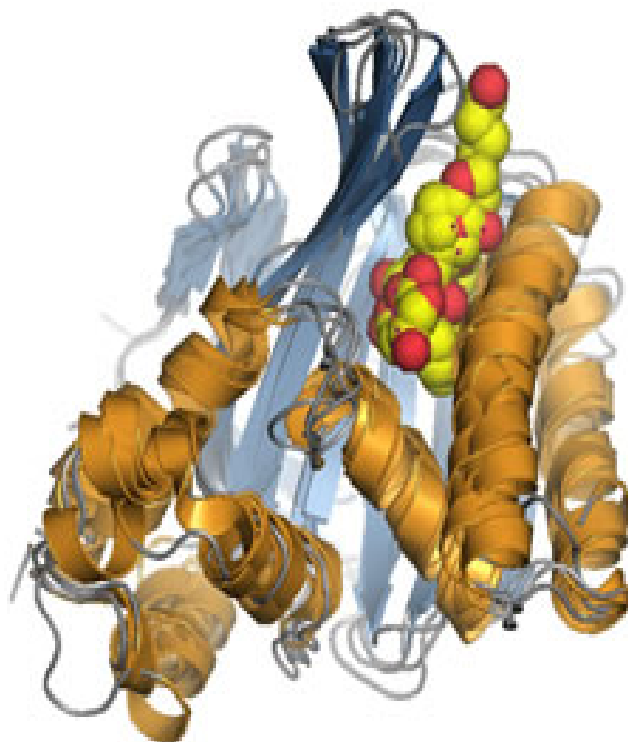


PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



PCBS Journal

Volume 8 N° 4

2014

Special: 4th *Phytochem & BioSub Conference (4th PCBS)*
& 1st *Algerian Days on Natural Products (1st ADNp)*

Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Chamaerops humilis* L. sur des souches isolées des silos de stockage

HASNAOUI Okkacha^{1,2}, ADLI Djallal Eddine Houari¹, HALLA Nouredine¹
& KAHLOULA Khaled¹

1- Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Dr Tahar Moulay – Saida ;

2- Laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels, Université A.B.B – Tlemcen.

Received: Special 4^o PCBS & 1stADNp - December 1, 2, 2013

4^o Phytochem & BioSub Conference (4^o PCBS) & 1st Algerian Days on Natural Products (1st ADNp)

Corresponding author Email okhasnaoui2001@yahoo.fr

Copyright © 2014-POSL

DOI:10.163.pcbsj/2014.8.4.221

Résumé. De nombreux travaux montrent la contamination des denrées alimentaires mal traitées et/ou mal conservées par des champignons microscopiques tels que les genres: *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium* et *Alternaria*. Aussi nombreuses sont les recherches qui révèlent les effets inhibiteurs des huiles essentielles (H.E) extraites des plantes sur les souches bactériennes et fongiques.

Dans ce travail nous avons testé l'activité antifongique des H.E du *Chamaerops humilis* L., espèce ouest méditerranéenne, sur certaines souches de moisissures et de levures.

Pour aboutir à notre objectif nous avons divisé notre travail en deux volets :

1- Extraction des huiles essentielles par différents procédés,

2- Test des activités antifongiques sur des souches isolées des grains de blé tendre provenant des silos de stockage. Les rendements obtenus en H.E oscillent entre 5% et 0,2% selon le procédé utilisé et la partie de la plante. Les résultats de l'activité antifongique montrent une inhibition de la croissance mycélienne; elle est totale sur *Aspergillus flavus* et *Aspergillus ochraceus* à une concentration de 2,5 µl/ml et sur *Rhizopus stolonifer* à une concentration de 12,5 µl/ml. Pour les genres *Penicillium* et *Alternaria* l'inhibition est de 50 % pour une concentration de 12,5 µl/ml. Les tests effectués sur des levures référencées principalement *Candida albicans* 10231 et *Candida albicans* 2679 ont montré une inhibition (C.M.I) à 250 µl/ml et la C.M.I est de l'ordre de 500 µl/ml pour *Candida albicans* IP444.

Mots clés :: Activité antifongique, *Chamaerops humilis*, Huile essentielle, moisissures, levures

Introduction

Le palmier nain de son nom scientifique *Chamaerops humilis* L. (*C.h*) est un monocotylédone appartenant à la famille des Arecaceae. Sur le plan phytogéographique c'est une espèce ouest-méditerranéenne [1] En Algérie ce taxon est largement répandu dans la partie occidentale algérienne [2].

Le rôle socio-économique, ethno-pharmaceutique et ethnobotanique du *C.h* a été signalé par plusieurs auteurs [3-11]. De nombreuses études descriptives ont été effectuées sur le rôle déterminant du *C.h* en médecine traditionnelle. Les feuilles et les fruits ont des vertus médicinales (hypoglycémiant, anti-inflammatoire, anabolisant, antiseptique, antilithique, et diurétique [3 ; 6 ; 8 ; 9, 10]. Les fruits sont généralement astringents en raison de leur richesse en tanin [12]. *C.h* est utilisée aussi pour le traitement de nombreuses maladies principalement celles qui touchent le tube digestif [7 ; 8 ; 13]. Actuellement les études des H.E extraites des plantes et leurs effets antibactériens et/ou antifongiques sont d'actualité [11 - 15]. De ce fait, les H.E sont utilisées en médecine alternative depuis très longtemps pour leurs propriétés inhibitrices.

Les travaux réalisés par Hasnaoui et *al.*, [11] montrent l'effet antibactérien des H.E du *C.h* sur certaines souches bactériennes.

Afin d'augmenter le corpus scientifique de l'impact de H.E extraites des parties aériennes du *Chamaerops humilis* sur certaines souches de moisissures et de levures que ce travail a été effectué. Ce type d'approche n'a pas été entrepris à ce jour.

Matériel et Méthodes

a) *Matériel végétal*

Les feuilles et les fruits ont été recueillis sur des pieds de *C.h* situées dans la région Tlemcen (Algérie occidentale) en Septembre 2011. Le matériel végétal est ramené par Mr Hasnaoui (botaniste) dont un spécimen a été déposé au laboratoire de biologie de l'Université de Saida. Les parties de la plante sur lesquels notre travail a été effectué ont été découpés en petits morceaux et séchés à une température ambiante de 20 °C et à l'abri de la lumière et cela pendant deux semaines. Après le séchage les morceaux ont été broyés et stockée dans des flacons fermés hermétiquement jusqu'à leur utilisation.

b) *Extraction des huiles essentielles*

L'extraction (E) des huiles essentielles (H.E) s'est effectuée par trois méthodes différentes: E. par hydro-distillation (E.D) ; E. par Soxhlet (E.S) et E. par macération (E.M). Dans les deux premiers cas (E.D et E.S) nous avons utilisé 30 grammes (g) de matériel végétal broyé. Les techniques utilisées sont respectivement celles de Wenqiang, et *al.*, et Ashnagar et *al.* [16, 17]. Les solvants employés dans cette étude varient selon le procédé utilisé : il s'agit de l'eau, Chloroforme et l'hexane (Tableau 1). Quant à l'E.M nous avons utilisé 20 g de broyat dans 60 ml de chloroforme et 20 g dans 50 ml de H₂O. Dans les deux procédés on s'est basé sur les méthodes d'extraction décrites par Ashafa et *al.*, et Benmehdi et *al.*, [9 ; 18].

c) *Calcul du rendement*

Le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'H.E obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M) [19]. Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \frac{M'}{M} \times 100$$

RHE : rendement en H.E de la matière sèche;

M' : masse d'H.E en gramme à partir de la matière végétale sèche;

M : masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme

d) *Analyses mycologiques*

1- *Isolement des moisissures*

Ce procédé consiste à préparer une suspension à partir des grains de blé tendre provenant des silos de stockage de la wilaya de Saida- Algérie. Dix grammes de grains de blé broyés de chaque échantillon sont mis en suspension dans 90 ml d'eau peptonée (0,1%). Après une agitation pendant 3 minutes, des dilutions décimales de 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} sont réalisées à partir de la suspension mère. Le milieu utilisé pour les isolements est le Dichloran Rose Bengal Chloramphénicol (DRBC) [20]. Trois boîtes par dilution sont ensemencées. L'incubation a lieu à une température de 28°C pendant 5 jours et la densité de la flore fongique est exprimée en cfu/g de blé.

2- Identification des moisissures

L'identification a été réalisée en se basant sur l'étude des caractères macroscopiques et microscopiques des isolats poussant sur milieu extrait de malt agar et sur milieu Czapek-extrait de levure-agar [21-22]. L'identification des moisissures fait essentiellement appel aux caractères culturels et morphologiques [23].

3- Essais de l'activité antifongique de H.E sur les souches testées

3.1- Sur les espèces de moisissures

Dans notre étude nous avons testé le pouvoir antifongique de H.E par la méthode de contact direct sur les espèces de moisissures isolées à savoir : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria. spp*, *Aspergillus ochraceus*. La méthode utilisée est celle de Fandohan, [24] ou l'H.E des feuilles du *C. h* est testée avec les concentrations suivantes : 0,05 ; 0,2 ; 0,5 ; 2,5 ; 5 et 12,5 µl/ml de milieu PDA. Ces concentrations sont obtenues par l'addition de 1, 4, 10, 50, 100 et 250 µl de l'H.E dans 20 ml du milieu PDA tiède dans un tube à essai. Après agitation des tubes le milieu est coulé dans des boîtes de pétrie en verre de 9 cm de diamètre. L'inoculation se fait par le dépôt au centre de la boîte d'un disque mycélium d'environ 0,6 cm de diamètre d'une pré-culture de 3 à 7 jours.

Une boîte de pétrie contenant 20 ml de PDA sans H.E est inoculée pour servir de témoin. Pour chaque concentration 3 tests ont été réalisés.

Après une incubation de 7 jours à une température de $28 \pm 4^\circ\text{C}$ et en tenant compte de la croissance de mycélium du témoin; on calcule l'indice antifongique qui est déterminé par la formule suivante:

$$\text{Indice antifongique} = (1 - \text{Da}/\text{Db}) \times 100$$

- Da: le diamètre de la zone de croissance de l'essai.
- Db: le diamètre de la zone de croissance du témoin.

3.2- Sur les Levures

La méthode des micro- dilutions sur milieu liquide [25] a été utilisée sur trois souches de levure de références pour déterminer l'activité antifongique de H.E ; il s'agit de : *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans* 2679, *Candida albicans* IPP444. Elles sont entretenues par repiquages successifs sur Gélose Sabouraud et conservées à 4°C.

Résultats et discussions

1- Le rendement en huiles essentielles (R.H.E)

Le R H.E varie selon la méthode utilisée. Il est de 5% pour les feuilles alors qu'il n'est que de 2,7 % pour les fruits en utilisant E.S. Le R.H.E obtenus dans l'E.M est variable en fonction du milieu de macération ; il est de 1,5% pour les feuilles et de 0,4% uniquement pour les fruits en

utilisant le chloroforme comme milieu de macération; quant à l'E.M dans l'H₂O les résultats obtenus sont faibles ; ils sont respectivement de 0, 3 % et 0, 2 %. L'E.D n'a donné que quelques traces dans les deux parties utilisées (Tableau 1).

Tableau 1 : Variation du R.H.E en fonction de la méthode utilisée.

	Méthode d'extraction	Quantité Matière végétale (g)	Le solvant	Le temps d'extraction (h)	Rendement %
Feuille	E.S	30	Hexane	6h	5
	E.D	30	Eau	2h	Traces
	E.M	20	Chloroforme	15min	1,5
	E.M	20	Eau	15min	0,3
Fruit	E.S	30	Hexane	6h	2,7
	E.D	30	Eau	2h	Traces
	E.M	20	Chloroforme	15min	0,4
	E.M	20	Eau	15min	0,2

Les résultats obtenus en termes de R.H.E présentent des valeurs différentes pour les deux parties de *C.h* Le rendement dépend pour une grande partie de la méthode d'extraction utilisée. Ces résultats corroborent avec ceux de Sefidkon et *al.*, [26]. Dans notre cas l'E.S donne un R.H.E important comparativement aux autres méthodes utilisées (E.D et E.M). Sur le plan quantitatif les feuilles sont plus riches en H.E que les fruits. L'E.M dans le chloroforme donne un résultat moins important avec 1,5 % pour les feuilles et 0,4% pour les fruits.

2- Test de l'activité antifongique

2.1- L'activité de l'H.E sur les moisissures

L'activité antifongique de l'H.E des feuilles de *C. h* sur les moisissures a été évaluée par la méthode de contact direct. Les résultats obtenus sont rapportés dans la figure 1.

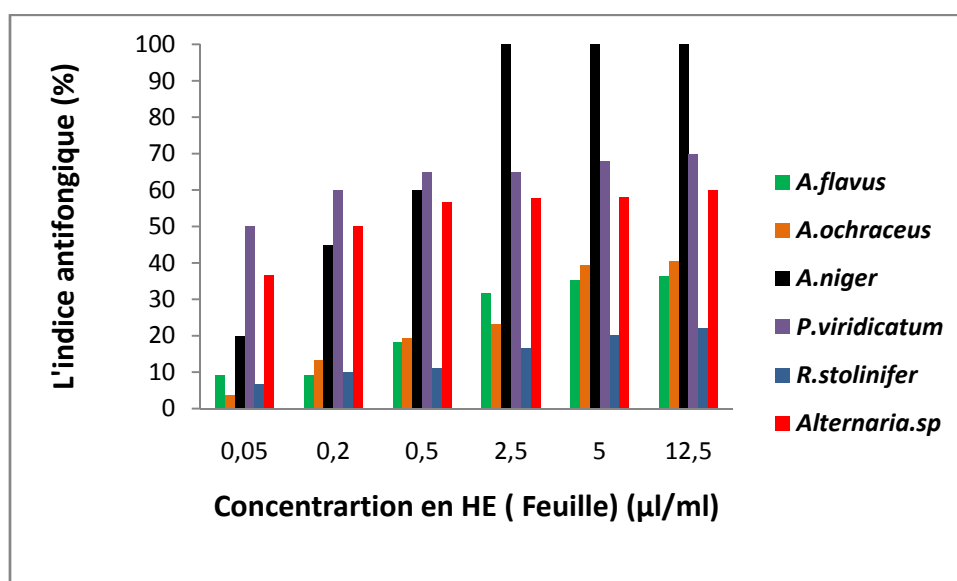


Figure 1 : Indice antifongique de l'H.E du *Chamaerops humilis*

L'analyse des résultats relatifs à la croissance fongique soumise à l'action de différentes concentrations d'H.E de *C.h* (Figure 1) nous a permis de constater que l'H.E a exercé une action antifongique variée sur les espèces de moisissures testées à des concentrations allant de 0.05 µl/ml à 12,5 µl/ml. En effet, à une concentration égale à 2.5 µl/ml, l'H.E de *C.h* a pu inhibée la croissance de *A. niger*, tandis que la croissance de *P. viridicatum*, *A. flavus*, *A. ochraceus*, *Alternaria spp* et *R. stolonifer* ne sont pas totalement inhibée. On a remarqué aussi que le taux d'inhibition de la croissance fongique est proportionnel à la concentration des H.E.

2.2- L'activité de l'H.E (CMI) sur les levures

D'après les résultats obtenus (Tableau 2), l'H.E a exercé un effet inhibiteur vis-à-vis de : *C. albicans* 10231 et *C. albicans* 2679 avec une CMI de l'ordre de 250 mg/ml et une inhibition vis-à-vis *C. albicans* IP444 à une CMI de 500 mg/ml.

Tableau 2 : Résultats des CMI de l'H.E de *Chamaerops humilis* contre *Candida albicans*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Candida albicans</i> 2679	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i> 10231	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i> IP444	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CMI (mg/ml)	500	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	3.9	1.95	0.97	0.48	-

Plus (+) = Concentration non inhibitrice

Moins (-) = Concentration inhibitrice

3- Discussion

Les E.H sont utilisées en médecine alternative depuis très longtemps pour leurs propriétés inhibitrices de la croissance nombreuses bactéries et moisissures. Le pouvoir antibactérien et antifongique de ces substances d'origine végétales à fait l'objet de nombreuses études *in vitro* [27]. Plusieurs études ont porté sur l'utilisation potentielle des H.E dans la lutte biologique contre des champignons microscopiques. Les résultats obtenus dans notre investigation corroborent avec ceux travaux de Bankole et Joda, [28] et Moretti et *al.*, [29]. Les résultats de ces recherches montrent l'effet inhibiteur des H.E sur la croissance de certaines souches fongiques et peuvent être appliquées pour stopper la croissance des champignons dans les aliments stockés.

Les résultats obtenus dans notre investigation sont positives mais contrastées. Numériquement les valeurs de l'inhibition oscillent entre 3,9 % à 100%.pour les espèces considérées. Nous remarquons aussi que le degré d'inhibition est fonction de la concentration d'E.H utilisée et de la nature de la moisissure et/ou de la levure testée. Les mycéliums d'*Aspergillus niger* sont inhibés à 100% à partir d'une concentration de 2,5 µl/ml ; ceux d' *A. flavus* et *P. stolonifer* sont inhibés à 100 % à une concentration de 12,5 µl/ml. Nos résultats confirment ceux de Bansod et Rai [30]; Gupta et *al.* [31]; Pawar et Thaker, [32] sur l'activité inhibitrice des H.E de *Syzygim aromaticum* et *Cinnamomum cassia* sur la croissance d'*Aspergillus niger*.

Contrairement à l'action des H.E sur les moisissures ou nous avons constaté une CMI de l'ordre de 0,05 µl/ml pouvant avoir un effet sur la croissance des moisissures, la CMI des les levures a été évaluée à 250 mg/ml dans notre cas. Ces résultats mettent en relief la différence

de l'action des H.E sur la croissance des champignons et des levures. L'effet antifongique est proportionnel à la concentration d'H.E dans le milieu [33].

Le degré d'activité antimicrobienne est proportionnel à la concentration en H.E. D'une manière générale, la diminution de la croissance des mycéliums en présence de l'H.E comparé au témoin pourrait s'expliquer par la présence de composés terpéniques dans *C.h* [34]. Les terpènes sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes, car ils sont solubles dans les milieux aqueux et provoquent d'importants dégâts sur les parois cellulaires des microorganismes [35 ; 36 ; 37]. En effet, les différentes analyses phytochimiques réalisées par Hasnaoui et al., [8] sur les parties aériennes de *Chamaerops humilis* montrent la richesse en terpènes de cette dernière.

Conclusion

Les R.H.E obtenus dans notre investigation mettent en relief le lien qui existe entre le procédé d'extraction et la richesse en H.E de chaque partie de la plante. Dans notre cas les feuilles sont plus riches en H.E que les fruits.

L'H.E du *Chamaerops humilis* présente une action inhibitrice sur l'ensemble des souches testées. Les activités antifongiques des H.E de *C.h* sur des souches de moisissures en provenance des silos de stockage montrent des réponses inhibitrices positives mais contrastées. Ces réponses peuvent être de 100% dans le cas de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nige* et *Rhizopus stolonifer*, dans les autres cas l'inhibition peut aller jusqu'à 70 % c'est el vas de *Penicellium viridicatum*.

Ces résultats très probants peuvent trouver une application industrielle dans le domaine de la conservation de certaines denrées alimentaires et pourront être utilisé dans l'agroalimentaire comme bio conservateur.

Références

- [1] Quézel, P., Santa, S. (1962) - Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome I.
- [2] Hasnaoui, O. (2008)- Contribution to Study of the Chamaeropsia in the Region of Tlemcen: Ecological and Cartographical Aspects. University of A.B.B., Tlemcen, Algeria, pp: 81-88.
- [3] Bellakhdar, J; Claisse, R; Fleurentain, J and Younos, C (1991): Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia. Journal of Ethnopharmacology, 35: 123-143.
- [4] Halimi, A. (1997) - Guide to medicinal plants in Algeria. Report of the ministry of agriculture and maritime fisheries, pp: 207.
- [5] Beloued, A. (2001)- médicinal plants in Algeria. University publications office, Algiers, ISBN: 9961.0.0304.4, pp: 277.
- [6] Beghalia, M; Ghalem, S; Allali, H; Belouatek, A and Marouf, A. (2008) - Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using Algerian medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research, 2: 66-70.
- [7] Gaamoussi F., Israili Z. & Lyoussi B., (2010)- hypoglycemic and hypolipidemic effects of an aqueous extract of *Chamaerops humilis* leaves in obese, hyperglycemic And hyperlipidemic meriones shawi rats Pak. J. Pharm. Sci., 23(2), pp.212-219.
- [8] Hasnaoui, O., Bouazza. M., Benali, O. and Thinon, M. (2011) - Ethno Botanic study of *Chamaerops humilis* L. Var. argentea Andre (Arecaceae) in western Algeria. Agricultural journal 6(1):1-6.ISSN:1816-9155.
- [9] Benmehdi. H, Hasnaoui.O , Benali.O , Salhi.F (2012)- Phytochemical investigation of leaves and fruits extracts of *Chamaerops humilis* L.J. Mater. Environ. Sci. 3 (2) 320-237.

- [10] Hasnaoui O., Adli D. E. and Sennour R. (2013)- Antibacterial Activity of Essential Oils of *Chamaerops humilis* (Arecaceae) on Some Pathogenic Bacteria ; RJPBCS 4(4); 626 -633
- [11] Hasnaoui O, Benali O, Bouazza M and Benmehdi H (2013): Ethnobotanical approaches and phytochemical analysis of *Chamaerops humilis* L. (Arecaceae) in the area of Tlemcen (western Algeria); RJPBCS 4(2): 910-918-
- [12] Merlo, M. E. Alemán, J. Cabello.and Penas, J. (1993)- On the mediterranean Fan palm (*Chamaerops humilis*).principes, 37(3); 151-158.
- [13] Bnouham M., Mekhfi H., Legssyer A. & Ziyya A., (2002)- Ethnopharmacology Forum Medic. plants used in the treat. of diabetes in Morocco. Int J. Diabetes & Metab. 10: 33-50.
- [14] Gacem M.A, Ould El Hadj Khelil Aminata, HadeF Sawsen, Boudarham Amel et Djerbaoui Amina Nasrine. (2013) PCBS J ; 7(3):90-94.
- [15] Giordani R et Kaloustian J. (2006) - Action anticandidosique des huiles essentielles: Leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. 121-124.
- [16] Wenqiang G.; Shufen L.; Ruixiang Y.; Shaokun T. and Can Q. (2006)- Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods; China.
- [17] Ashnagar A, Gharib N. and Haidari N. H.,(2007)- Isolation and Identification of Anthralin From the Roots of Rhubarb Plant(*Rheum palmatum*). *E-Journal of Chemistry*.4, (4) 546-549.
- [18] Ashafa A. ; Afolayan A., (2009)- Screening the root extracts from *Biden pilosa* L.var. radiate (Asteraceae) for antimicrobial potentials. J. of Med. Plants Research, 3 (8), 568-572.
- [19] Bssaibis F., Gmira N et Meziane M. (2009)- Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 3, N°1, p : 44-55
- [20] King A. D., Hocking A.D. et Pitt J.I., (1979). Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. Appl. Environ. Microbiol. 37:959-964.
- [21] Raper K.B. et Fennell D.I., (1965). The genus *Aspergillus*. Williams et Wilkins Co., Baltimore,.
- [22] Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., et al., (1997). Fungi and Food Spoilage, 2nd Ed. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD.
- [23] Cahagnier B, (1998)-Moisissures des aliments peu hydratés. Ed. Lavoisier; France 225 p.
- [24] Fandohan P , Gnonlonfin B ,Hell K, Marasas W.F.O, et Wingfield M.J (2005)- occurrence of *Fusarium* and *subsequent fumonisin* contamination in preharvest and stored maize in Benin, West Africa, International Journal of Food Microbiology 99 ; 173-183
- [25] C.L.S.I- 2002 - Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, approved standard M27-A2, 2nd ed. PA, 22 (15).
- [26] Clinical and Laboratory Standards Institute. (2002)-Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, approved standard M27-A2, 2nd ed. *Clinical and Laboratory Standards Institute, Villanova, PA*, 22 (15).
- [27] Giordani R et Kaloustian J. (2006) - Action anticandidosique des huiles essentielles: Leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. 121-124,
- [28] Bankole, S.A and Joda A.O. (2004)- Effect of lemon grass (*Cymbopogon citrates* Stapf) powder and essential oil on mould deterioration and aflatoxin contamination of melon seeds (*Colocynthis citrullus* L.). *African Journal of Biotechnology*, 3(1), 52-59
- [29] Moretti, M.D.L., Sanna-Passino G., Demontis S and Bazzoni E. (2002)- Essential oil formulations useful as a new tool for insect pest control. *AAPS PharmSciTech*. 3(2), 1-11.
- [30] Bansod S and Rai M (2008)- Antifungal Activity of Essential Oils from Indian Medicinal Plants Against Human Pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus niger*. *World Journal of Medical Sciences* 3 (2): 81-88.
- [31] Gupta C; Garg A; Uniyal and Gupta s. (2009)- Comparison of antimicrobial activities of clove oil & its extract on some food borne microbes; Internet J. of Microbiology; 7 (1).
- [32] Pawar VC and THAKER VS. (2006)- In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*. *Mycoses*; 49 (4) :316-23.
- [33] Degryse A. C., Delfa I et Voinier M. A. (2008)- Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique* ; 94, 8-11.

- [34] Tatsadjieu N.L. (2003)- Etude de l'activité inhibitrice des huiles essentielles de quelques épices et plantes aromatiques du Cameroun sur la croissance et la toxico-genèse des moisissures du genre *Aspergillus*. Thèse Doct. E.N.S. des Scie. Agro-industrielles, 176 p.
- [35] Dorman H.J.D. and Deans S.G. (2000)- Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. - J. Appl. Microbiol., 88, 308-316.
- [36] Griffin S.G., Wyllie S.G., Markham J.L. & Leach D.N. (1999) - The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. - Flavour Fragr. J., 14(5), 322-332.
- [37] Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V. (2003) - Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. - J. Appl. Microbiol., 95(4), 853-860.

PhytoChem & BioSub Journal

Peer-reviewed research journal on Phytochemistry & Bioactives Substances

ISSN 2170 - 1768



*PCBS
Journal*



Edition LPSO

Phytochemistry & Organic Synthesis Laboratory
<http://www.pcbsj.webs.com> , Email: phytochem07@yahoo.fr