université Paris Descartes et coll. Union Française pour la Santé Bucco-Dentaire présenté au Colloque National de Santé Public de l'UFSBD en 2006 ADF 2008
- ✓ leucoplasies buccales : des lésions potentiellement malignes. Dr Moreau N, Vaucard E Dr Ejeil A-L, Dr Gaultier F et Dr Dridi S-M. ResearchGate. Consulté le 27 octobre 2019.

- ✓ Litvinenko V.I., Popova T.P., Simonjan A.V., Zoz I.G. & Sokolov V.S., 1975. Tannins and derivatives of hydroxycinnamic acid in Labiatae. *Planta Med.* 27: 372–380.
- ✓ Li X., Kolltveit K. M., Tronstad L., Olsen I. Systemic Diseases Caused by Oral Infection. *Clinical Microbiology.* 2000, 13(4): 547—558.
- ✓ [Ludovic Rousseau](#) Société française de dermatologie . www.dermato-info.fr Janvier 2013
- ✓ Luque de Castro M.D., Jiménez-Carmona M.M. 1998. Conventional techniques for the isolation of valuable essential oils. *Trends Anal. Bibliographies* 304 Chem. 17 : 441
- ✓ Lochouarn Martine ([le figaro.fr](http://lefigaro.fr)). Publié le 25/03/2014

(M)

- ✓ Macheix J., Fleuriet A., Jay C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires. *Collection Biologie*, pp.1-11.
- ✓ Macheix J.J., Fleuriet A. & Jay-Allemand C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, *Collection Biologie*, Lausanne. pp: 4-5, 192.
- ✓ Manchado P. S. and Cheynier V. 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier, Paris. 398 p.
- ✓ Margaret J. Mary BATH-BALOGH .FEHRENBACH. *Illustrated dental embryology, histology and anatomy* Third edition. s.l. : Saunders, an imprint of Elsevier Inc, 2006, 2011, 1997.
- ✓ Martel J. et al, « microbiome et santé », *Encyclopædia Universalis* [en ligne], consulté le 25 septembre 2017. Disponible sur : <http://www.universalis-edu.com/encyclopedie/microbiome-et-sante/>
- ✓ Marsh, P. D. « Dental plaque as a biofilm: the significance of pH in health and caries ». *Compendium of continuing education in dentistry* 30, no 2 (2009): 76- 78, 80, 83-87, 90.
- ✓ Marsh PD, Devine DA. How is the development of dental biofilms influenced by the host ? *J Clin Periodontol* 2011;38 (suppl. 11):28-35.
- ✓ Martine Lochouarn ([le figaro.fr](http://lefigaro.fr)). Publié le 25/03/2014.
- ✓ Martini MC., Seiller M. 1999. Actifs et additifs en cosmétologie. *Procédés d'extraction des huiles essentielles*. Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales. p 563.
- ✓ M. Boussaid, N. Ben Fadhel, M. Ben M'hamed; (1998), 'Structure of vegetation in Northern and Central Tunisia and Protective Measures. *Cah. Opt. Mediter.*, Vol. 38, 295-302.
- ✓ Medjekal Samir^{1*}, Saker Imen , Ghadbane Mouloud , Benderradji Laid , Bousseboua Hacène²
¹Université Mohamed Boudiaf M'Sila, Faculté des sciences, département de Microbiologie et Biochimie, 28 000 M'sila, Algérie *Revue des Régions Arides* n°43 (3/2017)

- ✓ M. E. Lucchesi, F. Chemat, J. Smadja; (2004), An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices, flavour and fragrance journal J. 19: 134–138
- ✓ Michel B., Pulvermacker B., Bertolus C., Couly G. Stomatites du nourrisson et de l'enfant. J. Pédiatrie Puériculture. sept 2003;16(5):267-80.
- ✓ M.M AURIOL, Y. LE CHARPENTIER. "Histologie de la muqueuse buccale et des maxillaires.", Paris : EMC (Elsevier Masson SAS), Stomatologie 22-007-M-10 , 1998. Médecine buccale 28-120-M-10 , 2008.
- ✓ M. Nuriel-Ohayon, H. Neuman, and O. Koren, "Microbial Changes during Pregnancy, Birth, and Infancy," Front. Microbiol., vol. 7, p. 1031, Jul. 2016.
- ✓ Moura L.S., Carvalho Jr. R.N., Stefanini M.B., Ming L.C., Meireles M.A.A. 2005. Supercritical fluid extraction from fennel (*Foeniculum vulgare*) : global yield, composition and kinetic data. The Journal of Supercritical Fluids. Article in press.
- ✓ Mouton C., Robert J.C. (1993). Bactériologie buccodentaire. Paris : Masson, 2-225-84360- 0

(N)

- ✓ Newrnan M.B., Editors. 1994, Philadelphia, PA: W.B. Saunders, pp.360—384.
- ✓ N. Magon and P. Kumar, "Hormones in pregnancy," Niger. Med. J., vol. 53, no. 4, p. 179, Oct. 2012.
- ✓ N. . Nait Said ; (2007), Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes *Pituranthos chloranusthus* et *Marrubium vulgare*, Mémoire de magister à l'université de Batna.
- ✓ Nor Qhairul Izzreen, MN, Mohd Fadzelly (2013). Phytochemicals and antioxidant properties of different parts of *Camellia sinensis* leaves from Sabah Tea Plantation in Sabah. International Food Research Journal 20(1): 307-312

(O)

- ✓ Ouakouak H. 2 *, Chohra M. 1 , Denane M. Chemical Composition, Antioxidant Activities of the Essential Oil of *Mentha pulegium* L, South East of Algeria 2University of El-Oued, VTRS Laboratory, B.P.789, 39000, El Oued, Algeria , International Letters of Natural Sciences ISSN: 2300-9675, Vol. 39, pp 49-55
- ✓ Ozel M.Z., Gogus F., Lewis A.C. 2003. Subcritical water extracti

(P)

- ✓ Pathak M. A., Farrington D. J. and Fitzpatrick T. B. (1962). The presently known distribution of furocoumarins (psoralens) in plants. Journal of investigative Dermatology, 39: 225-299.
- ✓ Petersen PE., Yamamoto T. Improving the oral health of older people: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. Community Dent. Oral Epidemiol. 2005; 33: 81-92

- ✓ Peyrin-Biroulet L., Petitpain N., Kalt P., Ancel D., Petit-Laurent F. et Trechot P. (2004). Hépatotoxicité probable du gallate d'épigallocatechol utilisé en phytothérapie. *Gastroenterol Clin Biol*, 28: 404-6.
- ✓ Peyron L., Richard Hubert., 1992. L'extraction des épices et herbes aromatiques et les différents types d'extraits. *Epices et aromates. Tec et Doc – Lavoisier, APRIA., Paris.*
- ✓ . Philip D. MARSH, Michael V. MARTIN. *Oral Microbiology*, fifth edition. s.l. : Churchill Livingstone Elsevier, Elsevier limited, 2009.
- ✓ Pizzale L., Bortolomeazzi R., Vichi S., Uberegge E. & Conte L., 2002. Antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* and *S. fruticosa*) and oregano (*Origanum onites* and *O. onites*) extracts related to their phenolic compound content. *J. Sci. Food Agr.* 82: 1645– 1651.
- ✓ Pizzorno JE Jr, Murray Michael T (Ed). *Textbook of Natural Medicine*, Churchill Livingstone, États-Unis, 2006.
- ✓ [Potential Impact of Oral Inflammations on Cardiac Functions and Atrial Fibrillation Roles of Oral Infections in the Pathomechanism of Atherosclerosis](#)
Publication Index Santé : 22.12.2015 disponible sur <https://www.indexsante.ca/chroniques/410/formation-de-la-carie-dentaire.php>
- ✓ Praveen Kumar Ashok^{1*}, Kumud Upadhyaya 2013 , Preliminary Phytochemical Screening and Physico-Chemical Parameters of *Artemisia absinthium* and *Artemisia annua* , *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* Vol. 1 No. 6 2013
- ✓ Proestos C., Sereli D. & Komaitis M., 2006. Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. *Food Chem.* 95: 44-52.
- ✓ Publications du Québec Ministère du Travail, de l'Emploi et de la Solidarité sociale .,2012 disponible sur le web :<https://www.quebec.ca/sante/problemes-de-sante/a-z/carie-dentaire/symptomes/>

(Q)

- ✓ Quézel P. & Santa S., 1963. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.* Tome 1. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.

(R)

- ✓ Rana B.K., Singh U.P. & Taneja V., 1997. Antifungal activity and kinetics of inhibition by essential oil isolated from leaves of *Aegle marmelos*. *J. Ethnopharmacol.* 57: 29–34.
- ✓ Rao V S N, Menezes A M S, Gadelha M G T (1988). Antifertility screening of some indigenous plants of Brasil. *Fitoterapia*, 59(1), 17-20.

- ✓ Raven H., Evert R. F., Eichhorn S. E. (2000). *Biologie végétale*. 6e édition. Traduit par Jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de Charles-Marie Evrard. De Boeck Université - Paris, 944p.
- ✓ Raybaud E., 1985 : *Critique de la systématique des menthes*. Thèse de Doctorat d'état, faculté de pharmacie, Marseille.
- ✓ Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O. et Regeat F. 1996. Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Médecine et Nutrition*, 1 (32) : 17-27.
- ✓ Richard Hubert. 1992. *Epices et aromates*. Tec et Doc – Lavoisier, APRIA., Paris.
- ✓ R. J. Lamont and H. F. Jenkinson, *Oral microbiology at a glance*, Wiley-Blac. Chichester (Royaume-Uni), 2010.
- ✓ R. KUFFER, T. LOMBARDI, C. HUSSON-BUI, B. COURRIER, J. SAMSON. *La muqueuse buccale : de la clinique au traitement*. Paris : Med'Com, 2009.
- ✓ Robereau–Gayon P. 1968. Notion générale sur les composés phénoliques. In : *Les composés phénoliques des végétaux*. Ed. Dunod. Pp : 1-27.

(S)

- Sakanaka, S., et al., Inhibitory effects of green tea polyphenols on glucan synthesis and cellular adherence of cariogenic streptococci. *Agric Biol Chem*, 1990. 54(11): p. 2925-2929.
- ✓ Sampaio-Maia B, MonteiroSilva F. Acquisition and maturation of oral microbiome throughout childhood : an update. *Dent Res J (Isfahan)* 2014;11:291-301.
- ✓ Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., et Saura-calixto F.(1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal Science Technology International*. 8, 121-137.
- ✓ Sánchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.
- ✓ Sharopov F S, Sulaimonova V A, Setzer W N (2012), Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Tajikistan, *Rec. Nat. Prod.*P127–134. State University/USDA, p 53–70
- ✓ Singleton, V. L., & Rosi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology Viticulture*, 16, 144–158.
- ✓ S. LORIMIER, P. KEMOUN. "Histophysiologie du parodonte". Article 28-115-P-10. EMC médecine buccale, Elsevier Masson SAS, décembre 2012. Vol. 7, N6, pp. 1-23.
- ✓ Sofowora, E.A. *Medicinal Plants and Traditional Medecine in Africa*. Wiley, Chichester, **1982**.
- ✓ Stanković M. S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac Journal Science* 33: 63-72.

- ✓ Stashenko E.E, Jaramillo B.E, MartiÑez J.R. 2004. Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopia aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1025: 105–113

(T)

- ✓ Taylor, P.W., J.M. Hamilton-Miller, and P.D. Stapleton, Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Sci Technol Bull*, 2005. 2: p. 71-81.
- ✓ Teixeira, E. I., Fischer, G., Van Velthuisen, H., Walter, C., & Ewert, F. (2013). Global hotspots of heat stress on agricultural crops due to climate change. *Agricultural and Forest Meteorology*, 170, 206-215.
- ✓ [THOMAS Muriel](#) et [CASSARD Anne-Marie](#) Human Microbiome Project (<http://hmpdacc.org/>), Metahit (<http://www.metahit.eu/>) .,08.02.2019
- ✓ Toma M., Vinatoru M., Paniwnyk L., Mason T.J. 2001. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* 8:137-142.
- ✓ Tournaire G. 1980. *Parfums Cosmét. Arômes*. 35: 43

(v)

- ✓ [Vasudevan R. Dental plaques: Microbial community of the oral cavity. J MicrobiolExp. 2017 Jan 31;4\(1\):00100. doi: 10.15406/jmen.2017.04.00100.](#) Page consultée le 27 février 2019.
- ✓ Vidal. Mis à jour le 21/08/19 disponible sur le web :<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2556286-parodontite-cause-douleur-traitement/>
- ✓ Vinatoru M., Toma M., Radu O., Filip P.O., Lazurca D., Mason T.J. 1997. The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry*. 4:135-139.
- ✓ Vinatoru M. 2001. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonic Sonochemistry*. 8: 303-313.

(W)

- ✓ Wang L., Weller C. 2006. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*. 1-13.

(x)

- ✓ Xalton NJ, Brown DE (1999). *Chemical from plants: Perspectives on plant secondary products*; Ed: World scientific: 1-14.
- ✓ Xavier Gruffat(creapharma) Dernière mise à jour :28.10.2020

- ✓ Xu, X., X.D. Zhou, and C.D. Wu, The tea catechin epigallocatechin gallate suppresses cariogenic virulence factors of *Streptococcus mutans*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2011. 55(3): p. 1229-36.
- ✓ Xu, X., X.D. Zhou, and C.D. Wu, Tea catechin epigallocatechin gallate inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation by suppressing *gtf* genes. *Arch Oral Biol*, 2012. 57(6): p. 678-83.

(Y)

- ✓ Yezza S., et Bouchama S., 2014: index des métabolites secondaires végétaux, université kasdi merbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques. 47 pages.

(z)

- ✓ Zaidi ,F. ;Voinir ,B. ;Jay , M.,Viricel,M.R,1998.phytochemistry,48,991,994
- ✓ Zargari A., 1990. Herbal Medicines. Publication of Tehran University, Iran. pp: 14- 18.
- ✓ Zekri N., Amalich S., Boughdad A., El Belghiti M.A. & Zair T., 2013. Phytochemical study and insecticidal activity of *Mentha pulegium* L. oils from Morocco against *Sitophilus oryzae*. *Mediterr. J. Chem.* 2(4): 607-619.
- ✓ Zenk H. and Juenger M. 2007. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry* 68 : 2757-2772.
- ✓ Zijngje V, van Leeuwen MBM, Degener JE, Abbas F, Thurnheer T, et al. Oral Biofilm Architecture on Natural Teeth. *PLoS ONE* 5(2) 2010 ; e9321. doi:10.1371/journal.pone.000932
- ✓ Zobel A. M. and Brown S. A. (1990). Dermatitis-inducing furanocoumarins on leaf surfaces of eight species of Rutaceous and Umbelliferous plants. *Journal of Chemical Ecology* 16, 3: 693-700.

Les sites web :

- ✓ http://bibfac.univ-tlemcen.dz/snvstu/opac_css/doc_num.php?explnum_id=2182
- ✓ <http://www.newonat-sas.fr/PBCPPlayer.asp?ID=684083>
- ✓ <http://duchere.pistyles.fr/wp-content/uploads/sites/87/2017/06/Atelier-2-Tutoriel-Extraits-v% C3% A9g% C3% A9taux.pdf>
- ✓ <https://chirident25.weebly.com/uploads/8/4/8/3/84838684/1% C3% A9cosyst% C3% A8me-buccal.pdf>
- ✓ <https://www.centredentaireduvertgalant.com/tout-savoir-sur-la-candidose-buccale>
- ✓ <https://www.laboratoire-medident.fr/blog/traitement-de-la-gingivite-n38#:~:text=La%20gingivite%20est%20une%20inflammation,elle%20est%20trait% C3% A9e%20% C3% A0%20temps.>

- ✓ https://www.google.com/search?q=mycose+buccale.&hl=fr&sxsrf=ALeKk01xz3sDVkJyVbhZt5AN_KGPdw7Y1g:1610466957731&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwisgMD34JbuAhXgSBUIHS00CHUQ_AUoAXoECA8QAw&biw=1024&bih=600#imgrc=bsrHaWQZ4DQsjM
- ✓ <https://fr.db-city.com/Alg%C3%A9rie--Sa%C3%AFda--A%C3%AFn-El-Hadjar--A%C3%AFn-El-Hadjar>
- ✓ [https://fr.wikipedia.org/wiki/A%C3%AFn_El_Hadjar_\(Sa%C3%AFda\)#/media/Fichier:Dz_-_20_-_A%C3%AFn_El_Hadjar.svg](https://fr.wikipedia.org/wiki/A%C3%AFn_El_Hadjar_(Sa%C3%AFda)#/media/Fichier:Dz_-_20_-_A%C3%AFn_El_Hadjar.svg)
- ✓ <https://fr.db-city.com/Alg%C3%A9rie--Sa%C3%AFda--A%C3%AFn-El-Hadjar--Moulay-Larbi>
- ✓ https://fr.wikipedia.org/wiki/Moulay_Larbi#/media/Fichier:Dz_-_20_-_Moulay_Larbi.svg
- ✓ <https://ijpsr.com/bft-article/dental-caries-and-lactobacillus-role-and-ecology-in-the-oral-cavity/?view=fulltext>