

République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ecole Nationale Supérieure Agronomique - El-Harrach - Alger
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة - الحراش - الجزائر
Département de Technologie Alimentaire

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Magister en sciences agronomiques

Option : Sciences Alimentaires

Thème

*Composition chimique et activité
biologique des huiles essentielles de
quelques plantes des familles de
labiacées et de cupressacées*

Présenté par : M^{elle} KERBOUCHE Lamia

Jury :

| | | |
|-----------------------------|-------------------|--------------------------|
| Président : | Mme FERHAT Z. | M.C. à l'ENSA |
| Directeur de thèse : | Mr. ASSAMI M. K. | M.C. à l'ENSA |
| Examineurs : | Mr. BENCHABANE A. | M.C. à l'ENSA |
| | Mr. NOUANI A. | M.C. à l'Univ. Boumerdès |
| | Mr. HAZZIT M. | M.C. à l'ENSA |

Année universitaire : 2009 – 2010

Remerciements

Je remercie Dieu tout puissant de m'avoir donné la force, le courage et la patience nécessaire pour réaliser ce travail.

J'exprime mes sincères remerciements à Mr ASSAMI M.K., maître de conférences à l'ENSA, pour avoir accepté d'encadrer mon travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance et mon profond respect ;

Je tiens à remercier Mme FERHAT Z., maître de conférences à l'ENSA, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury. Qu'elle trouve ici l'expression de ma grande considération ;

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à Mr HAZZIT M., maître de conférences à l'ENSA, de m'avoir suivi, dirigé, aidé et encouragé tout au long de mon travail. Je le remercie également pour ses précieux conseils et sa constante disponibilité et aussi d'avoir accepté de faire partie du jury de ma soutenance ;

J'exprime mes vifs remerciements à Mr BENCHABANE A., maître de conférences à ENSA, pour avoir accepté de faire partie du jury et examiner ce travail, je le remercie aussi pour ses conseils, son aide et sa disponibilité.

Un grand remerciement à Mr NOUANI A., maître de conférence à l'Université de Boumerdès, de m'avoir honoré de sa présence et d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier toute l'équipe du laboratoire substances naturelles et laboratoire de microbiologie du CRD-SAIDAL, en particulier : Messaad, Afrah, Linda, Nassima et Mme Ramdhani pour leur grande gentillesse.

Mes remerciements vont également à tout le personnel du Département de Technologie Alimentaire et à Mme Fatima du département de Botanique de l'ENSA.

Je tiens à remercier toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier SOFIANE, que je tiens à le remercier pour son aide, son soutien et ses encouragements.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes très chers parents, auxquels je dois tout mon respect et que je ne remerciais jamais assez ;

A ma très chère sœur Sabrina

A mes chers frères Farouk et Hamza ;

A mon neveu Walid et ma nièce Ines ;

A mes grands parents, mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins ;

A tous mes amis(es).

Lamia Kerbouche.

Sommaire

Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des abréviations

Introduction générale.....1

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Les substances actives : Huiles essentielles et composés phénoliques

| | |
|--|----|
| Huiles essentielles..... | 3 |
| Historique..... | 3 |
| 1 Définition..... | 3 |
| 2 Propriétés physico-chimiques des HE..... | 4 |
| 3 Composition chimique des HE..... | 5 |
| 4 Localisation des huiles essentielles..... | 6 |
| 5 Biosynthèse des huiles essentielles..... | 6 |
| 5.1 Biosynthèse des monoterpènes..... | 6 |
| 5.2 Biosynthèse des sesquiterpènes..... | 7 |
| 6 Fonction biologique des HE..... | 8 |
| 7 Toxicité des HE..... | 8 |
| 8 Procédés d'extraction des HE..... | 8 |
| 8.1 Entraînement à la vapeur..... | 9 |
| 8.2 Distillation à l'eau (Hydrodistillation)..... | 9 |
| 8.3 Distillation mixte..... | 9 |
| 8.4 Extraction par micro-ondes sous vide..... | 10 |
| 8.5 Extraction à l'eau surchauffée..... | 10 |
| 8.6 Extraction distillations simultanées (SDE)..... | 10 |
| 8.7 Extraction au moyen de solvants..... | 10 |
| 8.7.1 Extraction par solvants volatils..... | 10 |
| 8.7.2 Extraction par solvants fixes..... | 11 |
| 8.8 Extraction au CO ₂ liquide ou supercritique..... | 11 |
| 8.9 Expression à froid..... | 12 |
| 9 Analyse des huiles essentielles..... | 12 |
| 9.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)..... | 12 |
| 9.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (CG-SM)..... | 12 |
| 10 Principaux domaines d'application des HE..... | 13 |
| 10.1 Pharmacologie..... | 13 |
| 10.2 Aromathérapie..... | 13 |
| 10.3 Industries agroalimentaires..... | 14 |
| Composés phénoliques..... | 15 |
| 1 Classification des composés phénoliques..... | 15 |
| 1.1 Les acides phénoliques..... | 15 |
| 1.2 Les tannins..... | 16 |
| 1.3 Les flavonoïdes..... | 16 |
| 1.3.1 Structure et classification des flavonoïdes..... | 16 |
| 1.3.2 Biosynthèse des flavonoïdes..... | 17 |
| 2 Rôle physiologique des composés phénoliques..... | 19 |

Sommaire

Chapitre II: Monographie des espèces étudiées

| | |
|---|----|
| Les Labiées..... | 21 |
| 1 Le thym..... | 21 |
| 1.1 Historique..... | 21 |
| 1.2 Caractéristiques botaniques..... | 22 |
| 1.2.1 Description morphologique..... | 22 |
| 1.2.2 Classification..... | 22 |
| 1.3 Localisation et répartition géographique..... | 23 |
| 1.4 Composition chimique des HE du thym..... | 24 |
| 2 La germandrée..... | 24 |
| 2.1 Historique..... | 24 |
| 2.2 Caractéristiques botaniques..... | 24 |
| 2.2.1 Description..... | 24 |
| 2.2.2 Classification..... | 25 |
| 2.3 Répartition géographique..... | 25 |
| 2.4 Composition chimique des HE de germandrée..... | 26 |
| 3 Le Calament..... | 27 |
| 3.1 Historique..... | 27 |
| 3.2 Caractéristiques botaniques..... | 27 |
| 3.2.1 Description..... | 27 |
| 3.2.2 Classification..... | 27 |
| 3.3 Répartition géographique..... | 28 |
| 3.4 Composition chimique des HE de calament..... | 28 |
| Les cupressacées..... | 29 |
| 1 Le Genévrier..... | 29 |
| 1.1 Historique..... | 29 |
| 1.2 Caractéristiques botaniques..... | 29 |
| 1.2.1 Classification..... | 29 |
| 1.2.2 Description..... | 30 |
| 1.3 Répartition géographique..... | 30 |
| 1.4 Composition chimique des HE de genévrier..... | 30 |
| 2 Le Thuya de Berbérie..... | 31 |
| 2.1 Historique..... | 31 |
| 2.2 Caractéristiques botaniques..... | 31 |
| 2.2.1 Description..... | 31 |
| 2.2.2 Classification..... | 31 |
| 2.3 Répartition géographique..... | 32 |
| 2.4 Composition chimique des HE de thuya de Berbérie..... | 32 |

Chapitre III: Oxydation et activité antioxydante

| | |
|---|----|
| Introduction..... | 33 |
| 1 Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides..... | 33 |
| 1.1 Auto-oxydation..... | 34 |
| 1.1.1 Phase d'initiation..... | 34 |
| 1.1.2 Phase de propagation..... | 35 |
| 1.1.3 Phase de terminaison..... | 35 |
| 1.2 Photo-oxydation..... | 36 |
| 1.3 Voie enzymatique..... | 37 |

Sommaire

| | | |
|-------|--|----|
| 2 | Les initiateurs de l'oxydation des lipides | 38 |
| 2.1 | Initiation par les formes activées de l'oxygène | 38 |
| 2.2 | Initiation par les métaux | 39 |
| 2.3 | Facteurs environnementaux..... | 39 |
| 3 | Les antioxygènes | 39 |
| 3.1 | Les antioxydants naturels | 39 |
| 3.1.1 | L'acide ascorbique..... | 40 |
| 3.1.2 | Les caroténoïdes | 40 |
| 3.1.3 | La vitamine E (α -tocophérol) | 40 |
| 3.1.4 | Les composés phénoliques extraits de plantes..... | 41 |
| 3.2 | Antioxydants de synthèse | 41 |
| 3.3 | Antioxydants enzymatiques | 42 |
| 4 | Mécanisme d'action des antioxydants | 42 |
| 5 | Mesure de l'état d'oxydation et du pouvoir antioxydant | 43 |
| | Conclusion..... | 44 |

Chapitre IV: Activité antimicrobienne

| | | |
|-------|--|----|
| | Introduction | 45 |
| 1 | Origines et nature de la contamination | 45 |
| 1.1 | Contamination par les microorganismes de l'eau et du sol | 45 |
| 1.2 | Contamination par les microorganismes de l'air et des poussières | 46 |
| 1.3 | Contamination par les microorganismes présents naturellement dans un aliment | 46 |
| 2 | Evaluation de l'activité antimicrobienne | 46 |
| 2.1 | Principales méthodes de détermination de l'activité | 47 |
| 2.1.1 | Techniques par contact direct | 47 |
| 2.1.2 | Microatmosphère | 47 |
| 3 | Détermination de La CMI et CMB | 48 |
| 4 | Les propriétés antimicrobiennes des HE | 48 |
| 4.1 | Propriétés antibactériennes des HE | 48 |
| 4.2 | Propriétés antifongiques des HE | 49 |
| 4.2.1 | Activité sur les moisissures | 49 |
| 4.2.2 | Activité sur les levures..... | 49 |
| 4.3 | Activité liée à la composition chimique | 50 |
| 4.4 | Mécanisme d'action des HE..... | 51 |
| 4.5 | Association des HE | 51 |
| 4.6 | Facteurs influençant les propriétés antimicrobiennes des HE | 52 |
| 4.6.1 | La température | 52 |
| 4.6.2 | Le pH | 52 |
| 4.7 | Applications des HE dans les aliments..... | 52 |
| | Conclusion..... | 53 |

Partie II: Etude expérimentale

Chapitre I: Matériels et méthodes

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Matériel végétal | 54 |
| 2 | Description des espèces étudiées | 54 |
| 2.1 | Les lamiacées | 54 |
| 2.1.1 | <i>Thymus pallescens</i> de Noé..... | 54 |

Sommaire

| | | |
|-------|---|----|
| 2.1.2 | <i>Teucrium polium</i> ssp <i>capitatum</i> Briq..... | 55 |
| 2.1.3 | <i>Satureja calamintha</i> ssp <i>nepeta</i> (L.) Briq..... | 55 |
| 2.2 | Les cupressacées..... | 56 |
| 2.2.1 | <i>Juniperus phoenicea</i> (L.)..... | 56 |
| 2.2.2 | <i>Tetraclinis articulata</i> Vahl. | 57 |
| 3 | Localisation des sites producteurs d'HE..... | 57 |
| 4 | Extraction de l'HE..... | 58 |
| 4.1 | Protocole d'extraction | 58 |
| 4.2 | Cinétique d'extraction | 59 |
| 4.3 | Rendement de l'extraction..... | 59 |
| 4.4 | Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par CPG et CG/SM..... | 59 |
| 4.4.1 | Analyse qualitative des HE par CPG..... | 59 |
| 4.4.2 | Mode d'identification | 60 |
| 4.4.3 | Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par CG/SM..... | 60 |
| 5 | Elaboration des extraits de feuilles de Genévrier et de Thuya de Berbérie | 61 |
| 6 | Dosage des composés phénoliques des extraits obtenus | 62 |
| 6.1 | Dosage des phénols totaux | 62 |
| 6.1.1 | Principe..... | 62 |
| 6.1.2 | Mode opératoire..... | 63 |
| 6.2 | Dosage des flavonoïdes : | 63 |
| 6.2.1 | Principe..... | 63 |
| 6.2.2 | Mode opératoire..... | 63 |
| 7 | Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits obtenus | 64 |
| 7.1 | Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH..... | 64 |
| 7.1.1 | Principe..... | 64 |
| 7.1.2 | Mode opératoire..... | 64 |
| 7.1.3 | Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC ₅₀) | 65 |
| 7.2 | Mesure du pouvoir réducteur..... | 65 |
| 7.2.1 | Principe..... | 65 |
| 7.2.2 | Mode opératoire..... | 65 |
| 8 | Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits | 66 |
| 8.1 | Etude qualitative de l'effet antimicrobien | 66 |
| 8.1.1 | Aromatogramme | 67 |
| 8.1.2 | Souches microbiennes testées..... | 67 |
| 8.1.3 | Protocole expérimental | 69 |
| 8.2 | Etude quantitative de l'effet antimicrobien | 70 |
| 8.2.1 | Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) | 70 |
| 9 | Analyse statistique..... | 71 |

Chapitre II: Résultats et discussion

| | | |
|-----|---|----|
| 1 | Localisation des sites producteurs des huiles essentielles | 72 |
| 1.1 | Cas des lamiacées | 72 |
| 1.2 | Cas des cupressacées | 73 |
| 2 | Rendement de l'extraction en HE..... | 73 |
| 2.1 | Le Thym | 73 |
| 2.2 | Le Genévrier..... | 74 |
| 3 | La cinétique d'extraction des HE | 75 |
| 4 | Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par CPG et CG-SM..... | 76 |
| 4.1 | Analyse des HE des espèces de la famille des lamiacées..... | 76 |

Sommaire

| | | |
|-------|---|------------|
| 4.1.1 | <i>Teucrium polium</i> ssp <i>capitatum</i> | 76 |
| 4.1.2 | <i>Thymus pallescens</i> | 81 |
| 4.1.3 | <i>Satureja Calamintha</i> ssp <i>nepeta</i> | 85 |
| 4.2 | Analyse des HE des espèces de la famille des cupressacées..... | 87 |
| 4.2.1 | <i>Juniperus phoenicea</i> | 87 |
| 4.2.2 | <i>Tetraclinis articulata</i> | 92 |
| 5 | Rendement en extrait..... | 96 |
| 5.1 | Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits de feuilles de <i>J. phoenicea</i> et de <i>T. articulata</i> | 97 |
| 5.1.1 | Phénols totaux..... | 97 |
| 5.1.2 | Flavonoïdes..... | 97 |
| 6 | Evaluation de l'activité antioxydante des HE et des extraits testés..... | 99 |
| 6.1 | Activité de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) | 100 |
| 6.1.1 | Test du DPPH pour les huiles essentielles des trois espèces de lamiacées..... | 100 |
| 6.1.2 | Test du DPPH pour les HE et les extraits des espèces de cupressacées | 102 |
| 6.2 | Mesure du pouvoir réducteur..... | 106 |
| 6.2.1 | Pouvoir réducteur des différentes HE des espèces de lamiacées..... | 106 |
| 6.2.2 | Pouvoir réducteur des HE et d'extraits des espèces de cupressacées | 108 |
| 7 | Evaluation de l'activité antimicrobienne des HE et des extraits testés..... | 111 |
| 7.1 | Etude qualitative de l'activité antimicrobienne..... | 111 |
| 7.1.1 | Etude qualitative de l'activité antimicrobienne des HE des espèces de lamiacées.... | 112 |
| 7.1.2 | Etude qualitative de l'activité antimicrobienne des HE des espèces de cupressacées | 115 |
| 7.1.3 | Etude qualitative de l'activité antimicrobienne des extraits testés | 117 |
| 7.2 | Etude quantitative de l'activité antimicrobienne..... | 125 |
| | Conclusion générale | 130 |

Références bibliographiques

Annexe

Liste des tableaux

| | |
|---|-----|
| Tableau 1 : Activités biologiques des composés phénoliques..... | 20 |
| Tableau 2 : Localisation géographique des espèces de thym en Algérie | 23 |
| Tableau 3 : Composé dominant des HE de différentes espèces de thym | 24 |
| Tableau 4 : Localisation géographique de quelques espèces de germandrée..... | 25 |
| Tableau 5 : Composé dominant des HE de différentes espèces germandrée. | 26 |
| Tableau 6 : Localisation géographique de quelques espèces appartenant au genre <i>Satureja</i> | 28 |
| Tableau 7 : Espèces de lamiacées et de cupressacées étudiées | 54 |
| Tableau 8 : Liste et caractéristiques des souches microbiennes testées | 68 |
| Tableau 9: Rendement de l'extraction en HE de <i>Thymus pallescens</i> | 74 |
| Tableau 10 : Rendement de l'extraction en HE de <i>Juniperus phoenicea</i> | 74 |
| Tableau 11 : Composition chimique de l'HE de <i>Teucrium polium</i> ssp <i>capitatum</i> obtenue par CPG et CG-SM..... | 77 |
| Tableau 12 : Composés majoritaires de germandrée de trois régions différentes (Kadiria, Boussaâda, Corse)..... | 80 |
| Tableau 13 : Composition chimique de l'HE de <i>Thymus pallescens</i> obtenue par CPG et CG-SM | 81 |
| Tableau 14 : Comparaison entre la composition chimique d'espèces de <i>Thymus pallescens</i> de régions différentes..... | 84 |
| Tableau 15 : Composition chimique de l'HE de <i>Satureja Calamintha</i> ssp <i>nepeta</i> obtenue par CPG et CG-SM | 85 |
| Tableau 16 : Composition chimique de l'HE de <i>Juniperus phoenicea</i> obtenue par CPG et CG-SM ... | 87 |
| Tableau 17 : Comparaison des teneurs (%) des composés majoritaires des huiles essentielles des feuilles et des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> | 91 |
| Tableau 18 : Composition chimique de l'HE de <i>Tetraclinis articulata</i> obtenue par CPG et CG-SM .. | 92 |
| Tableau 19 : Comparaison des teneurs (%) des composés majoritaires des HE des feuilles de <i>Tetraclinis articulata</i> d'Algérie et de Maroc..... | 95 |
| Tableau 20 : Rendements en extraits de feuilles de <i>J. phoenicea</i> et de <i>T. articulata</i> | 96 |
| Tableau 21 : Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits étudiés | 98 |
| Tableau 22 : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE des espèces de lamiacées, BHT et BHA. | 100 |
| Tableau 23 : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE des espèces de cupressacées, BHT et BHA. | 102 |
| Tableau 24 : Résultats d'activité de piégeage du radical DPPH des deux extraits testés et du BHT .. | 104 |
| Tableau 25 : Valeurs d'IC ₅₀ des deux extraits et du BHT | 105 |
| Tableau 26 : Pouvoir réducteur des différentes HE des espèces de lamiacées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique..... | 106 |

Liste des tableaux

| | |
|--|-----|
| Tableau 27 : Pouvoir réducteur des différentes HE des espèces de cupressacées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique. | 108 |
| Tableau 28 : Pouvoir réducteur des deux extraits testés et du BHT. | 110 |
| Tableau 29 : Diamètre des zones d'inhibitions ^a (en mm) des HE des espèces de lamiacées | 112 |
| Tableau 30 : Diamètre des zones d'inhibitions ^a (en mm) des HE des espèces des cupressacées..... | 115 |
| Tableau 31 : Diamètre des zones d'inhibitions ^a (en mm) des extraits testés..... | 118 |
| Tableau 32 : Concentration Minimales Inhibitrices (CMI) des HE et des extraits | 125 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Biosynthèse des monoterpènes représentatifs à partir du GDP (Rajaonarivony et al., 1992). | 7 |
| Figure 2 : Structure de quelques composés phénoliques (Wang et Mazza, 2002). | 15 |
| Figure 3 : Structure générale du noyau des flavonoïdes (Heim et al., 2002) | 17 |
| Figure 4 : Biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999) | 18 |
| Figure 5 : Oxydation d'un acide gras insaturé (Moll et Moll, 1998) | 34 |
| Figure 6 : Suite des réactions en chaîne conduisant à la peroxydation lipidique (Sachdev et Davies, 2008) | 36 |
| Figure 7: Mécanisme d'initiation de la peroxydase des lipides par l'activité lipoxygénasique (German et Kinsilla, 1985) | 38 |
| Figure 8 : Structure de l'acide ascorbique | 40 |
| Figure 9: structure de la β -carotène | 40 |
| Figure 10 : Structure de l' α -tocophérol | 41 |
| Figure 11 : Antioxydants de la famille des polyphénols (acide caféique et quercétine) | 41 |
| Figure 12: Illustration de la méthode des microatmosphères | 48 |
| Figure 13 : <i>Thymus pallescens</i> au stade de floraison | 55 |
| Figure 14 : <i>Teucrium polium</i> ssp <i>capitatum</i> au stade de floraison | 55 |
| Figure 15 : <i>Satureja calamintha</i> ssp <i>nepeta</i> | 56 |
| Figure 16 : <i>Juniperus phoenicea</i> (L.) | 57 |
| Figure 17 : <i>Tetraclinis articulata</i> Vahl | 57 |
| Figure 18 : Fruits de <i>Tetraclinis articulata</i> | 57 |
| Figure 19 : Acide gallique (Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) | 62 |
| Figure 20 : Quercétine | 63 |
| Figure 21 : Procédure de mise en œuvre du test du pouvoir réducteur | 66 |
| Figure 22 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de pétri | 67 |
| Figure 23 : Coupe transversale d'une tige de <i>Teucrium polium</i> ssp <i>capitatum</i> | 72 |
| Figure 24 : Coupe transversale d'une feuille de <i>Teucrium polium</i> ssp <i>capitatum</i> | 72 |
| Figure 25 : Coupe transversale d'une tige de <i>Thymus pallescens</i> | 72 |
| Figure 26 : Coupe transversale d'une feuille de <i>Thymus pallescens</i> | 72 |
| Figure 27 : Coupe transversale de fruit de <i>Juniperus phoenicea</i> | 73 |
| Figure 28: Coupe transversale de feuille de <i>Juniperus phoenicea</i> | 73 |
| Figure 29 : Evolution du rendement en HE du thym dans le temps | 75 |
| Figure 30 : Evolution de la vitesse d'extraction en fonction de la durée d'extraction de l'HE du thym | 76 |
| Figure 31 : Chromatogramme de l'HE de <i>Teucrium polium</i> ssp <i>capitatum</i> obtenu par CG-SM | 79 |

Liste des figures

| | |
|--|-----|
| Figure 32 : Composés majoritaires de germandrée de trois régions différentes (Kadiria, Boussaâda, Corse). | 80 |
| Figure 33 : Chromatogramme de l'HE de <i>Thymus pallescens</i> obtenu par CG-SM..... | 83 |
| Figure 34 : Comparaison entre la composition chimique d'espèces de <i>Thymus pallescens</i> de régions différentes..... | 84 |
| Figure 35 : Chromatogramme de l'HE de <i>Satureja calamintha ssp. nepeta</i> obtenu par CG-SM | 86 |
| Figure 36 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> obtenu par CG-SM | 89 |
| Figure 37 : Chromatogramme de l'HE des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> obtenu par CG-SM..... | 90 |
| Figure 38 : Comparaison des teneurs (%) des composés majoritaires des huiles essentielles des feuilles et des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> | 91 |
| Figure 39 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de <i>Tetraclinis articulata</i> obtenu par CG-SM..... | 94 |
| Figure 40 : Chromatogramme de l'HE des fruits de <i>Tetraclinis articulata</i> obtenu par CG-SM..... | 94 |
| Figure 41 : Comparaison des teneurs (%) des composés majoritaires des HE des feuilles de <i>Tetraclinis articulata</i> d'Algérie et de Maroc..... | 95 |
| Figure 42 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique..... | 97 |
| Figure 43 : courbe d'étalonnage de la quercétine..... | 98 |
| Figure 44 : teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits étudiés | 99 |
| Figure 45 : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE des espèces de lamiacées, BHT et BHA. | 101 |
| Figure 46 : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE des espèces de cupressacées, BHT et BHA. | 103 |
| Figure 47 : Activité de piégeage du radical DPPH des deux extraits testés et du BHT | 104 |
| Figure 48 : Pouvoir réducteur des différentes HE des espèces de lamiacées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique..... | 107 |
| Figure 49 : Pouvoir réducteur des différentes HE des espèces de cupressacées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique..... | 109 |
| Figure 50 : Pouvoir réducteur des deux extraits testés et du BHT | 110 |
| Figure 51 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibitions des espèces de lamiacées | 113 |
| Figure 52 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibitions des espèces de cupressacées | 116 |
| Figure 53 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibitions des extraits de | 119 |
| Figure 54 : Zones d'inhibition des HE et des extraits testés sur <i>Staphylococcus aureus</i> | 123 |
| Figure 55 : Zones d'inhibition des HE et des extraits testés sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 124 |
| Figure 56 : Zones d'inhibition des HE testés sur <i>Saccharomyces cereviceae</i> | 125 |
| Figure 57: Détermination des CMI de l'HE des feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> vis-à-vis de <i>S. aureus</i> (Sa) et <i>K. pneumoniae</i> (Kp). | 127 |

Liste des figures

| | |
|---|-----|
| Figure 58: Détermination des CMI de l'extrait des feuilles de <i>J. phoenicea</i> vis-à-vis de <i>S. aureus</i> (Sa), <i>B. subtilis</i> (Bs) et <i>K. pneumoniae</i> (Kp)..... | 127 |
| Figure 59 : Détermination des CMI de l'HE de <i>Thymus pallescens</i> vis-à-vis de <i>S. cereviceae</i> (Sc) et <i>C. albicans</i> (Ca)..... | 128 |
| Figure 60 : Détermination des CMI de l'HE de <i>Satureja calamintha</i> vis-à-vis de <i>S. cerevisae</i> (Sc) et <i>C. albicans</i> (Ca)..... | 128 |
| Figure 61 : Détermination des CMI de l'extrait des feuilles de <i>Tetraclinis articulata</i> vis-à-vis de <i>S. aureus</i> (Sa), <i>B. subtilis</i> (Bs) et <i>K. pneumoniae</i> (Kp) | 129 |
| Figure 62 : Détermination des CMI de l'extrait des feuilles de <i>T. articulata</i> vis-à-vis de <i>S. cerevisae</i> (Sc) et <i>C. albicans</i> (Ca)..... | 129 |

Liste des abréviations

| | |
|--------------------------|--|
| ABTS : | 2,2- azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) |
| AFNOR : | Association Française de Normalisation |
| ANOVA 1 : | Analyse de la variance à une seule variable |
| ATCC : | American Type Culture Collection |
| ATP: | Adenosine Tri Phosphate |
| Bb : | <i>Bordetella bronchiseptica</i> |
| BHA : | Butyl-Hydroxy-Anisole |
| BHT : | Butyl-Hydroxy-Toluène |
| Bs : | <i>Bacillus subtilis</i> |
| Ca : | <i>Candida albicans</i> |
| CG/SM : | Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse |
| CMB : | Concentration Minimale Bactéricide |
| CMI : | Concentration Minimale Inhibitrice |
| CPG : | Chromatographie en Phase Gazeuse |
| CRD : | Centre de recherche et de développement |
| CS : | Canaux sécréteurs |
| DMPD : | N, N, -dimethyl-p-phenylenediamine |
| DPPH : | 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl |
| Ec : | <i>Escherichia coli</i> |
| Ef : | <i>Enterococcus faecium</i> |
| Ej : | Extrait <i>Juniperus phoenicea</i> |
| Et : | Extrait <i>Tetraclinis articulata</i> |
| ENSA : | Ecole Nationale Supérieure Agronomique |
| ERO : | Espèces réactives de l'oxygène |
| F : | Feuilles |
| Fr : | Fruits |
| GAE : | Equivalent d'Acide gallique |
| Gr : | Grossissement |
| HE : | Huile essentielle |
| I(%) : | Pourcentage d'inhibition ou activité antioxydante |
| IC₅₀ : | Concentration inhibitrice de 50% des radicaux |
| IR : | Indice de rétention |
| Jf : | <i>Juniperus phoenicea</i> (feuilles) |
| Jfr : | <i>Juniperus phoenicea</i> (fruits) |
| K⁺ : | Ion potassium |
| Kp : | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |

Liste des abréviations

| | |
|---------------------------|---|
| M : | Mélange thym-germandrée |
| min : | Minute |
| MV : | Masse de la matière végétale |
| nm : | Nanomètre |
| QE : | Equivalent de quercétine |
| Pa : | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| PC : | Pression critique |
| PEG | Polyéthylenglycol |
| PG : | Poils glandulaire |
| pH : | Potentiel d'hydrogène |
| ppm : | Partie par million |
| PS : | Poils sécréteurs |
| PT : | Poils tecteurs |
| R : | Resistante |
| Rdt_i : | Rendement instantané en huile essentielle |
| Rdt_{HE} : | Rendement cumulé en huile essentielle |
| Sa : | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| Sc : | <i>Saccharomyces cereviceae</i> |
| Scn: | <i>Satureja calamintha ssp nepeta</i> |
| SM : | Spectrométrie de masse |
| TBA : | Acide thiobarbiturique |
| TBHQ : | Ter-Butyl-Hydroxy-Quinone |
| TC: | Température critique |
| Tf : | <i>Tetraclinis articulata</i> (feuilles) |
| Tfr : | <i>Tetraclinis articulata</i> (fruits) |
| Tp : | <i>Thymus palleescens</i> |
| Tpc : | <i>Teucrium polium ssp capitatum</i> |
| TR : | Temps de rétention |
| Vs : | Versus (contre) |
| α : | Alpha |
| β : | Beta |
| γ : | Gamma |
| δ : | Delta |
| ρ : | Para |
| Ψ : | Psi |

Introduction

Introduction

Les plantes sont des usines biologiques naturelles. Elles produisent des substances biochimiques actives : huiles essentielles (HE), flavones, alcaloïdes, tanins,...et les mettent à la disposition de l'homme qui peut en faire usage pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux.

Dans l'antiquité, certaines plantes étaient révérees pour des vertus qu'on leur avait reconnues. Aucun ne cherchait à savoir pourquoi et comment elles agissaient, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. Actuellement la recherche sur les bienfaits des plantes médicinales voit son développement s'accroître, notamment avec les HE dont les domaines d'application sont nombreux aussi bien en médecine, en pharmacie ainsi que dans d'autres domaines tels que l'agroalimentaire, les industries chimiques, etc.

Les effets bioactifs des HE et des extraits se sont largement avérés être liés à leurs grande richesse en composés terpéniques et aromatiques dont les structures chimiques sont très diversifiées (**Croteau et al., 2000**).

Les conservateurs alimentaires sont des substances d'origine naturelle ou synthétique capables de s'opposer à l'altération d'un produit alimentaire. Cette altération, de type physico-chimique, peut être due à la présence de micro-organismes ou à l'oxygène de l'air. Elle peut se manifester par un changement des propriétés organoleptiques (goût, odeur et couleur), nutritionnelles et physiques des aliments dans lesquels elle apparaît.

En agroalimentaire, on différencie en général deux groupes de conservateurs : les conservateurs antimicrobiens agissant sur les micro-organismes, bactéries, levures et champignons et les antioxydants capables de s'opposer à tous les phénomènes d'oxydation et à l'apparition de radicaux libres.

De nos jours, les antioxydants de synthèses sont critiqués en raison des problèmes qu'ils peuvent engendrer sur la santé du consommateur. En effet, le BHT, le BHA et le TBHQ sont suspectés d'avoir des effets négatifs sur la santé (**Paradiso et al., 2006**). De nombreuses études s'orientent donc vers la recherche d'antioxydants naturels parfaits, à la fois sûrs et efficaces.

L'usage extensif des agents antimicrobiens chimiques dans le secteur agroalimentaire crée lui aussi un choc des consciences dont l'onde se propage de plus en plus, et face aux suspicions accrues suscitées par ces derniers, le développement et la recherche sur les plantes aromatiques a été orienté vers l'obtention de conservateurs antimicrobiens naturels afin de substituer ces agents chimiques (**Odoul, 2003**).

Ainsi, les HE et les extraits incorporés dans les formulations alimentaires permettent, en plus de leur pouvoir antioxydant, de contribuer à la réduction de certaines infections communes généralement liées à une contamination microbienne dans les aliments consommés.

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressés à trois espèces de la famille des lamiacées (*Thymus pallescens*, *Teucrium polium ssp capitatum* et *Satureja calamintha ssp nepeta*) qui est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien et antioxydant (**Bouhadid et al., 2006**) et deux espèces de la famille des cupressacées (*Juniperus phoenicea* et *Tetraclinis articulata*).

L'objectif de ce travail est de contribuer à l'étude de la composition chimique des HE et des extraits de ces plantes poussant en Algérie dont certaines d'entre elles n'ont pas encore fait l'objet de travaux antérieurs ainsi qu'à l'évaluation *in vitro* de leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes.

Partie I

Etude bibliographique

Chapitre I
Les substances actives:
Huiles essentielles et composés
phénoliques

Substances actives : Huiles essentielles et composés phénoliques

I Huiles essentielles

Historique

Toutes les civilisations antiques ont développé à côté de l'agriculture, la médecine par les plantes, et la plupart des grands médecins du passé ont été des phytothérapeutes.

Les HE sont des substances naturelles existant depuis l'antiquité. Les arômes et les parfums furent parmi les premiers signes de la reconnaissance qui marquèrent la vie de l'homme (**Delaigne, 1930**).

En 1879, Louis Pasteur réalisa le premier appareil industriel permettant d'extraire le parfum avec récupération du solvant. En 1877, Otto Wallach découvrit « la règle isoprénique » et Léopold Ruzicka a mis en évidence les « polyterpènes » composants importants des essences.

Les essences végétales livrent progressivement leurs secrets depuis l'avènement de la chimie organique à la fin du XIX^{ème} siècle (**Valnet, 1980**). Et ce n'est qu'au début du XX^{ème} siècle que les propriétés thérapeutiques des HE ont fait l'objet de recherches scientifiques. Le terme "huile essentielle" a été inventé par le médecin suisse Parascelsus Von Hohenheim pour désigner le composé actif d'un remède naturel.

1 Définition

Il est très difficile d'attribuer une seule définition au terme « huile essentielle », car il en existe plusieurs. Mais aucune des définitions n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision. Les HE sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passant avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau (**Naves, 1976**).

Sous le nom d'HE, on désigne les principes volatiles généralement odoriférants élaborés par l'organisme végétal. Ces composés volatils ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses et par la même ont reçu empiriquement le nom d'HE. Le terme « huile » souligne le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances et le terme

« essentielle » désigne la caractéristique principale de la plante à travers ses exhalaisons (**Bernard et al., 1988 ; Bruneton, 1993**).

L'association française de normalisation (AFNOR) définit une huile essentielle comme étant « un produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec ». L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (**AFNOR, 2000**). Cette définition est restrictive car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé.

Bruneton (1999), définit les termes les plus couramment utilisés dans ce domaine, tels que :

- **Pommade florale** : Corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs, soit par enfleurage à froid, soit par enfleurage à chaud.
- **Résinoïde** : Extrait à odeur caractéristique, obtenu à partir d'une matière première sèche d'origine naturelle, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux.
- **Absolue** : Produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un Résinoïde par extraction à l'éthanol à température ambiante. La solution éthanolique obtenue est généralement refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires.
- **Concrète** : Extrait à odeur caractéristique obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux, suivie de l'élimination de ce solvant par procédés physiques.

2 Propriétés physico-chimiques des HE

Selon **Bernard et al. (1988)** et **Bruneton (1995)** on peut résumer les propriétés physico-chimiques des HE comme suit :

- Elles sont généralement liquides à température ambiante ;
- Elles sont volatiles et très rarement colorées ;
- Elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes ;
- Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau ;
- L'indice de réfraction dépend essentiellement de la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse ;

- Elles sont solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé, dans la plupart des solvants organiques et les lipides, mais peu soluble dans l'eau ;
- Elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques ;
- Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C ;
- Les HE sont stables à température ambiante si elles sont conservées de manière adéquate : à l'abri de l'oxydation et de la polymérisation provoquée par l'air, par la lumière et par les variations de température.

3 Composition chimique des HE

Les composants des HE sont génériquement dits « aromatiques » en raison de leur caractère odoriférant et non pour indiquer leur structure chimique, ce qui peut prêter à confusion (**Pibiri, 2006**).

Le nombre de molécules chimiquement différentes qui constituent une HE est variable. La plupart sont poly-moléculaires, c'est-à-dire composées d'une grande diversité de composés (jusqu'à 500 molécules différentes dans l'HE de Rose). A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces (**Pibiri, 2006**).

Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes de molécules organiques appartenant aux classes les plus diverses. Ces molécules sont généralement des :

- **Hydrocarbures** : Au sein de ce groupe, on distingue les hydrocarbures aromatiques, monoterpéniques (C₁₀H₁₆) et sesquiterpéniques (C₁₅H₂₄) et plus rarement diterpéniques (C₂₀). Quelques fois on rencontre des hydrocarbures saturés (heptane, octane, nonane, etc.).
- **Composés oxygénés** : A l'intérieur de ce groupe on rencontre des alcools aliphatiques et cycliques, saturés et insaturés, des éthers oxydes, des phénols, des aldéhydes, des cétones, des esters, des acides, des aldéhydes-phénols, des lactones, des composés sulfurés (**Girod-Quillain et Grundschober, 1998**).

Il existe naturellement d'autres corps qui peuvent entrer en faibles proportions dans la constitution de certaines huiles essentielles : acides organiques, cétones de faible poids moléculaire, coumarines volatiles, flavonoïdes, etc. (**Bernard et al., 1988**).

4 Localisation des huiles essentielles

Parmi les espèces végétales (800 000 à 1 500 000 selon les botanistes) 10% seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent d'infimes quantités d'essence aromatique. Les genres capables d'élaborer les constituants des HE sont répartis dans un nombre de familles limité, exemple : *Myrtaceae*, *Lauraceae*, *Rutaceae*, *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Poaceae*, *Zingiberaceae*, *Piperaceae* (**Bruneton, 1999**).

D'après **Bruneton (1995)**, la synthèse et l'accumulation des HE sont souvent associées à la présence de structures histologiques particulières qui sont généralement localisées sur ou à proximité de la surface du végétal :

- Cellules isolées à HE des Lauraceae ou de Zingiberaceae ;
- Poils sécréteurs des Lamiaceae ;
- Poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae ;
- Canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae.

5 Biosynthèse des huiles essentielles

Selon **Bruneton (1999)** seuls les terpènes les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée (monoterpènes et sesquiterpènes) et leurs dérivés oxygénés sont rencontrés dans la composition des HE.

5.1 Biosynthèse des monoterpènes

Le géranyldiphosphate « GDP » est considéré comme le substrat naturel pour la synthèse des monoterpènes (**Croteau, 1987**), et suite à des étapes d'isomérisation et de cyclisation, il se transforme en LDP (diphosphate linalylique). Le LDP s'ionise et se cyclise donnant une forme qui correspond au cation α -terpinyl. De cet intermédiaire universel, la réaction peut prendre l'un des plusieurs itinéraires (figure 1). Alternativement, le cation α -terpinyl peut subir davantage de cyclisation, pour fournir l' α - ou β -pinène (**Gambliel et Croteau, 1984**). Ce cation peut aussi produire l' α -terpinéol, lequel après hétérocyclisation donne le 1,8-cineole (**Croteau et al., 1994**). Quelques synthèses de monoterpènes produisent les produits acycliques tels que le myrcène et le linalool (**Bohlmann et al., 1997**).

La Figure 1, explique et illustre essentiellement tous les types squelettiques des monoterpènes, et leurs stéréoisomères et dérivés.

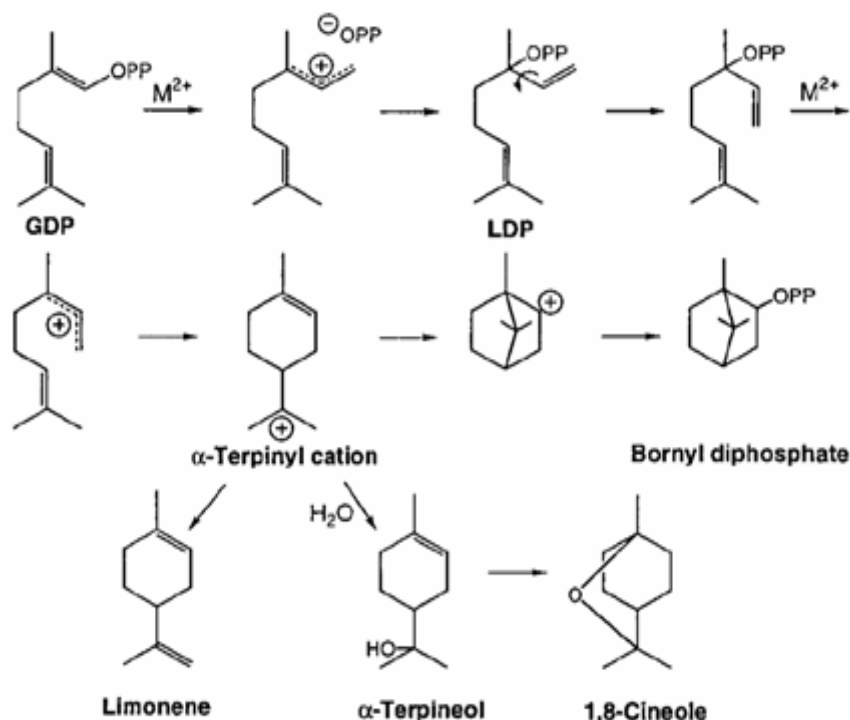


Figure 1 : Biosynthèse des monoterpènes représentatifs à partir du GDP
(Rajaonarivony et al., 1992).

5.2 Biosynthèse des sesquiterpènes

Tous les sesquiterpènes sont dérivés du farnésyldiphosphate « FDP » (Cane, 1990), et la diversité structurale de cette classe est plus grande que celle des monoterpènes, le nombre des monoterpènes avoisine les 1000 alors que les sesquiterpènes sont plus de 7000 (Connolly et Hill, 1991). De même que les monoterpènes, la formation des composés cyclohexanoïd, tels que α -bisabolène, exige l'isomérisation préliminaire du trans-farnesyl qui est analogue à LDP et représente le précurseur des sesquiterpènes, suivie d'une cyclisation ionisation-dépendante. La plus grande taille de la chaîne du farnesyl permet également après cyclisation la formation de composés tel que le germacrène C (Colby et al., 1998) et γ -humulène (Steele et al., 1998). Des migrations méthyliques, et des réarrangement de Wagner-Meerwein, permet la génération d'une large gamme de structures, y compris le δ -cadinène (Chen et al., 1995), l'epi-aristolochene (Facchini et Chappell, 1992), le γ -selinene, le vetispiradiene et le longifolène (Steele et al., 1998).

Les sesquiterpènes acycliques, tels que le β -farnésène, sont également dérivés de FDP (Crock et al., 1997). Les mécanismes de réaction des synthases plastidiales des monoterpènes

et les synthèses cytosoliques des sesquiterpènes ont des propriétés similaires (**Alonso et Croteau, 1993**).

6 Fonction biologique des HE

Dans la plupart des cas, la fonction biologique des HE demeure le plus souvent obscure. Il est toutefois vraisemblable qu'elles ont un rôle écologique aussi bien dans le domaine des interactions végétales que dans celui des interactions végétales-animales : un rôle répulsif vis-à-vis des prédateurs (insectes, champignons) et attractif pour les insectes pollinisateurs (**Bruneton, 1995**).

Certains terpènes linéaires interviennent dans le métabolisme de la plante, ils peuvent être employés comme source énergétique (**Guignard, 1996**).

7 Toxicité des HE

Certains auteurs (**Franchomme et Pénéol, 1990; Mailhebiau, 1994**) se basent sur la composition des HE et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent. Une utilisation prolongée des HE à thuyones (Thuya, Absinthe, Sauge officinale) est neurotoxique. Ces huiles, dont la liste n'est pas exhaustive, sont inscrites dans un décret du Code de la Santé Publique Française datant de 1986 visant à interdire leur vente en France. Certaines d'entre elles sont néanmoins en vente libre dans les autres pays moins restrictifs. (**Pibiri, 2006**).

En général, chez l'homme des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves (troubles digestifs, hypotension, hypothermie, confusion mentale) le plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion en quantité importante d'HE (10 à 30 ml) : Girofle (eugénol), Eucalyptus, Gaulthérie (salicylate de méthyl). Un cas de décès aux USA a été enregistré après l'ingestion de 60 ml de Gaulthérie (**Bruneton, 1999 ; Pibiri, 2006**).

8 Procédés d'extraction des HE

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants qui sont plus ou moins modifiés pendant les processus de

préparation (**Bruneton, 1995**). De ce fait, le choix du procédé d'extraction varie selon plusieurs paramètres à savoir :

- La nature de la matière première ;
- La richesse en HE (le rendement) ;
- La fragilité et la sensibilité de certains constituants aux températures élevées ;
- L'action de l'eau et sa solubilité dans les solvants organiques.

8.1 Entraînement à la vapeur

Ce procédé consiste à récupérer l'HE des plantes en faisant passer à travers ces dernières un courant de vapeur d'eau, ces vapeurs saturées en composés organiques volatils sont condensées et récupérées par décantation. Les phénomènes intervenants lors de l'entraînement à la vapeur seraient des phénomènes d'osmose et de diffusion libre (**Guenther, 1972**).

L'eau résiduelle peut encore contenir une faible proportion de certains composés volatils et peut être utilisée sous le terme d'eau florale.

8.2 Distillation à l'eau (Hydrodistillation)

Cette technique a été proposée par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pur, mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (**Bruneton, 1993**).

L'extraction qui s'effectue à température élevée, à pH acide peut engendrer des réactions secondaires au sein de l'HE à savoir : hydrolyse, élimination, cyclisation, réarrangement (**Benhabiles, 1995**). La durée de l'hydrodistillation qui par le contact prolongé de l'eau et de la plante augmente aussi les risques d'artefacts de distillation.

8.3 Distillation mixte

C'est un processus couplant l'entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation. Au cours de l'extraction, la matière végétale baignant dans l'eau bouillante est traversée par un courant de vapeur d'eau. Ce procédé a pour objet de réduire les réactions secondaires subies par l'HE sous l'action de l'eau acide.

8.4 Extraction par micro-ondes sous vide

Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement de micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle, l'HE est entraînée dans le mélange isotopique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Très rapide, peu consommateur d'énergie, ce procédé fournit un produit de qualité et de quantité supérieure à celui obtenu par l'hydrodistillation (**Bruneton, 1999**).

8.5 Extraction à l'eau surchauffée

Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée sous pression entre 125 et 175°C. Il utilise l'eau désoxygénée qui traverse une cellule où se trouve la matière végétale. Cette cellule est maintenue à une pression d'environ 20 bars et à température constante dans une étuve. Ce procédé utilisé avec du romarin donne un rendement plus élevé en composés oxygénés que l'entraînement à la vapeur (**Basile et al., 1998**).

8.6 Extraction distillations simultanées (SDE)

L'extraction par distillation simultanée ou **SDE** (**S**imultaneous **D**istillation **E**xtraction) est une extraction liquide – liquide qui est menée dans un appareil de Likens et Nikerson modifié. Son principe est le suivant : les composés volatils entraînés à la vapeur d'eau sont extraits par des vapeurs de solvant que l'on condense ensuite dans un réfrigérant puis on recycle en continu le solvant. Cet appareillage initialement conçu pour l'étude de la bière a, par la suite été étendu à un grand nombre d'arômes (**Vermin, 1982**).

8.7 Extraction au moyen de solvants

Certains organes de végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation. C'est le cas des fleurs de jasmin, d'œillet, de tubéreuse, etc. Il faut donc, pour ces végétaux, recourir à d'autres méthodes d'extraction des composés odorants volatils, telle que l'extraction par les solvants fixes (enfleurage et macération) et volatils (**Garnero, 1996**).

8.7.1 Extraction par solvants volatils

Selon **Banthorpe et Charwood (1972)**, elle consiste à la mise en contact de la matière végétale avec un solvant qui dissout et extrait les constituants odorants solubles de la plante, le solvant ainsi chargé (le miscella) est ensuite évaporé et récupéré.

Selon **Bruneton (1995)**, les solvants les plus utilisés sont : le benzène, l'hexane, les alcools (méthanol et éthanol), les cétones et les solvants chlorés.

8.7.2 Extraction par solvants fixes

Les solvants fixes utilisés sont principalement des matières grasses, l'extraction peut être réalisée à froid « procédé d'enfleurage » ou à chaud « macération ou digestion ».

- **Enfleurage**

Ce procédé met à profit le caractère liposoluble des composants odorants des végétaux (**Bruneton, 1993**). Il consiste à mettre en contact la fleur avec un corps gras qui se sature d'essence puis ce dernier sera épuisé par un solvant évaporé sous vide par la suite.

Cette méthode qui nécessite une importante main d'œuvre n'est utilisée que pour certaines fleurs très fragiles telle que : le jasmin et la tubéreuse (**Grassmann et Elstner, 2003**).

- **Macération**

Ce procédé exige que les graisses utilisées soient chaudes (40-60°C), ce qui a pour effet d'augmenter leur pouvoir adsorbant. Cette technique est rapide et s'applique aux fleurs dont l'activité physiologique cesse à la cueillette. L'extraction est réalisée par immersion des fleurs fraîchement cueillies et constamment renouvelées dans un bac de graisses chaudes jusqu'à atteindre la saturation. Un épuisement à l'alcool absolu est généralement appliqué sur cette graisse (**Blakeway et Salerno, 1987**).

8.8 Extraction au CO₂ liquide ou supercritique

L'extraction au CO₂ liquide ou supercritique est une méthode d'extraction moderne, elle est basée sur le fait que certains gaz, notamment le CO₂, dans des conditions de pression et de température dites critiques (PC=73,82 bars et TC=31,06°C) ou supercritiques, présentent un pouvoir de dissolution accru vis-à-vis de divers composés tels que les HE, les arômes, les colorants naturels, etc. (**Crabas et al., 2003**).

Cette méthode fournit un composé dont les qualités naturelles sont reproduites très fidèlement, et complètement dépourvu de résidus de solvants même à l'état de traces infimes. Elle est donc utilisée dans l'industrie alimentaire notamment pour l'extraction des produits antioxydants des condiments comme la Sauge et le Romarin (**Benhabiles, 1995**).

8.9 Expression à froid

Cette technique consiste à récupérer les composés volatils par des moyens mécaniques (abrasion, compression, incision, perforation). On obtient ainsi une HE.

Cette technologie est utilisée industriellement pour l'obtention d'HE d'agrumes. En général, on couple la récupération d'HE avec l'extraction du jus (**Richard, 1992**).

9 Analyse des huiles essentielles

L'analyse chimique des HE est généralement réalisée par la chromatographie en phase gaz (analyse quantitative) et la chromatographie en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse qui permet une séparation nette et une identification précise des composés d'une essence végétale (**Lahlou, 2004**).

9.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Depuis plus d'une trentaine d'années la CPG s'est développée irrésistiblement. Elle est devenue une méthode de choix pour la séparation d'un mélange complexe de produits volatils.

A l'aide de la CPG, les mélanges très complexes de substances volatiles peuvent être séparés, identifiés et quantifiés dans un temps relativement bref (**Richard et Multon, 1992**).

9.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (CG-SM)

Le développement important de la spectrométrie de masse dans l'identification des constituants complexes a été rendu possible grâce au couplage de la chromatographie en phase gazeuse directement avec la spectrométrie de masse. Grâce à ce couplage, il n'était plus nécessaire de recourir à l'isolement des constituants purs par chromatographie préparative, et simultanément il devenait possible d'obtenir un spectre de masse interprétable pour des quantités de substance qui allaient du microgramme au nanogramme (**Richard et Multon, 1992**).

En effet, l'utilisation de la CPG à haute résolution (colonne capillaire) couplée à la spectrométrie à basse échelle de masse, le tout allié à l'outil informatique (micro-processeur), permet le développement de méthodes d'identification fiables et rapides (**Benhabiles, 1995**).

- **Principe**

L'échantillon à analyser est introduit dans le chromatographe puis séparé et analysé. Les différents constituants gazeux arrivent dans la chambre d'ionisation du spectromètre de masse où ils sont fragmentés. Les ions issus de la fragmentation sont dirigés vers le dispositif de séparation, ils sont alors triés suivant leur rapport masse/charge, puis leur répartition est donnée sous la forme d'un spectre de masse (**Lahlou, 2004**).

L'appareillage de spectrométrie de masse comprend donc trois parties principales :

- Une chambre d'ionisation ;
- Un système analyseur pour la séparation des ions ;
- Un ensemble de détection, amplification et enregistrement.

Un appareillage de CG-SM permet donc de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse correspondant à l'identification précise de chaque constituant séparé par la CPG. C'est donc une technique de pointe permettant la connaissance d'échantillons parfois complexes en un temps très court.

10 Principaux domaines d'application des HE

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plantes aromatiques et leurs essences trouvent leurs emplois dans de multiples domaines telles que : l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie, l'aromathérapie et autres (**Richard, 1992**).

10.1 Pharmacologie

De nombreuses HE se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de produits pharmaceutiques : sirop, gouttes, gélules. Elles rentrent aussi dans la préparation d'infusion telle que : la verveine, le thym, la menthe et autres.

10.2 Aromathérapie

En stimulant le système nerveux, les arômes des HE lancent un ordre d'autorégulation. Plus précisément, l'aromathérapie prépare le corps à lutter contre la maladie en stimulant le réflexe d'auto-guérison et en modifiant la structure chimique des liquides corporels (la salive, le sang, la lymphe). Les HE ont également une influence sur les sécrétions hormonales, sur l'équilibre endocrinien et sur les réactions neurovégétatives corporelles (**Odoul, 2003**).

10.3 Industries agroalimentaires

Plusieurs segments alimentaires utilisent, à degrés divers, les HE qui leur offrent un formidable potentiel de leurs notes aromatiques dans un registre infiniment varié. On les retrouve presque dans tous les secteurs alimentaires: boissons non alcoolisées, confiseries, produits laitiers, soupes, sauces, produits de boulangerie, produits carnés...etc. (**Richard, 1992**).

Cependant, c'est seulement récemment que beaucoup d'attention a été donnée à l'application potentielle d'HE comme conservateurs et ceci est dû à la présence dans ces dernières de composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (**Smith-Palmer et al., 1998**).

La part des HE dans l'aromatization ne cesse de croître au dépend des composés aromatiques de synthèse, à côté de dérivés de transformation de fruits, les HE ont vraisemblablement encore une progression pour leur marché (**Bruneton, 1993**).

II Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent l'un des groupes les plus nombreux et largement distribués des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues. Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et la voie acétate (**Lugasi et al., 2003**).

Les composés polyphénoliques sont constitués d'un noyau aromatique comportant une ou plusieurs fonctions hydroxyles ainsi que des groupements fonctionnels (ester, méthyle ester, glycosides).

1 Classification des composés phénoliques

Selon **Harborne (1989)**, les polyphénols peuvent être divisés en au moins 10 classes différentes selon leur structure chimique de base. Peuvent s'étendre de molécules simples, tels que les acides phénoliques, aux composés fortement polymérisés, tels que des tannins (**Lugasi et al., 2003**).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al., 2005**).

La Figure 2, montre la structure de quelques composés phénoliques.

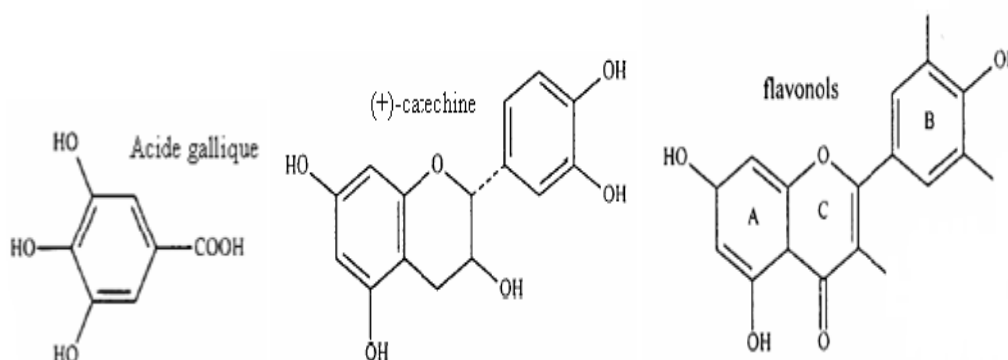


Figure 2 : Structure de quelques composés phénoliques (**Wang et Mazza, 2002**).

1.1 Les acides phénoliques

Ces acides sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (**Pspotová et al., 2003**). Comme exemple d'acide phénolique, on cite : l'acide chlorogénique,

l'acide caféique, l'acide protocatechique, l'acide vanillique, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide gallique.

Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible et considéré non toxique. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique (**Psotová et al., 2003**). Cet acide ainsi que l'acide férulique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris alors que l'acide gallique inhibe la formation du cancer œsophagien chez les rats (**Hale, 2003**).

1.2 Les tannins

Les tannins sont des polyphénols polaires d'origines végétales, existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines, leurs poids moléculaires s'étendent de 500 à 3 000 (**Cowan, 1999**). Il est difficile de les séparer dans un extrait végétal, parce que de nombreux isomères avec une base moléculaire très semblable coexistent (**Berthod et al., 1999**). En plus, des propriétés classiques des phénols, les tannins précipitent les alcaloïdes, la gélatine et les protéines.

1.3 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles (**Pietta, 2000 ; Ghedira, 2005**).

1.3.1 Structure et classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques; deux cycles en C₆ (A et B), reliés par un hétérocycle en C₃ (Figure 3) (**Bruneton, 1999; Pietta, 2000**).

Structuralement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (**Pietta, 2000**), 14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés ; flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols, anthocyanidines (**Heim et al., 2002 ; Hendrich, 2006**).

Les composés de chaque classe se distinguent entre eux par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres. . .) sur les deux cycles aromatiques A et B (**Heim et al., 2002**). Dans les flavonoïdes au sens strict, le deuxième cycle benzène (B) se lie à l'hétérocycle (C) en position 2. Lorsque la liaison s'effectue en position 3, les composés résultants sont appelés isoflavonoïdes. En plus, l'hétérocycle (C) peut être une pyrone (flavone) ou son dihydrodérivé (flavanone). La fixation d'un groupement hydroxyle (OH) sur le carbone 3 dans les deux cas précédents constitue respectivement les flavonols et les flavanonols (**Birt et al., 2001**). À l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylés. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone ou génine, l'unité glycosidique la plus commune est le glucose mais par fois elle peut être glucorhamnose, galactose, arabinose ou rhamnose (**Heim et al., 2002**).

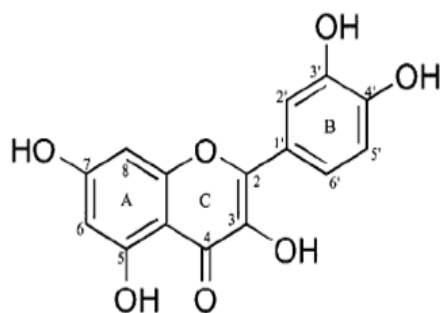


Figure 3 : Structure générale du noyau des flavonoïdes (Heim et al., 2002)

1.3.2 Biosynthèse des flavonoïdes

Elle se fait à partir d'un précurseur commun, la tétrahydroxychalcone (figure 4). Cette chalcone métabolisée sous l'action d'enzyme ; la chalcone isomérase, en naringénine. Sur cette dernière agit la flavone synthase pour donner : apigénine ou le dihydroflavonol.

Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase, se métabolise en kaempférol ou en leucoanthocyanidol. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols et anthocyanidols, ce dernier sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (**Marfak, 2003**).

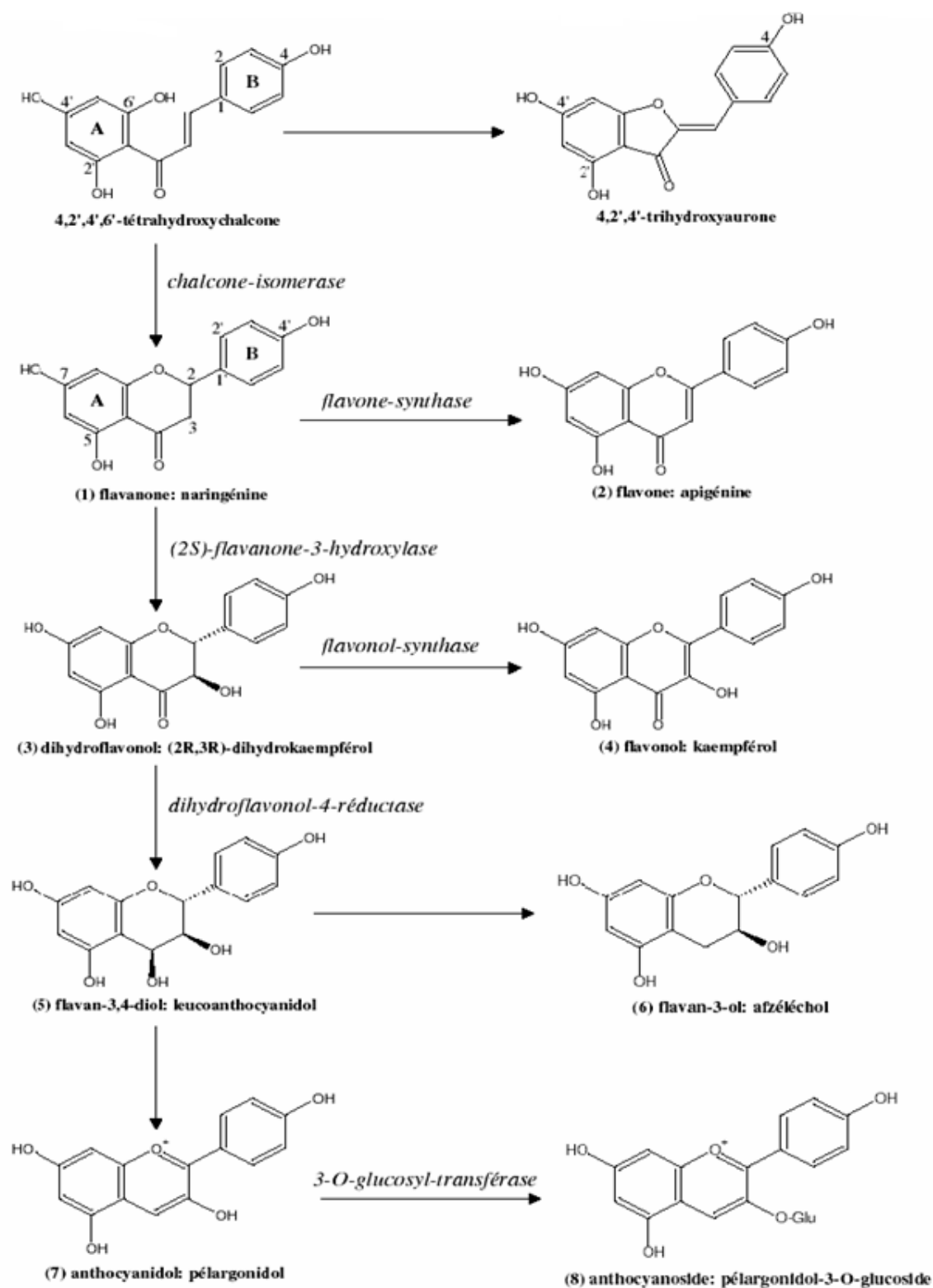


Figure 4 : Biosynthèse des flavonoides (Bruneton, 1999).

2 Rôle physiologique des composés phénoliques

Les flavonoïdes et d'autres polyphénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur des polyphénols (**Lugasi et al., 2003**).

Des anciens travaux (**Alibert et al., 1977**) ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, organogénèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation.

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV (**Hadi, 2004**).

Les pigments responsables de la coloration des fleurs représentent des signaux visuels qui attirent des animaux pollinisateurs. La plupart de ces pigments sont des anthocyanes, des aurones et des chalcones. D'autres polyphénols incolores tels que des flavonols et flavanones interagissent avec des anthocyanes pour altérer, par co-pigmentation, la couleur des fleurs et fruits (**Brouillard et al., 1997**).

Les cellules végétales répondent au stimuli environnemental en synthétisant les métabolites secondaires qui peuvent les protéger contre les agents de l'agression par la formation d'un tissu cicatriciel résistant aux infections (**Misirli et al., 2001**).

L'attaque de microbe pathogène telle que le virus, les bactéries ou les mycètes induit une cascade de réactions qui peuvent mener à la résistance étant exprimée à l'emplacement de l'infection ou dans d'autres parties non infectées de la plante. Cette résistance systémique implique l'existence d'un signal endogène transféré de l'emplacement d'infection à d'autres parties de la plante. On pense que la première étape du mécanisme de la défense comporte une accumulation rapide des phénols à l'emplacement d'infection, qui fonctionnent pour ralentir la croissance du microbe pathogène (**Misirli et al., 2001**).

La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Rees et Harborne, 1985**). Les mécanismes de l'action et de l'interaction, et les produits chimiques qu'ils contiennent demeurent dans la plupart indéterminés. Des chercheurs deviennent graduellement intéressés dans l'identification des principes actifs dans les extraits avec l'étude complémentaire intensive de leurs mécanismes d'action (**Sun et al., 2002**).

Les principales activités biologiques des composés phénoliques sont resumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1 : Activités biologiques des composés phénoliques.

| Polyphénols | Principales activités |
|--|--|
| Acides phénols (cinnamique et benzoïque) | Antibactériens, antifongiques et antioxydants. |
| Coumarines | Vasoprotectrices et antiœdémateuses. |
| Flavonoïdes | Antitumorales, anticarcinogènes, anti-inflammatoires, hypotenseurs, diurétiques et antioxydants. |
| Anthocyanes | Protection des veines et capillaires. |
| Proanthocyanidines | Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants, antitumorales, antifongiques et anti-inflammatoires. |
| Tanins galliques et catéchiques | Antioxydants. |

Chapitre II
Monographie des espèces étudiées

Monographie espèces étudiées

Les labiées

La famille des Labiées est constituée de plantes herbacées ou petits arbrisseaux à tige et rameaux plus ou moins carrés. Les feuilles sont opposées ou verticillées à poils glanduleux. Les fleurs sont hermaphrodites, irrégulières à 4 ou 5 divisions. La corolle est généralement bilabée et longuement tubuleuse. Les fruits sont constitués par 4 akènes plus ou moins soudés par leur face interne et diversement ornés (**Spichiger et al., 2004**).

C'est à bon droit que l'on a dit que la famille des labiées constitue une véritable « pharmacie botanique », car celle-ci englobe un nombre considérable de plantes médicinales tels que le basilic, la sarriette, la marjolaine et le thym (**Anietot, 1988**).

1 Le thym

1.1 Historique

L'origine du mot latin « Thymus » n'est pas tout à fait tranchée. Certains auteurs supposent qu'il provient du Grec thyo (parfumer). Une autre interprétation étymologique considère qu'il provient du mot grec « thymos » (courage, force) (**Morales, 2002**). Cette dernière supposition est la plus rapportée dans la littérature.

Plante sacrée dans l'antiquité, le thym était un symbole de force chez les romains ; il était brûlé au cours des sacrifices et utilisé comme encens dans les temples grecs, on s'en servait aussi pour aromatiser les fromages et les boissons alcooliques et les militaires en mettaient dans leur bain pour se donner de la vigueur.

Théophraste et Dioscoride, en Grèce, le disaient propre à calmer les convulsions, à réduire les inflammations de l'intestin et du foie, à provoquer les règles lorsqu'elles sont défectueuses, et à calmer les spasmes de toute nature. Charlemagne, quant à lui, en avait ordonné la culture dans ses capitulaires (**Mességué, 1975**).

1.2 Caractéristiques botaniques

1.2.1 Description morphologique

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

1.2.2 Classification

Le genre *thymus* est l'un des huit plus importants genres de la famille des lamiaceae (Labiatae), compte tenu du nombre d'espèces qu'il comprend, bien que ce nombre varie selon le point de vue taxonomique.

L'extrême variabilité et les hybridations interspécifiques, ont rendu la détermination des espèces très délicate (Quezel et Santa, 1963). Si l'on choisit les critères qui minimisent la variabilité, les données disponibles rapportent 215 espèces pour le genre *Thymus*. C'est un nombre qui n'est dépassé que par les genres *Salvia*, *Hyptis*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Teucrium*, *Nepeta*, *Plectranthus* (Morales, 2002).

Le thym appartient au :

| | |
|---------------------------|------------------------------|
| Règne | Plantae (végétal) |
| Embranchement | Spermaphytes (phanérogames) |
| Sous embranchement | Angiospermes |
| Classe | Dicotylédones |
| Sous classe | Métachlamydées (gamopétales) |
| Ordre | Tubiflorales |
| Sous ordre | Verbénacées |
| Famille | Lamiaceae (Labiæ) |
| Sous-famille | Stachyoideae |
| Genre | <i>Thymus</i> |

1.3 Localisation et répartition géographique

- **Dans le monde**

Le thym est distribué dans le vieux continent, sur les côtes du Groenland et dans la région macaronisienne (les canaries, Madère et les Açores).

C'est une plante très répandue dans le nord ouest africain (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye) ainsi que dans les montagnes d'Ethiopie, les montagnes d'Arabie du sud ouest et la péninsule de Sinaï. Passant par les régions arides de l'Asie occidentale jusqu'à l'Himalaya, il peut même atteindre les limites de la région tropicale et du Japon. Dans le nord, il pousse en Sibérie et en Europe nordique (Jalas, 1971).

- **En Algérie**

Pour l'Algérie, Quezel et Santa (1963) décrivent 12 espèces de thym dont huit sont endémiques à l'Algérie et à l'Afrique du Nord.

Tableau 2 : Localisation géographique des espèces de thym en Algérie

| Espèces | Localisation et caractéristique |
|---|--|
| <i>Thymus pallescens</i> de Noé | Commun dans le Tell et endémique à l'Algérie. |
| <i>Thymus capitatus</i> L. | Très rare dans le sous secteur de l'Atlas tellien. |
| <i>Thymus dreatensis</i> Batt. | Très rare dans le sous secteur du Tell constantinois et de la petite Kabylie. |
| <i>Thymus numidicus</i> Poiret | Assez rare dans le sous secteur de l'Atlas tellien, dans le secteur du Tell constantinois et dans la petite et grande Kabylie. |
| <i>Thymus guyonii</i> de Noé | Rare dans les hauts plateaux algérois, oranais et constantinois. |
| <i>Thymus lanceolatus</i> Desf. | Rare dans le sous secteur de l'Atlas tellien (Terni) et de l'Atlas saharien (Médéa), dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois (Aumale). |
| <i>Thymus pallidus</i> Coss. | Très rare dans le sous secteur de l'Atlas saharien constantinois. |
| <i>Thymus glandulosus</i> Lag. | Très rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois et oranais. |
| <i>Thymus hirtus</i> Willd. | Commun sauf sur le littoral. |
| <i>Thymus algériensis</i> Boiss. et Reuter | Très commun dans toutes les régions montagneuses et rare ailleurs. |
| <i>Thymus munbyanus</i> Desf. | Endémique dans le Nord du secteur algérois. |

(Source : Quezel et Santa, 1963)

1.4 Composition chimique des HE du thym

La variabilité chimique des HE du thym dépend de plusieurs facteurs, qui généralement sont d'ordre climatiques et environnementales (Ložienė et al., 2007). Mais peuvent être aussi d'ordre génétique et saisonnier (stade végétatif).

Tableau 3 : Composé dominant des HE de différentes espèces de thym

| Espèces | Composé dominant | Références |
|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| <i>Thymus numidicus</i> | Thymol (62,2%) | Kabouche ⁽¹⁾ et al., 2005 |
| <i>Thymus daenensis daenensis</i> | Thymol (74,7 %) | Nickavar et al., 2005 |
| <i>Thymus kotschyanus</i> | Thymol (38,6%) | Nickavar et al., 2005 |
| <i>Thymus mastichina</i> | 1,8 Cineole (47,13 %) | Oussalah et al., 2006 |
| <i>Thymus citriodorus</i> | Géraniol (36,4 %) | Sacchetti et al., 2005 |
| <i>Thymus serpyllum</i> | Cavacrol (32,90 %) | Oussalah et al., 2006 |
| <i>Thymus vulgaris linaloliferum</i> | Linalool (59,72 %) | Oussalah et al., 2006 |

2 La germandrée

2.1 Historique

Le nom *Teucrium* est dédié à Teucer de Troie, qui découvrit dit-on les propriétés de la germandrée (Beloued, 2005). C'est une plante dont l'usage remonte à près de deux mille ans. "Djaïda" chez les Arabes ou plus communément Herbe de Marie, elle est connue pour ses propriétés cicatrisantes, diurétiques, diaphorétiques, antipyrétiques, antispasmodiques et anti-inflammatoires.

2.2 Caractéristiques botaniques

2.2.1 Description

La germandrée polium est un sous arbrisseau à pousses nombreuses pouvant atteindre 45 cm de haut. Les rameaux peuvent être dressés ou ascendants avec un tomenteux blanc ou doré. Les feuilles dont la taille varie de 7 à 27 mm sont presque sans pétiole, opposées ou groupées en bouquet. Les fleurs sont en grappes denses au sommet des rameaux, les feuilles sont oblongues, entières et crénelées. La corolle peut être blanche, jaune à rose ou pourpre, le fruit quant à lui est indéhiscent (Bärtels A., 1998).

2.2.2 Classification

Ci-dessous la classification botanique de la germandrée :

| | |
|---------------------------|------------------------------|
| Règne | Plantae (végétal) |
| Embranchement | Spermaphytes (phanérogames) |
| Sous embranchement | Angiospermes |
| Classe | Dicotylédones |
| Sous classe | Métachlamydées (gamopétales) |
| Ordre | Tubiflorales |
| Sous ordre | Verbéninées |
| Famille | Lamiaceae (Labiæ) |
| Genre | <i>Teucrium</i> |

2.3 Répartition géographique

- **Dans le monde**

Il existe plus de 300 espèces de germandrée réparties à travers le monde. L'espèce s'étend de l'Asie occidentale en passant par l'Europe et le Maghreb et jusqu'au nord de l'Amérique. Elle est très répondeue en méditerranée (Algérie, Tunisie, Espagne, France, Italie), mais on la trouve également en Iran et en Turquie à l'est, en Scandinavie au nord et même au Canada à l'ouest.

- **En Algérie**

Le genre *Teucrium* est présent en Algérie avec 22 espèces et 12 sous espèces (**Quezel et Santa, 1963**).

Tableau 4 : Localisation géographique de quelques espèces de germandrée.

| Espèces | Localisation et caractéristique |
|-------------------------------------|--|
| <i>Teucrium campanulatum</i> L. | Rare dans les sous secteurs des Hauts Plateaux et dans le secteur de l'Atlas Saharien. Très rare ailleurs. |
| <i>Teucrium spinosum</i> L. | Très rare dans le secteur du Tell constantinois. |
| <i>Teucrium resupinatum</i> Desf. | Commun dans le Tell et très rare ailleurs. |
| <i>Teucrium mauritanicum</i> de Noé | Très rare dans le sous secteur des Sahels littoraux. |

| | |
|--|--|
| <i>Teucrium chamaedrys</i> L. | Assez commun dans le Tell et dans le sous secteur de l'Atlas Saharien constantinois. |
| <i>Teucrium kabylicum</i> Batt. | Très rare dans le secteur Kabyle. |
| <i>Teucrium fruticans</i> L. | Rare dans le secteur oranais et sous secteur des Hauts Plateaux algérois et oranais. |
| <i>Teucrium montanum</i> L. | Très rare dans le sous secteur des Sahels littoraux. |
| <i>Teucrium bracteatum</i> Desf. | Assez commun dans le secteur oranais. |
| <i>Teucrium flavum</i> L. | Commun dans toute l'Algérie. |
| <i>Teucrium polium</i> ssp <i>aurasiacum</i> Maire | Assez commun dans le sous secteur de l'Atlas Saharien constantinois. |
| <i>Teucrium polium</i> ssp <i>capitatum</i> L. | Très commun dans toute l'Algérie. |
| <i>Teucrium polium</i> ssp <i>cylindricum</i> L. | Rare dans les sous secteurs de l'Atlas Saharien oranais et constantinois. |

(Source : **Quezel et santa, 1963**)

2.4 Composition chimique des HE de germandrée

Les études menées sur la composition des HE de différentes espèces de germandrée ont montré que, celles-ci étaient majoritairement constituées par de l' α -Pinene et du β -Pinene, du β -Caryophyllene et du Germacrene D ou par du t-Cadinol et ou de l' α -Cadinol (**Kabouche et al., 2006**), comme on peut trouver des HE à Linalol ou β -Eudesmol tel que nous le montre le tableau 5.

Tableau 5 : Composé dominant des HE de différentes espèces germandrée.

| Espèces | Composé dominant | Références |
|--|---------------------------------|--|
| <i>Teucrium atratum</i> | t-Cadinol (45,3%) | Kabouche⁽²⁾ et al., 2005 |
| <i>Teucrium polium</i> ssp <i>aurasiacum</i> | α -Cadinol (46,8%) | Kabouche⁽²⁾ et al., 2005 |
| <i>Teucrium polium</i> ssp <i>cylindricum</i> | β -Eudesmol (non précisé) | Cozzani et al., 2005 |
| <i>Teucrium scorodonia</i> ssp <i>scorodonia</i> | Germacrene B (26,2%) | Maccioni et al., 2007 |
| <i>Teucrium flavum</i> | β -Caryophyllene (30,6%) | Baher et Milza, 2003 |
| <i>Teucrium mascatenses</i> | Linalol (27,8%) | Hisham et al., 2006 |

3 Le Calament

3.1 Historique

On appelle « calament » un certain nombre d'espèces de plantes vivaces de la famille des *Lamiaceae* originaires d'Europe et d'Asie occidentale (plus précisément d'Iran et d'Europe centrale). Ce sont des plantes des bois et rocailles incultes, proches de la menthe, dont on utilise les tiges, feuilles et les fleurs.

Le calament des montagnes pouvait être un des multiples constituants de la thériaque de la pharmacopée maritime occidentale au XVIII^e siècle.

3.2 Caractéristiques botaniques

3.2.1 Description

Les calaments sont des plantes vivaces aromatiques à inflorescences en cymes lâches et pédonculées. Feuilles ovales entières ou faiblement dentées à odeur de citron ou de menthe. Corolles roses ou violacées, bien plus longues que le calice. Les étamines par paires, un peu conniventes, le fruit quant à lui est ovoïde et lisse (**Quezel et santa, 1963**).

3.2.2 Classification

Les calaments appartiennent aux sous genres : *Acinos*, *Micromeria*, *Clinopodium* et *Calamintha*, qui sont regroupés au sein du même genre *Satureja*.

Ci-dessous la classification botanique du calament :

| | |
|---------------------------|------------------------------|
| Règne | Plantae (végétal) |
| Embranchement | Spermaphytes (phanérogames) |
| Sous embranchement | Angiospermes |
| Classe | Dicotylédones |
| Sous classe | Métachlamydées (gamopétales) |
| Ordre | Tubiflorales |
| Sous ordre | Verbéninées |
| Famille | Lamiaceae (Labiæ) |
| Genre | <i>Satureja</i> |

3.3 Répartition géographique

- **Dans le monde**

Il existe environ 50 espèces du sous genre *calamintha* repartis dans les régions tempérées de l'hémisphère nord, elles sont repandues en Iran et en Europe centrale.

- **En Algérie**

Le genre *Satureja* est présent en Algérie avec quatre sous genres ; parmi ces derniers le sous genre *Calamintha* regroupe cinq espèces et trois sous espèces (**Quezel et santa, 1963**).

Tableau 6 : Localisation géographique de quelques espèces appartenant au genre *Satureja*.

| Espèces | Localisation et caractéristique |
|---|--|
| <i>Satureja baborensis</i> Batt (<i>Calamintha grandiflora</i>) | Dans les Forêts humides des montagnes. Rare dans le massif des babor |
| <i>Satureja candidissima</i> Briq. | Rocailles calcaires. Commune dans le secteur oranais et ses environs. |
| <i>Satureja pomelii</i> Briq. | Commune dans les forêts. Rare dans le massif des babor. |
| <i>Satureja hispidula</i> Maire. | Forêts de chene-liege. Très rare à l'est de Collo. |
| <i>Satureja calamintha</i> ssp. <i>nepeta</i> L.(<i>Calamintha nepeta</i>) | Assez rare dans le Tell surtout en montagne. |
| <i>Satureja calamintha</i> ssp. <i>adscendens</i> Jord. | Très commune dans tout le Tell. |
| <i>Satureja calamintha</i> ssp. <i>Silvatica</i> Briq. | Rare dans le massif des babor Hauts Plateaux. Rare à l'est de Collo. |

(Source : **Quezel et santa, 1963**)

3.4 Composition chimique des HE de calament

Les études menées sur la composition des HE de deux espèces de calament à savoir : *Calamintha sylvatica* et *Calamintha vardarensis* montre que le composé majoritaire de ces deux huiles est le cis-piperitone oxide avec 65.6% et 48.9% à 59.2% pour *C. vardarensis* et *C. sylvatica* respectivement. Le rendement en HE pour ces espèces est de 1.54% pour *C.vardarensis* et de 0.11% à 0.94 % pour *C. sylvatica* (**Mimica-Dukic et al., 2004**).

Les cupressacées

Les espèces de la famille des cupressacées sont caractérisées par des feuilles squamiformes (en forme d'écailles) ou en alènes. Les cônes males ou femelle sont de petites tailles. Chez certains genres les écailles deviennent concrescentes et complètement enveloppantes. Il se forme ainsi un galbule (sorte de fruit en forme de baie). Dans cette famille on retrouve les genres : *Callitris*, *Cupresseus* et *Juniperus*.

1 Le Genévrier

1.1 Historique

Le terme latin *juniperus*, est étymologiquement peu clair. Une hypothèse le ferait venir du celtique *gen* « buisson », et *prus* « âcre ». Selon une autre hypothèse le nom se composerait des mots latins '*junior*' « plus jeune » et '*parere*' « apparaître » en référence au fait que deux générations de baies existent en même temps (les plus jeunes apparaissent avant que les baies mûres tombent).

Le genévrier est une plante protectrice qui selon la tradition chrétienne, il cacha la Vierge et l'enfant Jésus des soldats de l'Hérode. Avec ses branches piquantes il repousse les troupeaux au pâturage l'odeur de ses baies détourne les chiens sauvages et protège les petits animaux de la forêt tels que les lièvres et les oiseaux (Teuscher, 2005). Certaines espèces de genévrier peuvent vivre plus de 1000 ans (Adams, 1999).

1.2 Caractéristiques botaniques

1.2.1 Classification

Le genre *Juniperus* comprend environ 60 espèces, qui poussent dans l'hémisphère Nord. On peut citer : *Juniperus chinensis*, *Juniperus communis*, *Juniperus thurifera*, *Juniperus phoenicea*, *Juniperus oxycedrus*, *Juniperus sabina*, *Juniperus virginiana* et *Juniperus drupacea*.

Ci-dessous la classification botanique du calament :

| | |
|---------------------------|------------------|
| Règne | Plantae |
| Embranchement | Spermatophytes |
| Sous embranchement | Gymnospermes |
| Classe | Pinopsida |
| Ordre | Pinales |
| Famille | Cupressaceae |
| Genre | <i>Juniperus</i> |

1.2.2 Description

Les genévriers (*Juniperus sp.*) sont des arbres ou arbustes aromatiques à feuilles opposées ou verticillées en aiguille ou en écaille. Les cônes mâles petits, terminaux ou axillaires. Les cônes femelles formés d'un petit nombre d'écailles charnues plus au moins conrescentes à maturité et donnant naissance à une sorte de baie charnue. La baie de genévrier est traditionnellement utilisée pour favoriser la digestion grâce à ses propriétés tonique et apéritive.

1.3 Répartition géographique

- **Dans le monde**

C'est une espèce méditerranéenne que l'on trouve en France (littoral méditerranéen et Alpes), dans les trois pays de l'Afrique du Nord, en Cyrénaïque. En Afrique du Nord il couvre 450.000 hectares.

- **En Algérie**

Le genévrier couvre environ 290.000 hectares en Algérie. Il recule de plus en plus dans l'Atlas Saharien et sur le versant du sud du Grand-Atlas sous l'action du climat désertique ; mais surtout sous celle de l'homme et des troupeaux (**Boudy, 1952**).

1.4 Composition chimique des HE de genévrier

Les études menées sur la composition des HE de différentes espèces de genévrier ont montré que, celles-ci étaient majoritairement constituées de : l' α -Pinène, δ -3-carène, sabinene, α -phellandréne, limonène, linalol, piperitine et linalyl acétate (**Asili et al., 2008 ; Adams et al., 2003 ; Barrero et al., 2006 et Dob et al., 2008**).

Dans les extraits de feuilles de genévrier on trouve généralement des hydroxycoumrines : ombelliférone, des flavonoïdes : rutine, quercitrin, isoquercitrin et des proanthocyanidines : catéchine, épicatechine, gallocatéchin.

2 Le Thuya de Berbérie

2.1 Historique

Le thuya de Berbérie ou *Tetraclinis articulata* appelé « Berbouch » en berbère, a été décrit par VAHL en 1791 sous le nom de *Thuya articulata* ; il a été par la suite reporté par BENTH en 1883 au genre *Callitris* représenté par l'espèce : *Callitris quadrivalvis* ou au genre *Tetraclinis* (*Tetraclinis articulata*) (Maire, 1952).

Le bois de ce Thuya est surtout utilisé dans le secteur artisanal en menuiserie et en ébénisterie ou comme bois de chauffage. En phytothérapie, différentes parties de la plante sont utilisées contre les fièvres infantiles, les douleurs gastriques, les fortes diarrhées, le diabète, l'hypertension, etc. (Touayli, 2002 ; Ziyat et al., 1997).

2.2 Caractéristiques botaniques

2.2.1 Description

Selon Lapie et Maige (1914), le thuya de Berbérie est un arbre ou arbuste caractérisé par une cime claire et pyramidale. L'enracinement forme un réseau de racines très serrées fixant ainsi l'arbre dans les sols rocheux et déclinés. Les feuilles sont persistantes et réduites en écailles squamiformes, opposées elles sont imbriquées par deux donnant des rameaux aplatis, vert et articulés d'où le nom de *Tetraclinis articulata* ou Thuya articulé.

2.2.2 Classification

Le thuya de Berbérie appartient à la famille des cupressaceae et au genre *tetraclinis* qui ne comprend qu'une seule espèce *Tetraclinis articulata*.

Ci-dessous la classification botanique de thuya de Berbérie :

| | |
|---------------------------|--|
| Règne | Plantae |
| Embranchement | Spermatophytes |
| Sous embranchement | Gymnospermes |
| Classe | Pinopsida |
| Ordre | Pinales |
| Famille | Cupressaceae |
| Sous famille | Callitroidées |
| Genre | <i>Tetraclinis</i> , <i>Callitris</i> |
| Espèce | <i>Tetraclinis articulata</i> ou <i>Callitris quadrivalvis</i> |

2.3 Répartition géographique

- **Dans le monde**

C'est une espèce endémique d'Afrique du nord occidentale (Maroc, Algérie et Tunisie). En dehors de cette zone, on rencontre quelques petites localités au sud-est de l'Espagne (province de Carthagène) et à l'île de Malte (**Achhal, 1986**).

- **En Algérie**

Le thuya est surtout abondant dans la partie occidentale (Tell Oranais et Ouarsenis). Toute fois, il existe par pied isolés ou par petits bouquets jusqu'à l'entrée de la Kabylie (Dellys et Lakhdaria), dans la vallée de l'oued Sahel jusqu'au vers M'chdelillah ainsi que dans les gorges de Kherrata. Il manque dans le Tell constantinois et dans la partie centrale et orientale du tell Algérois (**Quezel et santa, 1963**).

2.4 Composition chimique des HE de thuya de Berbérie

Les études menées sur la composition des HE de thuya de Berbérie ont montré que, celles-ci étaient majoritairement constituées par de l'acetate de bornyl, α -Pinene, camphre, limonene et widdrol pour *T.articulata* de la région de Khemisset au Maroc (**Bourkhiss⁽¹⁾ et al., 2007**) et essentiellemnt de naphtalen, Z-muurolene, camphene, Z- β -ocimene et nonanol pour *T.articulata* de Tunisie (**Tékaya-Karoui et al., 2007**).

Chapitre III

Oxydation et activité antioxydante

Oxydation et activité antioxydante

Introduction

Les lipides forment une classe de constituants biologiques nutritionnellement importants pour la part calorique et l'apport indispensable d'acides gras essentiels et de vitamines liposolubles qu'ils présentent dans la ration alimentaire.

Lorsqu'ils sont extraits de leur contexte de protection naturelle, tous les corps gras (ou lipides ou matières grasses) subissent au cours de leurs conservations ou transformation des altérations de type oxydatif.

L'auto-oxydation d'un corps gras est un phénomène purement chimique très complexe mettant en jeu des réactions radicalaires capables de s'auto-entretenir et qui ne nécessitent que la présence de l'oxygène atmosphérique. Les premiers produits instables sont des hydroperoxydes dont la structure va dépendre de la nature des acides gras attaqués. Les radicaux qui en dérivent par scission, conduisent à de multiples produits secondaires dont la nature et les proportions dépendent de plusieurs paramètres. Parmi ces produits, apparaissent des molécules volatiles (aldéhydes, hydrocarbures, cétones,...) qui engendrent des pertes considérables au niveau des qualités organoleptiques et nutritionnelles de la matrice qui les contient, avec l'apparition d'une saveur caractéristique «rance» modifiant ainsi la qualité marchande du produit et conditionne directement sa durée de vie (**Crapiste et al., 1999 ; Kazuhisa, 2001 ; Judde, 2004**).

Pour limiter ces dégâts, la présence de produits à effets ralentisseurs (chélateurs de métaux, absorbeurs d'oxygène ...) de molécules dites antioxydantes serait indispensable.

1 Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides

D'après **Eymard (2003)**, l'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs :

- L'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres;
- La photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs;
- L'oxydation enzymatique initiée par la lipoxygénase.

1.1 Auto-oxydation

L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes (figure 5). Une première réaction produit un radical libre par élimination d'un hydrogène de l'acide gras (*initiation*). Puis les réactions s'enchaînent pour produire plusieurs radicaux libres (*propagation*) qui se combinent pour former des composés non radicalaires (*terminaison*).

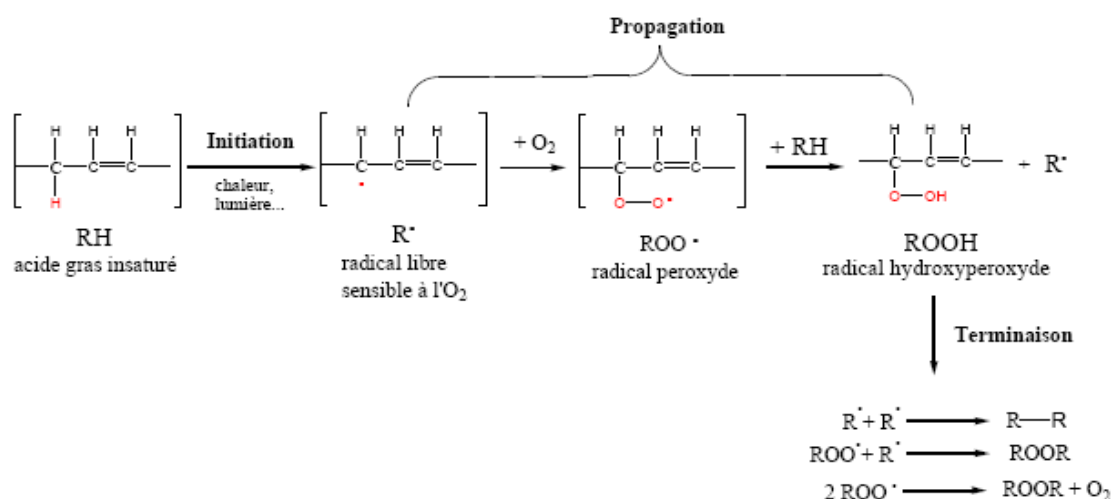


Figure 5 : Oxydation d'un acide gras insaturé (Moll et Moll, 1998).

1.1.1 Phase d'initiation

En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre (R•) (radical lipoylé).

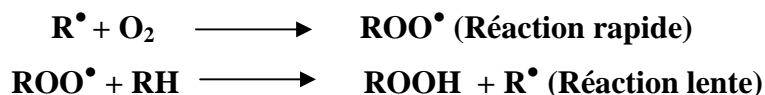


Ce mode d'initiation, favorisé par une élévation de température, peut être produit par des radiations ionisantes, des générateurs chimiques, des systèmes enzymatiques ou chimiques produisant des espèces activées de l'oxygène, ou de traces métalliques.

A ce stade, dit de peroxydation, la flaveur de rance peut ne pas être perceptible, la qualité marchande du produit non encore altérée.

1.1.2 Phase de propagation

Le radical libre formé fixe un atome d'oxygène en donnant un radical peroxyde instable (Réaction rapide) qui, par action d'une seconde molécule d'acide gras, conduit d'une part à un hydroperoxyde, d'autre part à un second radical libre (Réaction lente). Ce dernier réagit avec une autre molécule d'acide gras (propagation) et l'on aboutit à une suite de réactions radicalaires.



Les peroxydes sont peu stables et vont donner naissance, par coupure, à des produits secondaires volatiles (hydrocarbures, aldéhydes, cétones, acides, alcools, esters) et non volatils (éthers oxydes, époxydes, oxy-monomères/-dimères) qui sont responsables de la détérioration organoleptique comme le montre la figure 6.

Les hydroperoxydes peuvent également se décomposer par scission homolytique de la liaison O-O pour former un radical alcoyl et un radical hydroxyle. Le radical alcoyl réagit avec d'autres substrats et propage la réaction en chaîne. Il peut également subir une scission carbone-carbone de part et d'autre du radical pour former un radical alkyl et un radical vinyl. Le radical alkyl peut réagir avec un hydrogène, un radical hydroxyle ou une molécule d'oxygène générant ainsi des hydrocarbures, des alcools et d'autres hydroperoxydes. Le radical vinyl peut réagir avec un radical hydroxyle, un radical hydrogène ou l'oxygène moléculaire pour générer des aldéhydes et des hydrocarbures.

1.1.3 Phase de terminaison

Cette phase consiste à former des composés stables issus de la rencontre entre deux espèces radicalaires ou le plus souvent par la réaction d'un radical avec une molécule antioxydante dite '**briseur de chaîne**' (Kohen et Nyska., 2002).



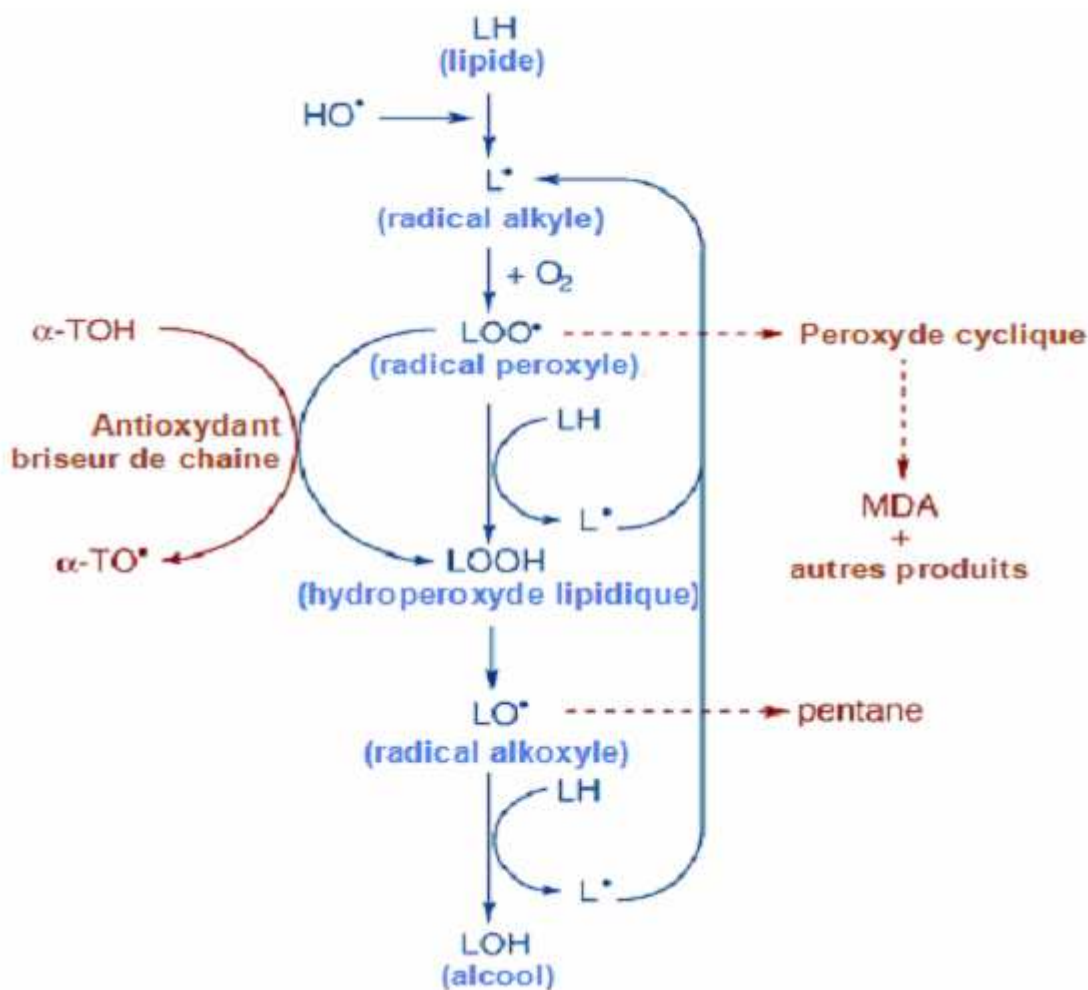
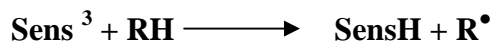


Figure 6 : Suite des réactions en chaîne conduisant à la peroxydation lipidique (Sachdev et Davies, 2008).

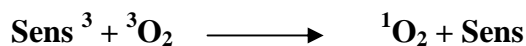
1.2 Photo-oxydation

La photo-oxydation est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine (Hultin, 1992). Les photosensibilisateurs (Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité (Sens_3) (Hultin, 1994). Les photosensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes (Frankel, 1998).

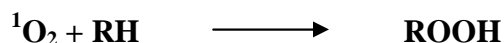
Les photosensibilisateurs de type I, telle que la riboflavine, agissent comme les radicaux libres initiateurs. Dans leur état triplet, elles arrachent un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène.



Selon le second mécanisme, les molécules photosensibles de type II, telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent dans leur état excité (Sens³) avec l'oxygène triplet auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulet (¹O₂).



L'oxygène singulet ainsi formé est très électrophile et peut réagir directement sur un acide gras insaturé (RH) formant ainsi un hydroperoxyde ROOH.



Par la suite interviennent les réactions radicalaires en chaîne de l'auto oxydation. Les hydroperoxydes ainsi formés sont différents de ceux formés par autooxydation (**Frankel, 1998**).

1.3 Voie enzymatique

Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés peut être d'origine enzymatique. Les deux enzymes principalement impliquées sont la lipoxygénase et la cyclooxygénase (**Hultin, 1994**). La lipoxygénase catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé selon une réaction stéréospécifique et aboutit à la formation d'hydroperoxydes.

Elle agit spécifiquement sur les acides gras non estérifiés. Son activité est donc souvent couplée avec celle des lipases et phospholipases (Figure 7). La cyclooxygénase est une lipoxygénase qui incorpore deux molécules d'oxygène au niveau d'un acide gras pour former des hydroperoxydes spécifiques (**Eymard, 2003**).

L'oxydation enzymatique se produit même à basse température. Durant le stockage à l'état congelé, l'activité enzymatique est très faible. Cependant, une fois la décongélation amorcée et des températures de 0°C à 4°C atteintes, il semblerait que cette activité reprenne et s'accroisse (**Frankel, 1998**).

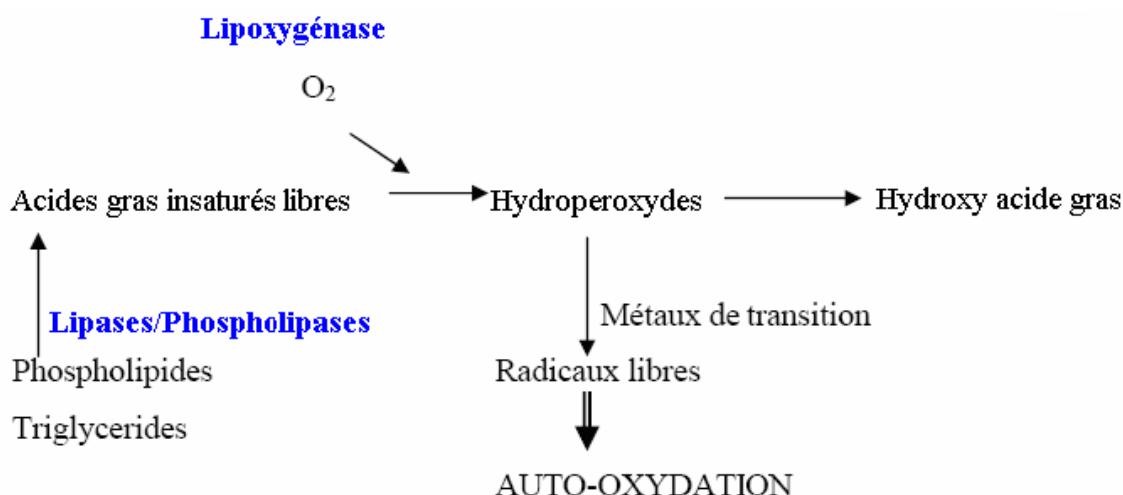


Figure 7: Mécanisme d'initiation de la peroxydase des lipides par l'activité lipoxygénasique (German et Kinsilla, 1985).

2 Les initiateurs de l'oxydation des lipides

La phase d'initiation de l'oxydation des lipides peut être déclenchée par plusieurs facteurs : les formes activées de l'oxygène, les enzymes, les métaux ou la chaleur (Hsieh et Kinsella, 1989 ; Hultin, 1994 ; Frankel, 1998).

2.1 Initiation par les formes activées de l'oxygène

L'oxygène moléculaire est, dans son état fondamental, à l'état triplet. Il ne peut réagir directement avec les lipides car la barrière de spin est trop élevée. La réaction de l'oxygène avec les acides gras insaturés est rendue possible par trois types de mécanismes (Eymard, 2003).

Le premier correspond aux voies de l'auto-oxydation qui résultent du départ d'un hydrogène d'une chaîne d'acide gras sous l'influence de différents initiateurs comme les ions des métaux de transition, et les formes activées de l'oxygène comme le radical hydroxyle. Le radical hydroxyle est très réactif, il peut arracher un hydrogène et former ainsi un radical alkyle qui va initier la peroxydation lipidique. Le second mécanisme est la formation d'oxygène singulet capable de réagir directement avec les chaînes grasses. C'est ce qui se produit généralement lors de la photooxydation. La troisième est liée à l'intervention d'enzymes permettant une fixation directe de l'oxygène moléculaire.

2.2 Initiation par les métaux

Les métaux de transition jouent un rôle important dans la génération des radicaux libres de l'oxygène, ils sont les premiers activateurs des molécules d'oxygène (**Love, 1980**). Au sein des tissus biologiques, les principaux métaux de transition présents sont le fer et le cuivre. Ces derniers catalysent l'oxydation des lipides par des voies enzymatiques et non enzymatiques.

La voie non enzymatique intervient en présence d'agent réducteur tel que les superoxydes, l'ascorbate et la cystéine (**Kanner et al., 1987**).

En présence des métaux de transition, les hydroperoxydes produits par les enzymes, seraient décomposés pour former des composés volatils responsables des mauvaises odeurs.

L'initiation de l'oxydation lipidique par les métaux peut se faire par transfert d'électron ou par formation de complexe de transition ou de complexe avec le peroxyde d'hydrogène qui catalysent l'auto-oxydation et la décomposition par la réaction redox (**Frankel, 1998**).

2.3 Facteurs environnementaux

Les principaux facteurs impliqués dans l'oxydation des lipides au cours des procédés de transformation et de conservation des produits alimentaires sont : la température, du pH, de l'activité de l'eau et de la pression partielle en oxygène (**Eymard, 2003**).

3 Les antioxygènes

Un antioxydant est défini comme étant toute substance présente en faible concentration relative à un substrat oxydable et qui diminue ou prévient l'oxydation de ce substrat (**Favier, 2003**). Cette définition s'applique à un grand nombre de substances :

3.1 Les antioxydants naturels

Ils sont de plus en plus préférés aux produits de synthèse. De nombreuses études portent sur la recherche de molécules naturelles ayant des propriétés antioxydantes. Ainsi les sources d'antioxydants naturels sont nombreuses et variées.

3.1.1 L'acide ascorbique

La vitamine C est très répandue dans la nature. Tous les végétaux en contiennent en quantités variables, on la trouve en grande quantité dans les agrumes, le kiwi, l'acérola, le persil, etc. On en trouve également dans les produits animaux. Elle a un caractère acide et intervient dans les échanges d'oxydo-réduction grâce à sa fonction ène-diol (figure 8). C'est un antioxygène, acidifiant, séquestrant (chélateur) et renforçateur de goût.

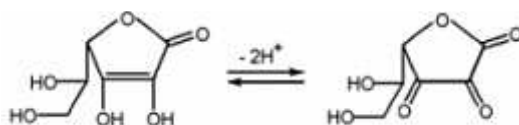


Figure 8 : Structure de l'acide ascorbique

3.1.2 Les caroténoïdes

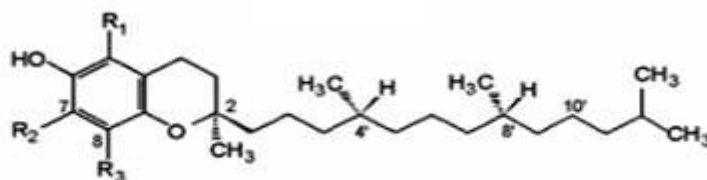
Les caroténoïdes, pigments rouges (lycopène de la tomate), oranges (β -carotène des carottes) ou jaune (lutéine et zéaxanthine du maïs) d'origine végétale, sont particulièrement efficaces dans la neutralisation de l'oxygène singulet et joue le rôle de bouclier contre la photoinitiation de réactions radicalaires par les rayonnements UV. Le β -carotène (provitamine A), diffusant mieux que les tocophérols dans les lipides, protège les graisses profondes (Cohen, 2002).



Figure 9: structure de la β -carotène

3.1.3 La vitamine E (α -tocophérol)

L' α -tocophérol est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement et en diminuant l'athérosclérose (Maydani, 2000). Il a été déterminé que la vitamine E naturelle, semble être deux fois plus biodisponible que la vitamine E synthétique (Burton et al., 1998). Cette vitamine est rencontrée surtout dans les huiles végétales, les noix et les germes de diverses graines (Vansant, 2004).

Figure 10 : Structure de l' α -tocophérol

3.1.4 Les composés phénoliques extraits de plantes

Les autres antioxydants d'origine naturelle sont des produits extraits de plantes et en particulier d'épices : romarin, cumin, thym, origan, clou de girofle, sauge (Chevolleau, 1990 ; Vardar-Unlu et al., 2003 ; Skerget et al., 2005 ; Lee et al., 2005 ; Küçük et al., 2007, Tomaino et al., 2005). Les molécules actives sont soit des flavonoïdes (quercétine, myricétine...), soit des dérivés de l'acide benzoïque (acide vanillique, acide syringique,...) soit des dérivés de l'acide cinnamique (acide caféique, acide rosmarinique...) ou des composés phénoliques (thymol, carvacrol...) (Das et Preira, 1990 ; Chevolleau, 1990 ; Pokorny, 1991 ; Schwarz et Ternes, 1992 ; Crapiste et al., 1999 ; Tepe et al., 2006).

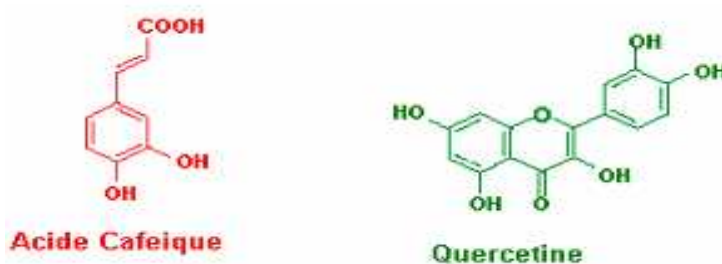


Figure 11 : Antioxydants de la famille des polyphénols (acide caféique et quercetine)

3.2 Antioxydants de synthèse

Les principaux antioxydants de synthèse sont : le BHA, ou butyl-hydroxy-anisole est un mélange de deux isomères qui auraient des propriétés carcinogènes chez le rat et le hamster et le BHT, ou butyl-hydroxy-toluène ou hydroxytoluène butylated qui a une structure voisine de celle du BHA.

Les principales utilisations de ces deux antioxydants sont: les pommes de terre déshydratées en flocons, huiles essentielles, matières grasses, margarines, beurres, gommages à mâcher, etc. Parmi les autres antioxydants de synthèse on peut citer : Le TBHQ ou ter-butyl-hydroxy-quinone, l'anhydride sulfureux et les sulfites, l'acide érythroborique et l'érythroborate de sodium, le palmitate d'ascorbyle, etc.

3.3 Antioxydants enzymatiques

Certaines enzymes participent à la neutralisation excédentaire en radicaux libres tel que l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), le glutathion peroxydase, certaines protéines de transport comme la ferritine et la ceruloplasmine.

La stabilité de ces enzymes en présence de lipides est difficile à prédire c'est pour cela que leurs utilisation n'est pas autorisée dans l'UE (union Européenne), on estime que des recherches sont nécessaires dans ce domaine.

4 Mécanisme d'action des antioxydants

Suivant leurs mécanismes d'action les antioxydants peuvent être classés en trois types :

- **Les antioxydants de type I**

L'action des antioxydants de type I repose sur leur capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents (**Belaiche, 1979**).

- **Les antioxydants de type II**

Ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Les flavonoïdes (un énorme potentiel antioxydant naturel) rentrent dans cette catégorie d'antioxydants. Ils agissent en piégeant les radicaux libres et en complexant les métaux pro-oxydants (**Roeding-Penman et Gordon, 1998**).

- **Les antioxydants de type III**

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière.

L'efficacité des antioxydants peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange d'antioxydants de type I et II. L'association de ces deux types d'antioxydants permet d'inhiber les phases d'initiation et de propagation de l'oxydation des lipides (**Frankel, 1998**).

5 Mesure de l'état d'oxydation et du pouvoir antioxydant

On peut classer les tests de mesure de l'activité antioxydante dans les aliments et les systèmes biologiques dans deux groupes :

- Ceux utilisés dans l'évaluation de la peroxydation des lipides et dans lesquels le substrat utilisé est un lipide ou une lipoprotéine sous des conditions standard et où l'inhibition de l'oxydation est mesurée (**Sanchez-Moreno, 2002**).

- Ceux utilisés dans la mesure du pouvoir de piégeage des radicaux libres (Scavenging of free radicals). On rencontre parfois aussi, des tests de mesure des pouvoirs chélateur et réducteur de métaux qui sont des initiateurs de l'oxydation lipidique.

La plupart des méthodes permettant d'évaluer l'état d'oxydation d'un produit ou d'une matière grasse sont réalisés dans des conditions d'oxydation forcée.

Les méthodes les plus couramment utilisées sont :

- **L'indice de peroxyde** : la méthode AFNOR T60-220 consiste à réduire les peroxydes à l'aide de l'iodure de potassium, qui s'oxyde lui-même en iode que l'on détermine ;

- **Le test de SWIFT** ou AOM (active oxygen method) : C'est un test accéléré qui consiste à faire barboter de l'air dans la matière grasse à 98 °C. On détermine ensuite l'indice de peroxyde ;

- **L'indice TBA – IUPAC 2.531** : le test de l'acide thiobarbiturique est l'un des plus utilisés. Cet acide réagit avec les produits de l'oxydation en donnant un pigment qui absorbe à 532 nm ;

- **L'indice de p-anisidine (IpA) – IUPAC 2.504** : les composés aldéhydiques α -insaturés oxydés réagissent avec la p-anisidine pour former un complexe coloré qui absorbe à 530 nm ; ce test est souvent associé à l'indice de peroxyde.

- **Le RANCIMAT** : il s'agit d'un test d'oxydation accéléré où l'on fait buller, dans la matière grasse chauffée à haute température, un courant d'air. Le gaz qui sort et qui transporte les produits d'oxydation, est recueilli dans un bain d'eau distillée dont on mesure en continu la conductivité ;

- **L'analyse sensorielle** : c'est la mesure la plus sensible mais elle présente des inconvénients. Reconnaître et quantifier les mauvais goûts nécessite un long apprentissage, car la sensation perçue n'est pas unique et se modifie au fur et mesure que l'oxydation progresse. En outre, la sensibilité de chaque individu diffère.

- **Méthodes chromatographiques :** Parmi les méthodes chromatographiques on peut citer :

- La chimiluminescence, où l'on mesure les photons produits lors de la transition des électrons de l'état excité à l'état fondamental, au cours de la formation des peroxydes. En présence d'antioxydant, la quantité de lumière détectée est toujours plus faible (**Miyazawa et al., 1994**).

- La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) : elle permet de doser séparément les hydroperoxydes produits (**Koskas et al., 1983**).

- La thermolyse : on analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG), les produits volatils formés par thermodécomposition des hydroperoxydes (**Saidia et Hammond, 1989**).

- **Méthodes analytiques :** Les plus utilisées pour déterminer les teneurs en hydroperoxydes sont les méthodes iodométriques et colorimétriques.

- **Mesure des pouvoirs chélateur et réducteur :** Les principaux métaux de transition présents au sein des tissus biologiques sont le fer et le cuivre. Ces derniers catalysent l'oxydation des lipides par des voies enzymatiques et non enzymatiques. Ainsi, parmi les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante on rencontre la mesure des pouvoirs chélateur et réducteur des métaux.

- **Mesure du pouvoir de piégeage des radicaux libres :** L'efficacité d'un antioxydant présent dans l'aliment peut être testée par la mesure de son pouvoir à piéger les radicaux libres.

Certains dérivés non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et l'acide hypochloreux (HOCl), peuvent être générés dans les aliments et les systèmes biologiques.

On rencontre dans la littérature, au moins une variante du test de piégeage pour chaque espèce réactive de l'oxygène (ERO) ainsi que les autres radicaux stables utilisés tels que le **DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, **l'ABTS** : 2,2-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonate) et le **DMPD** : N, N, -diméthyl-p-phénylénédiamine.

Conclusion

Le blocage de la chaîne d'oxydation des lipides par les antioxydants n'est pas un mécanisme simple du fait des effets des interactions entre les constituants des milieux complexes (aliments). Tous les auteurs s'accordent à dire que l'emploi de plusieurs tests ou méthodes pour évaluer l'état de dégradation de la matière grasse est toujours préférable.



Chapitre IV
Activité antimicrobienne

Activité antimicrobienne

Introduction

Les microorganismes sont présents dans l'environnement naturel de l'homme (eau, sol, surfaces diverses...), sur l'homme lui-même et sur tous les êtres vivants – plantes et animaux – dont il tire son alimentation. De ce fait le risque de contamination pour un produit alimentaire, transformé ou non est permanent tout au long de la chaîne alimentaire. Selon les germes implantés, les contaminations peuvent avoir de plus ou moins grandes conséquences allant de la simple altération du produit, lui faisant perdre ses qualités organoleptiques ou sa valeur commerciale, à des toxi-infections pouvant avoir de graves incidences sur la santé du consommateur (**Bourgeois et al., 1996**).

Dans le but de remédier à ce problème, plusieurs moyens de lutte sont proposés. Leur rôle est soit d'inhiber la croissance des microorganismes ou de les détruire complètement. La tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour des substances naturelles. Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés antiseptiques des huiles essentielles et d'extraits phénoliques dans le domaine alimentaire (**Oussalah et al., 2007**).

1 Origines et nature de la contamination

La présence de microorganismes dans les aliments n'ayant pas subi de traitement antimicrobien est tout à fait normale. Sauf exceptions (l'intérieur de l'œuf est naturellement stérile), la matière alimentaire brute contient des microorganismes (**Guiraud, 2003**).

Bourgeois et al. (1996) décrivent les origines et la nature de cette contamination :

1.1 Contamination par les microorganismes de l'eau et du sol

La qualité microbiologique de l'eau a une très grande influence sur la contamination des produits alimentaires. En effet, l'eau contient en suspension des microorganismes très divers. Le plus souvent, se sont des bactéries ayant une origine commune avec le sol (*Streptomyces, Micrococcus, Corynebacterium, Pseudomonas...*) ou avec les matières fécales de l'homme et des animaux (Entérobactéries, Entérocoques...). Les moisissures sont

également présentes, certaines d'entre elles provoquent des altérations de produits (*Aspergillus*, *Rhizopus*, *Botrytis*...)

1.2 Contamination par les microorganismes de l'air et des poussières

Les produits alimentaires sont exposés à cette contamination lorsqu'ils ne sont pas protégés par un emballage. Le rapport surface/volume est également très important pour la sensibilité à la contamination, les grosses pièces de viande, ou les produits entiers seront moins exposés que lorsqu'ils sont tranchés.

La contamination microbienne atmosphérique est surtout constituée par des bactéries, des moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*...) et plus rarement des levures (*Torulopsis*). Parmi les bactéries prédominent les sporulées et les *Micrococcus* ; les germes pathogènes sont le plus fréquemment absents.

1.3 Contamination par les microorganismes présents naturellement dans un aliment

La peau des animaux, leur pelage ou leur plumage sont sources de contamination. Ces barrières sont efficaces et ne laissent pas passer les germes, mais lors de l'abattage elles deviennent l'une des causes principales de contamination. Les germes les plus fréquents sont *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* et *Candida*. Les légumes sont également porteurs de bactéries (*Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*).

Des microorganismes du tube digestif et des muqueuses des animaux peuvent contaminer les viandes après abattage éviscération et découpe. Se sont essentiellement des Entérobactéries (*Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*...) et des *Enterococcus* qui sont minoritaires dans l'intestin, mais ont des capacités d'adaptation qui leur permettent de coloniser les produits organiques et en particulier les aliments.

2 Evaluation de l'activité antimicrobienne

La technique de détermination de l'activité antimicrobienne des HE a une grande influence sur les résultats. Les difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants de ces huiles dans l'eau, de leur volatilité, de la nécessité de les tester à de faibles concentrations et des problèmes de standardisation des méthodes (**Hulin et al., 1998**).

2.1 Principales méthodes de détermination de l'activité

Les différents protocoles peuvent être classés :

- Selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'HE, soit liquide, solide ou gazeux ;
- Selon la nature du contact de l'HE avec le germe : diffusion sur disque, solution alcoolique ou dispersion dans un émulsionnant.

2.1.1 Techniques par contact direct

Elles consistent à mettre en présence de l'HE les microorganismes, puis d'observer la croissance de ces derniers. Le contact peut avoir lieu en milieu gélosé ou liquide.

L'aromatogramme ou encore méthode des disques est l'une de ces méthodes. Elle a l'avantage de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale. Elle consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont ensuite déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les bactéries se développent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'HE suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'HE. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (**Fauchère et Avril, 2002**).

2.1.2 Microatmosphère

Dérivé de la méthode précédente, la différence réside principalement dans la position du disque imprégné. Dans cette technique, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Il se produit alors une évaporation des substances volatiles dans la boîte et les cellules sensibles de l'inoculum sont inhibées. La lecture du test porte donc sur la croissance ou non de l'inoculum (**Hulin et al., 1998**).

L'inconvénient de cette méthode c'est qu'elle ne montre que l'activité des constituants volatils à température d'incubation, et non de l'HE elle-même.

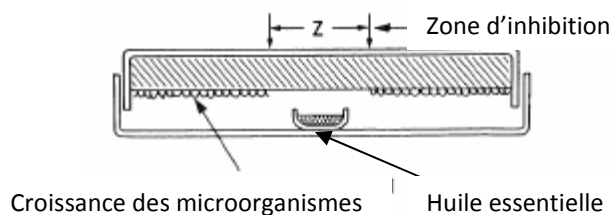


Figure 12: Illustration de la méthode des microatmosphères

3 Détermination de La CMI et CMB

Il est nécessaire de définir, pour caractériser l'activité antimicrobienne d'un composé, des paramètres simples. Pour l'activité antibactérienne, le plus courant est la « Concentration Minimale Inhibitrice » (CMI) qui peut être déterminé par contact direct en milieu gélosé ou en milieu liquide. Elle correspond à la concentration nécessaire pour inhiber totalement la croissance d'un nombre déterminé de germes après un temps d'incubation donné (**Hulin et al., 1998**).

Fréquemment, la CMI n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur. Ceci a amené à définir un autre paramètre : la « Concentration Minimale Bactéricide » (CMB), parfois appelée aussi « létale » (CML). Elle correspond à la concentration en agent inhibiteur nécessaire pour que l'activité bactéricide soit totale sur un inoculum donné après un temps bien déterminé. Elle est estimée en milieu liquide par l'évaluation des survivants après élimination du composé inhibiteur (**Davidson et Parish, 1989**).

4 Les propriétés antimicrobiennes des HE

Les HE et les extraits de plantes sont souvent des mélanges complexes de différents composés dont certains, sinon tous, sont dotés de propriétés antimicrobiennes. Certaines études, comme celles de **Morris et al. (1979)**, **Paster et al. (1990)**, et **Canillac et Mourey (1996)**, confirment les propriétés antimicrobienne de certaines HE.

4.1 Propriétés antibactériennes des HE

En 1987, **Deans et Ritchie** ont étudié l'effet de 50 HE sur 25 genres de bactéries, grâce à la méthode des puits. Ils ont abouti au fait que parmi les 9 HE manifestant les

propriétés inhibitrices les plus importantes sur plus de 20 genres de bactéries, on retrouve notamment l'HE du laurier, de la cannelle, du clou de girofle et du thym.

Une étude portant sur l'activité antibactérienne d'HE de 5 chémotypes de *Thymus pulegioides* a montré que : *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* étaient les plus sensibles envers toutes les HE utilisées, tandis que *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* et *Enterobacter aerogenes* étaient les plus résistantes (Ložienė et al., 2007).

4.2 Propriétés antifongiques des HE

La présence et la croissance de champignons dans les aliments peuvent causer des pourritures qui auront pour effets de diminuer la qualité et/ou la quantité de l'aliment. En plus, les mycotoxines secrétées occasionnent de graves atteintes à la santé humaine et animale.

4.2.1 Activité sur les moisissures

L'action inhibitrice de 5 HE (thym, sauge, eucalyptus, muscade, senné) a été testée à différentes concentrations (100-500 ppm) contre *Alternaria alternaria*. Les résultats obtenus ont montré que les HE de senné et de thym avaient la plus forte activité antifongique. A 500 ppm, l'HE de senné a complètement inhibé la croissance d'*Alternaria alternaria*, tandis qu'à la même concentration, celle du thym ne l'a fait qu'à 62%. Une inhibition irréversible peut être obtenue par une exposition à l'HE de senné pendant 6 jours (300ppm) ou de 3 jours (500 ppm) (Feng et Zheng, 2007).

4.2.2 Activité sur les levures

Sacchetti et al. (2005) ont étudié l'activité antifongique de onze HE en utilisant 5 levures de pourritures des aliments : *Candida albicans* ATCC 48274, *Rhodotorula glutinis* ATCC 16740, *Schizosaccharomyces pombe* ATCC 60232, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2365 et *Yarrowia lypolitica* ATCC 16617. Les résultats obtenus ont montré que l'HE de *Cymbopogon citratus* et *Thymus citriodorus* x étaient les plus efficaces pour inhiber les 5 levures testées.

L'activité antifongique de l'HE de *Teucrium mascatenses* a été testée en utilisant deux levures : *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*. Les résultats ont montré que l'HE a parfaitement inhibé la croissance des deux levures, mais ceci a des concentrations différentes (Hisham et al., 2006).

4.3 Activité liée à la composition chimique

L'activité des huiles essentielles est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Evalués séparément sous la forme de composés synthétiques, ils confirment ou infirment l'activité de l'huile essentielle de composition semblable. Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique. De cette manière, la valeur d'une huile essentielle tient à son «totum », c'est à dire dans l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

Les molécules réputées actives sont des terpénoïdes, car les hydrocarbures saturés et les acétates ioniques sont inactifs, par la nature même de leur faible capacité de liaisons hydrogène et de leur faible solubilité (**Griffin et al., 1999**). L'effet des terpénoïdes sur des membranes bactériennes isolées suggère que leur activité est fonction des propriétés lipophiles des constituants terpéniques, la nature des groupes fonctionnels, leur solubilité en phase aqueuse et la stéréochimie de la molécule (**Dorman et Deans, 2000**).

Les composés chimiques de plus grande efficacité et à plus large spectre sont des phénols (thymol, carvacrol et eugénol) des alcools, (a-terpineol, terpinen-4-ol, linalol), des aldéhydes, des cétones et plus rarement des terpènes hydrocarbonés (**Dorman et Deans, 2000 ; Cosentino, 1999 ; Valero et Salmeron, 2003**).

- **Les alcools** sont plus généralement connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les cellules végétatives. Ils agissent en dénaturant les protéines, comme solvants ou comme agents de déshydratation (**Dorman et Deans, 2000**).
- **Les aldéhydes** sont de puissants antimicrobiens. Un groupe aldéhydique conjugué à une double liaison est fortement électronégatif. Les composés électronégatifs peuvent induire des réactions de transfert d'électrons et réagir avec des composés nitrés vitaux pour la bactérie : protéines et acides nucléiques (**Dorman et Deans, 2000 ; Franchome et al., 1990**).
- **Les phénols** sont responsables de dégâts irréversibles au niveau de la membrane. Le thymol et l'eugénol sont responsables de l'activité fongicide (**Bennis et al., 2004**), et bactéricides des huiles essentielles qui en contiennent (**Lambert et Skandamis, 2001 ; Walsh et Maillard, 2003 ; Cox et Mann, 2000**). Plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les huiles essentielles sont efficaces (**Cosentino, 1999**). Cependant, les phénols ne sont pas seuls responsables de l'intégralité de l'activité ; la totalité de la composition chimique doit être prise en compte (**Cosentino, 1999**).

Certaines études ont montré que l'activité (antimicrobienne, antivirale, insecticide, larvicide et ovicide) des huiles essentielles est supérieure à celle des composés majoritaires testés séparément (**Lahlou, 2004**).

4.4 Mécanisme d'action des HE

A la manière des agents chimiques, on distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur les microorganismes : une activité létale (*bactéricidie*) et une inhibition de la croissance (*bactériostase*). L'activité des HE est souvent assimilée à une activité bactériostatique. Cependant, des études ont montré que certains constituants chimiques des HE ont des propriétés bactéricides (**Kunle et Okogun, 2003 ; Lambert et Skandamis, 2001 ; Walsh et Maillard, 2003**) et fongicides (**Hammer et Carson, 2003**).

Plusieurs études ont montré l'apparition de fuites d'ions potassium K⁺ de cellules microbiennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) en contact avec du Tea-tree (*Melaleuca alternifolia*). Il s'agit de la toute première indication de dégâts irréversibles au niveau de la membrane. Des composés isolés tels le thymol et le carvacrol rendent la membrane des bactéries perméable, prémices de leur mort (**Lambert et Skandamis, 2001**). La faculté de perturber la perméabilité de la cellule membranaire, accompagnée de la perte de l'osmose chimique sont bien la preuve d'une activité létale de certaines HE (**Cox et Mann, 2000**).

4.5 Association des HE

Les effets antimicrobiens des associations HE, comme pour les associations d'antibiotiques, sont définies selon quatre interactions possibles :

- **Indifférence** : l'activité d'une HE n'est pas affectée par l'autre ;
- **Addition** : l'effet de l'association est égal à la somme des effets de chaque HE étudiée isolément, à la même concentration que dans l'association ;
- **Synergie** : l'effet est significativement supérieur à la somme de chaque HE étudiée isolément, à la même concentration ;
- **Antagonisme** : l'association diminue l'activité de l'une ou l'autre des HE. Elle est inférieure à la somme des effets de chaque huile essentielle prise séparément.

4.6 Facteurs influençant les propriétés antimicrobiennes des HE

Selon **Hulin et al. (1998)** les facteurs influençant les propriétés antimicrobiennes des HE sont :

4.6.1 La température

Moleyar et Nasimham (1992) et **Bowls et al. (1995)** ont montré respectivement que la température affecte les propriétés d'inhibition de l'aldéhyde cinnamique quand la température augmente de 20°C à 30°C et, augmente les propriétés antibactériennes des carbonyles aromatiques et aliphatiques lorsque la température baisse de 37°C à 12°C.

4.6.2 Le pH

Sur 11 composés étudiés dont l'eugénol, le maltol et le menthol, **Jay et Rivers (1984)** ont constaté une augmentation de l'activité de tous les composés à pH 6 par rapport au pH 8.

A pH 5 et à la température d'incubation de 5°C, 0,01 g/L de diacétyl suffisent pour inhiber *Pseudomonas fluorescens* et *Staphylococcus faecalis*, alors qu'à 15°C, 0,078 g/L et 0,156 g/L sont respectivement nécessaires pour inhiber ces microorganismes.

4.7 Applications des HE dans les aliments

Trois HE (thym, ail, piment) ont été étudiés pour leur pouvoir antibactérien sur des saucisses de hot-dog contre *Listeria monocytogenes*. Les tests ont porté sur trois genres de saucisses : 0%, 9% et 26% de matière grasse. Les résultats obtenus montrent que le thym à une concentration de 1 ml/l inhibait parfaitement le développement dans les deux premiers genres et non dans le troisième, alors qu'à la même concentration, l'ail inhibait le développement dans les trois genres.

Les propriétés organoleptiques d'une viande de bœuf hachée contenant 1% (volume/poids) d'HE d'origan ont été améliorées durant un stockage sous un emballage sous vide et sous une atmosphère modifiée à 5°C (**Oussalah et al., 2006**).

Le développement d'*Alternaria alternaria* a été considérablement inhibé sur des tomates fraîches traitées avec de l'HE de senné et entreposées pendant 5 jours à 25°C. Le pourcentage de tomates pourries traitées avec 500 ppm d'HE était de 19,1% (**Feng et Zheng, 2007**).

Un concentré de tomate inoculé avec *Aspergillus flavus* puis traité avec 500 ppm d'HE de thym et entreposé à 25°C pendant deux mois gardait tout son goût et son arôme en plus de l'inhibition d'*Aspergillus flavus* (**Omidbeygi et al., 2007**).

En présence d'eugénol, composé majeur de l'HE du clou de girofle, la production d'aflatoxines dans les grains de maïs traités diminue d'environ 60 % par rapport aux témoins (**Hulin, 1998**).

Conclusion

L'usage excessif d'agents antimicrobiens chimiques dans la médecine humaine, dans les élevages d'animaux ainsi qu'en industrie alimentaire conduit à la sélection de nouvelles souches plus résistantes. Ainsi, les HE commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Bouhadid et al., 2006**).

Avant de choisir une HE destinée à la conservation des aliments, il est nécessaire avant tout de connaître sa CMI et sa CMB. De plus, selon les aliments, certains facteurs comme la température de stockage et le *pH* peuvent avoir un effet sur le pouvoir inhibiteur de ces HE (**Hulin, 1998**). Il faut vérifier aussi, que même les faibles concentrations d'HE n'affectent pas les propriétés organoleptiques des aliments (**Oussalah et al., 2006**).



Partie II
Etude expérimentale



Chapitre I
Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

1 Matériel végétal

Le matériel végétal au quel nous nous sommes intéressé est constitué de trois espèces de la famille des lamiacées et deux espèces de la famille des cupressacées (tableau 7) :

Tableau 7 : Espèces de lamiacées et de cupressacées étudiées

| Famille | Espèces | Provenance |
|--------------|---------------------------------------|------------------------|
| | <i>Thymus pallescens</i> | Kadiria (Bouira) |
| Lamiacées | <i>Teucrium polium ssp capitatum</i> | Boussaâda |
| | <i>Satureja calamintha ssp nepeta</i> | El-Affroun (Blida) |
| Cupressacées | <i>Tetraclinis articulata</i> | Hamam Mélouane (Blida) |
| | <i>Juniperus phoenicea</i> | Beni Mansour (Bouira) |

2 Description des espèces étudiées

2.1 Les lamiacées

2.1.1 *Thymus pallescens* de Noé

Plante à tiges dressées et robustes comprenant des feuilles oblongues-lancéolées entières et glabres. Les inflorescences sont plus ou moins interrompues vers le bas avec des fleurs blanches ou pâles à peine plus longues que le calice. Commun dans le Tell, le *thymus pallescens* pousse dans les pelouses et les garrigues. C'est une espèce endémique en Algérie.



Figure 13 : *Thymus pallescens* au stade de floraison

2.1.2 *Teucrium polium* ssp *capitatum* Briq.

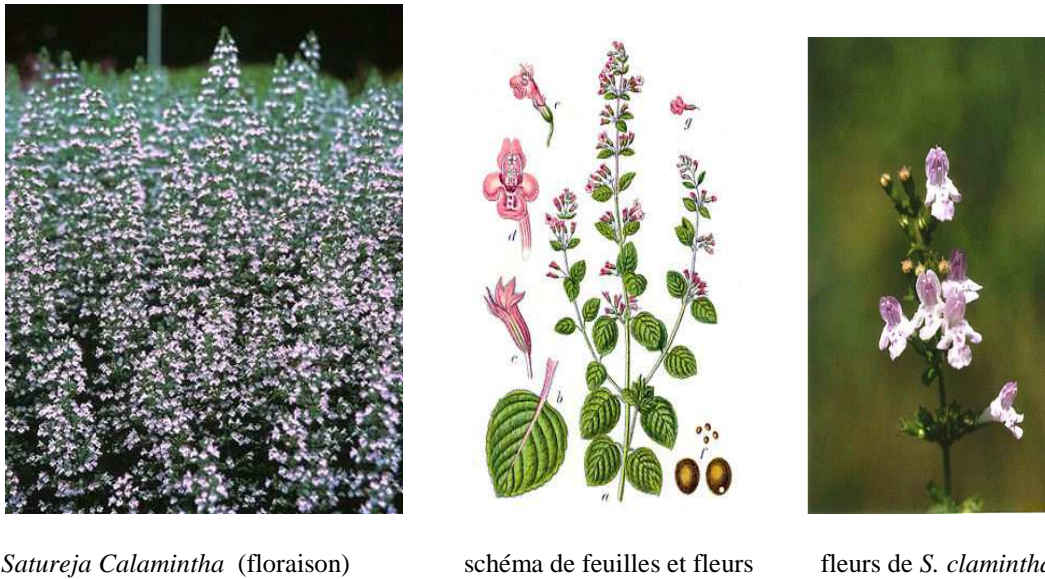
Plante à tomentum blanchâtre, possédant des feuilles à marge distinctement crénelées, vertes en générale en dessus et blanchâtres en dessous. Les tiges sont au moins en partie blanchâtres, au sommet desquelles se trouvent plusieurs capitules de 1 cm au plus. Les étamines quant à elles sont tordues en spirales. C'est une espèce très commune en l'Algérie.



Figure 14 : *Teucrium polium* ssp *capitatum* au stade de floraison

2.1.3 *Satureja calamintha* ssp *nepeta* (L.) Briq.

Le calament nepeta est un sous-arbrisseau ou plante vivace aromatique à inflorescence en cymes lâches et pédonculés de 5-15 fleurs. Feuilles ovales, souvent dentées de couleur verte sombre de 4 cm de long. Calice bilobé, gibbeux à la base, de 6-7mm à dents subégales. Corolle violet pâle, parfois roses de 1.5cm avec un fruit ovoïde, lisse. Connue sous le nom de « Meuta » ou « Nebta ».



Satureja Calamintha (floraison)

schéma de feuilles et fleurs

fleurs de *S. calamintha***Figure 15 : *Satureja calamintha* ssp *nepeta***

2.2 Les cupressacées

2.2.1 *Juniperus phoenicea* (L.)

Juniperus phoenicea (Genévrier rouge, Genévrier de Phénicie) ou "Arar" chez les arabes est un arbre branchu pouvant atteindre 8 mètres de hauteur, possédant un tronc court qui peut atteindre 2 mètres de circonférence. Cette espèce est monoïque, la floraison a lieu pendant l'hiver et la fructification à la fin de l'été de l'année suivante. A maturité, les fruits sont bruns-rouges et luisants. Elle devient de plus en plus rare sous l'effet de son exploitation abusive (son bois est très recherché comme combustible et fournit un charbon très apprécié) (Le Floc'k, 1983).



Figure 16 : *Juniperus phoenicea* (L.)

2.2.2 *Tetraclinis articulata* Vahl.

Tetraclinis articulata ou *callitris quadrivalvis* représente la seule espèce du genre *tetraclinis*, c'est un arbre ou arbuste souvent petit et buissonnant, rejetant de souche. Les feuilles sont opposées mais paraissant verticillées par 4, en partie soudées à la tige dont chaque entrenœud est entouré par 4 feuilles. Les cônes sont glauques, prumineux, dont les 4 valves sont munies au sommet d'un appendice plat et réfléchi.



Figure 17 : *Tetraclinis articulata* Vahl.



Figure 18 : Fruits de *Tetraclinis articulata*

3 Localisation des sites producteurs d'HE

Afin d'appréhender les mécanismes mis en jeu au cours de l'extraction des HE, il est nécessaire de localiser leurs sites producteurs. Pour cela, des coupes transversales ont été

réalisées sur les feuilles et les tiges supérieures des espèces de lamiacées ainsi que sur les feuilles et les fruits des espèces de cupressacées, au département de Botanique de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA – El-Harrach) en suivant les étapes suivantes :

- Coupe à main levée en utilisant comme support la moelle de sureau ;
- Un prétraitement dans une solution d'hypochlorite de sodium à 12° pendant 20 min pour pouvoir vider les cellules de leur contenu ;
- Un rinçage dans de l'eau distillée durant 1 à 5 min, puis dans l'acide acétique à 5 % pendant 5 min ;
- Une coloration des coupes en utilisant le carmino-vert qui donne une coloration verte pour les parties lignifiées et une coloration rose pour les parois cellulodiques ;
- Un montage des coupes dans une goutte d'eau distillée entre lame et lamelle est observé immédiatement au microscope photonique de marque Aus Jena Jenalumar doté d'un appareil photo.

Plusieurs coupes ont été observées et les plus intéressantes ont été photographiées.

4 Extraction de l'HE

L'extraction de l'HE a été effectuée au niveau du laboratoire de chimie de l'ENSA par une hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger modifié. L'ensemble du montage est fixé à des supports sauf le chauffe-ballon et le ballon qui sont munis d'un support élévateur pour faciliter à la fois, leurs chargements et déchargements.

4.1 Protocole d'extraction

Après avoir pesé 100 g de matière végétale, constituée des parties aériennes (feuilles et fleurs, feuilles seulement ou fleurs seulement) des espèces étudiées, nous les avons introduit dans un ballon de 2 litres rempli d'eau aux 2/3 de son volume.

Le ballon chauffé à l'aide d'un chauffe ballon produit de la vapeur chargée de produits volatils. Cette vapeur se condense au contact du réfrigérant. Le condensât est recueilli dans un erlenmeyer à col rodé (à défaut de trouver une ampoule à décanter adaptable à notre dispositif) puis dans une ampoule à décanter où l'on sépare la phase aqueuse de la phase organique (phase supérieure) qui constitue l'HE qui sera séchée avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) afin d'éliminer toutes traces d'eau. L'HE séchée et séparée du sulfate de sodium par filtration sur de la laine de verre et conservée à une température de 4°C dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement en vue de son analyse.

4.2 Cinétique d'extraction

Dans le but d'étudier l'influence de l'état de la matière végétale (entière, broyée) sur la cinétique d'extraction, nous avons suivi l'évolution du rendement en HE de l'espèce *Thymus pallezens* en fonction de la durée d'extraction. La cinétique d'extraction avec et sans broyage de la matière végétale détermine donc, le moyen qui permet d'obtenir les rendements les plus intéressants.

4.3 Rendement de l'extraction

On définit le rendement en HE de différentes manières. Dans ce travail nous avons considéré celui du rapport entre le volume de l'huile récupérée (V_{HE}) et la masse de la matière végétale sèche (M_v).

Le rendement en HE exprimé en pourcentage est donné par la relation suivante :

$$\text{Rdt}\% = V_{HE} / 100 \text{ g}$$

Avec :

Rdt% : Rendement en HE;

V_{HE} : Volume de l'HE (ml).

4.4 Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par CPG et CG/SM

Les HE extraites des espèces étudiées ont été soumises à des analyses qualitatives et quantitatives par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM).

4.4.1 Analyse qualitative des HE par CPG

Cette analyse a été effectuée au laboratoire d'analyse instrumentale du département de technologie alimentaire de l'ENSA selon les conditions opératoires suivantes :

- Appareil de type CP. Chrompack. 9002;
- Colonne capillaire : Stabilwax de phase stationnaire polyéthylenglycol (PEG) ;
 - Longueur : 30 m ;
 - Diamètre interne : 0,32 mm.

- Programmation de la température : 50°C en isotherme pendant 3 min puis augmentation de la température à raison de 2°C/min jusqu'à 220°C. Isotherme pendant 15 min ;
- Gaz vecteur : Azote ;
- Débit du gaz vecteur : 1 ml/min ;
- Volume injecté : 0,2 µl.

4.4.2 Mode d'identification

L'identification des composés se fait par comparaison de leurs indices de rétentions (indice de Kovats) à ceux cités par la littérature et ceux d'étalons disponibles au niveau du laboratoire d'analyse instrumentale de l'ENSA. Pour le calcul de ces indices, un mélange d'alcane (C₇ – C₂₅) est injecté dans les mêmes conditions opératoires que l'échantillon. Les indices de retentions (IR) sont calculés selon la formule suivante :

$$IR = 100 z + 100 n \frac{TR_c - TR_z}{TR_{z+n} - TR_z}$$

Avec:

- n : Différence des atomes de carbone;
- TR_c : Temps de rétention du composé ;
- TR_z : Temps de rétention de l'alcane à z atomes de carbones élué avant le composé étudié;
- TR_{z+n} : Temps de rétention de l'alcane à z+n atomes de carbones élué après le composé étudié.

4.4.3 Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par CG/SM

Cette analyse a été effectuée selon les conditions opératoires suivantes :

❖ Chromatographie phase gazeuse (CPG)

- Appareil de type GC 6890 N (HP Agilent technologies) ;
- Colonne : HP 5-MS (crosslinked 5% PHME siloxane) ;
 - Longueur : 30 m ;
 - Diamètre interne : 0,250 mm ;
 - Epaisseur du film de la phase : 0,25 µm.

- Programmation de la température : 35°C en isotherme pendant 2 min puis augmentation de la température à raison de 5°C/min jusqu'à 320°C ;

- Mode d'injection : Split à T° = 250°C ;
- Température de détection : 280°C « interface » ;
- Pression : 6,75 Ψ ;
- Gaz vecteur : hélium ;
- Débit du gaz vecteur : 1 ml/min ;
- Volume injecté : 0,2 μl.

❖ Spectrométrie de masse (SM)

- Mode de détection : Scan ;
- Appareil : MS-5973 N (HP Agilent Technologies) ;
- Potentiel d'ionisation : 70 EV ;
- Pression (Source, analyseur) : 6,76 Ψ.

L'identification des constituants des HE extraites est basée sur :

- La comparaison des spectres de masses des molécules inconnues à ceux des composés purs cités par la littérature :

- En tenant compte de l'ordre d'élution du composé sur la colonne considérée ;

- En tenant compte de la proposition et du pourcentage de probabilité de présence du composé fournis par la base de données du micro-ordinateur couplé au spectromètre de masse (Wiley 7N).

- La comparaison des indices de rétentions des composés sur la colonne utilisée avec ceux des étalons injectés ainsi que ceux fournis par la littérature sur des colonnes similaires à celle que nous avons utilisé.

5 Elaboration des extraits de feuilles de Genevrier et de Thuya de Berbérie

Dans notre étude, une extraction solide-liquide par Soxhlet a été réalisée au laboratoire de chimie de l'ENSA. 20g de poudre des feuilles ont été placées dans une cartouche et soumises à une extraction avec 100 ml d'éthanol à 99%. L'extraction est répétée jusqu'à ce que le solvant récupéré devienne incolore.

Après 6 heures d'extraction, le solvant riche en substances extraites, a été récupéré dans un ballon et passé au rotavapor afin d'évaporer le solvant. L'extrait ainsi récupéré a été placé dans un dessiccateur, pesé et conservé à 4-6°C jusqu'à son utilisation.

Le taux d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{Le taux de matière extraite (\%)} = [(P_1 - P_0) / E] \times 100$$

P_0 : poids du ballon vide (g).

P_1 : poids du ballon après évaporation du solvant (g).

E : poids de l'échantillon (poudre) (g).

6 Dosage des composés phénoliques des extraits obtenus

6.1 Dosage des phénols totaux

Les phénols totaux des extraits ont été déterminés par la méthode de Folin-ciocalteu décrite par Singleton et *al.*, 1999 utilisant l'acide gallique comme standard.

6.1.1 Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. Le phénol standard utilisé dans cette méthode est l'acide gallique dont la formule chimique est la suivante :

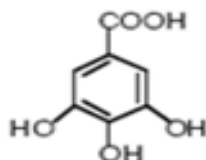


Figure 19 : Acide gallique (Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque)

6.1.2 Mode opératoire

Un volume de 0,25ml d'extrait dissout dans de l'éthanol est mélangé à 1,25 ml de réactif de Folin-ciocalteu. Après 3 minutes de temps de réaction du mélange, 1ml de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à une concentration de 75g/l est ajouté. Après 30 minutes d'incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante, l'absorbance est lue à 765 nm. L'expérience est répétée trois fois pour chaque concentration d'extrait.

La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et sera exprimée en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait.

6.2 Dosage des flavonoïdes :

La méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) modifiée (**Lamaison et Carnet, 1990; Huang et al., 2004**) a été employée pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes des extraits étudiés.

6.2.1 Principe

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe avec les flavonoïdes dont on dose l'absorbance à 420 nm. Le flavonoïde standard utilisé dans cette méthode est la quercétine dont la formule chimique est la suivante :

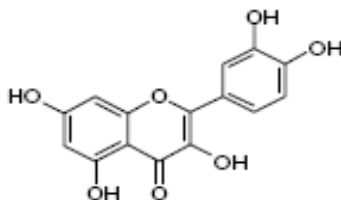


Figure 20 : Quercétine

6.2.2 Mode opératoire

1ml d'extrait dissout dans de l'éthanol est ajouté à 1 ml de la solution éthanolique de chlorure d'aluminium. Après 1h d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 420 nm. Cette expérience est répétée trois fois.

La teneur en flavonoïdes est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine et sera exprimée en μg équivalent de quercétine par mg d'extrait.

7 Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits obtenus

L'activité antioxydante a été évaluée *in vitro* par deux méthodes de référence citées dans la littérature : le pouvoir réducteur et l'activité d'inhibition du radical DPPH (2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl). Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des extraits éthanoliques a été comparé à un ou plusieurs antioxydants de synthèse (BHT, BHA, acide ascorbique).

7.1 Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH

7.1.1 Principe

La capacité de céder des hydrogènes par les huiles essentielles, extraits ou par certains composés purs, est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution éthanolique contenant le radical libre DPPH (2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Le piégeage du radical DPPH est suivi par la diminution de l'absorbance à 517 nm qui est due à la réduction du radical par l'antioxydant (AH).

7.1.2 Mode opératoire

Le test utilisant le radical DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par **Burits et Bucar (2000)** et **Sahin et al. (2004)**, où 25 µl de chacune des dilutions des huiles essentielles et d'extraits testés sont mélangés dans la cellule placée dans la cuvette du spectrophotomètre avec 975µl d'une solution éthanolique de DPPH (60 µM). Après une période d'incubation de 30 min à l'abri de la lumière et de l'oxygène atmosphérique, et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Les expériences sont réalisées en 3 répétitions pour chaque concentration.

La même procédure est appliquée aux témoins (références de comparaison) : BHT et BHA

Le pourcentage d'activité antioxydante (I%) est calculé selon la formule suivante :

$$I (\%) = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{éch.}}) / A_{\text{blanc}}] \times 100$$

- A_{blanc} . Représente l'absorbance du DPPH au temps zéro avant l'addition de l'échantillon (huile essentielle, extrait ou témoin) à une concentration donnée.
- $A_{\text{éch.}}$. Absorbance de l'échantillon testé après 30mn.

7.1.3 Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC₅₀)

Elle est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants (HE, extraits ou toute autre substance antioxydante) nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux. Elle est obtenue à partir de l'équation de la courbe de l'activité antioxydante (%) en fonction de la concentration de l'antioxydant.

7.2 Mesure du pouvoir réducteur

7.2.1 Principe

Le pouvoir réducteur des huiles essentielles et d'extraits représente l'aptitude de ces composés à réduire le fer ferrique en fer ferreux. Cette aptitude est évaluée par la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**.

7.2.2 Mode opératoire

L'estimation du pouvoir réducteur des échantillons étudiés (HE, extraits, BHT, BHA et l'acide ascorbique) est obtenue selon le protocole expérimental illustré dans la figure 21.

L'augmentation de l'absorbance indiquera une augmentation du pouvoir réducteur. Le test a été répété 3 fois pour chaque concentration de chaque échantillon étudié.

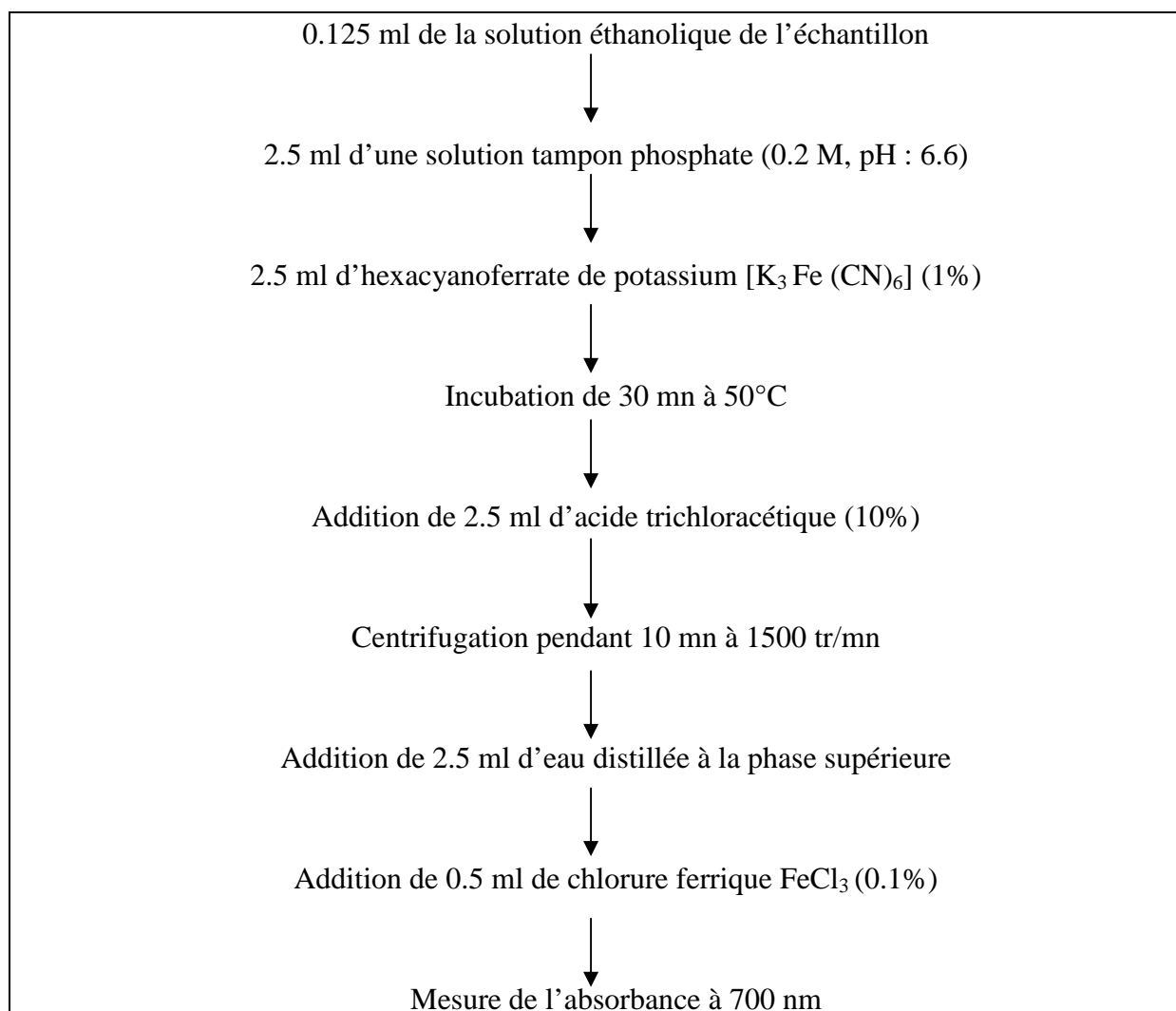


Figure 21 : Procédure de mise en œuvre du test du pouvoir réducteur

8 Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits

Cette partie consiste à mettre en évidence le pouvoir antimicrobien de nos échantillons d'huiles essentielles et d'extraits par deux méthodes : qualitative et quantitative réalisées au niveau du **CRD-SAIDAL** (El Harrach, Alger).

8.1 Etude qualitative de l'effet antimicrobien

La technique que nous avons utilisée pour cette étude est l'aromatogramme ou la méthode de diffusion en milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose. C'est la méthode utilisée par certains auteurs (**Deans et Ritchie, 1987 ; Smith-Palmer et al., 1998 ; Lis-Balchin et Hart, 2000 ; Burt et Reinders, 2003 ; Kabouche⁽²⁾ et al., 2005**).

Le principe de la méthode a été tiré à partir du titrage des ATB « Pharmacopée Européenne, 2002 », le mode opératoire quant à lui, a été approuvé par la directrice du laboratoire de microbiologie du **CRD-SAIDAL**.

8.1.1 Aromatogramme

- **Principe**

La méthode des aromatogrammes consiste à déposer un disque stérile en cellulose de 6 mm de diamètre imprégné de l'HE ou de solution méthanolique d'extrait à 1/5(m/m), sur la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de Pétri etensemencée avec le micro-organisme testé. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (en mm) de la zone claire indemne de colonies autour du disque absorbant, appelée : zone d'inhibition (figure 22).

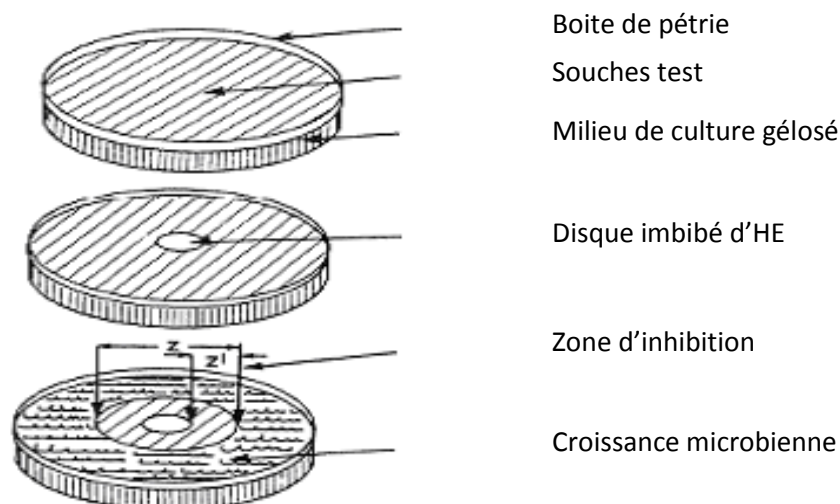


Figure 22 : Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de pétri

8.1.2 Souches microbiennes testées

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des HE étudiées, on a testé ces dernières sur 9 micro-organismes (7 bactéries pathogènes et 2 levures), toutes de souches sont pures et issues de la collection du **CRD-SAIDAL**.

Tableau 8 : Liste et caractéristiques des souches microbiennes testées

| Nom de la souche | N° ATCC | Gram | Famille | Principales infections causées |
|----------------------------------|---------|------|--------------------|---|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 6538 | + | Micrococcaceae | -Gastro-entérites ; -Infections urinaires ; -L'ostéomyélite et l'arthrite. |
| <i>Enterococcus faecium</i> | 6569 | + | Enterococcaceae | -Douleurs abdominales. -Diarrhées aiguës. |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 9372 | + | Bacillaceae | -Gastro-entérites. |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 9027 | - | Pseudomonadaceae | -Crampes abdominales ; -Troubles digestifs. |
| <i>Escherichia coli</i> | 4157 | - | Enterobacteriaceae | -Diarrhées dysentériques ; -Gastro-entérites. |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 4352 | - | Enterobacteriaceae | -Vasodilatation ; -Troubles neurologiques et gastro-intestinaux ; -Risque d'abcès pulmonaire. |
| <i>Bordetella bronchiseptica</i> | 4617 | - | Alcaligenaceae | -Infections des voies respiratoires supérieures ; -Bronchites, pneumonies. |
| <i>Candida albicans</i> | 24433 | | Cryptococcaceae | -Lésions cutanées ; -Infections oesophagiennes ; -Infections génitales. |
| <i>Saccharomyces cereviceae</i> | 2601 | | Saccharomycetaceae | Souche non pathogène. |

8.1.3 Protocole expérimental

8.1.3.1 Préparation de l'inoculum

- **Pour les bactéries**

A partir d'une culture jeune de 18h, on réalise des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques, et les mettre dans 5 ml d'eau physiologique stérile, puis on agite au vortex pendant quelques secondes.

Pour la lecture de la transmittance, on utilise un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm. La transmittance doit être entre 22% et 32%, ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml.

- **Pour les levures**

La préparation de l'inoculum pour les levures est la même que celle pour les bactéries sauf que, pour les levures, la culture doit être jeune de 48h et que la transmittance doit être entre 2% et 3%, ce qui correspond toujours à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml.

8.1.3.2 Examen de l'échantillon

- **Préparation des milieux de culture**

La préparation des milieux de culture utilisés a été réalisée selon **Guiraud, 2003**.

- ✓ **Milieu Mueller-Hinton pour les bactéries**

Le milieu de Mueller-Hinton est un milieu solide utilisé notamment pour la recherche de la sensibilité des bactéries aux HE. Pour préparer 1L de ce milieu il faut : l'extrait de viande (2g), hydrolysate acide de caséine (17,5g), amidon (1,5g) et de la gélose (10g).

On mélange les différents ingrédients puis on autoclave pendant 15 min à 115°C. Par la suite, on répartit le milieu qui doit être de pH 7,4 dans des flacons de 250 ml.

- ✓ **Milieu Sabouraud gélosé pour les levures**

C'est un milieu Sabouraud-glucose constitué lui-même d'un bouillon gélosé à 2%. Avant d'ajouter la gélose, on doit préparer le Sabouraud-glucose qui a comme ingrédients : peptone de viande (5g), peptone de caséine (5g) et du glucose (20g).

Le milieu Sabouraud-glucose qui doit être de pH 6.3, est réparti en tubes à essais de 9 à 10 ml, ces derniers sont par la suite autoclavés pendant 20 min à 120°C.

- **Préparation de la première couche du milieu**

On fait fondre le milieu gélosé Muller-Hinton et le Sabouraud dans un bain marie à 95°C, puis on verse aseptiquement une première couche dans les boîtes de Pétri à raison de 15ml par boîte avec 3 répétitions par souche. On laisse refroidir et solidifier sur la paille.

- **Préparation de la deuxième couche du milieu**

On fait fondre le milieu gélosé Muller-Hinton et le Sabouraud dans un bain marie à 95°C puis on baisse la température jusqu'à 45°C et on les remplit dans des flacons de 50 ml. On ensemence les milieux avec 200 µl de chaque suspension et on agite manuellement ; puis on transvase rapidement 4 ml de chaque milieu inoculé sur la surface de la première couche (couche support) de gélose solidifiée. On étale immédiatement la couche en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme et on laisse solidifier sur la paillasse.

- **Dépôt des disques**

A l'aide d'une pince stérile, on prélève un disque de cellulose stérile, on l'imbibe avec l'HE ou de solution d'extrait à tester en mettant seulement en contact le bout du disque, celui-ci va absorber progressivement jusqu'à imprégnation totale du disque.

On dépose le disque sur la surface de la gélose, puis on laisse diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. On incube à 37°C pendant 24h pour les bactéries et 25°C pendant 48h pour les levures.

8.2 Etude quantitative de l'effet antimicrobien

Cette étude nous permettra de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des souches les plus sensibles aux échantillons testés.

8.2.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

8.2.1.1 Principe

Cette méthode a comme principe d'effectuer des dilutions de l'huile essentielle et d'extraits testés dans le milieu gélosé solide Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures, puis inoculer ce milieu avec les souches testées ; grâce à ces dilutions on pourra définir la plus faible concentration qui inhibera la croissance microbienne.

8.2.1.2 Protocole expérimental

- **Préparation de l'inoculum**

A partir de jeunes cultures (18h à 24h pour les bactéries et 48h pour les levures), on réalise des suspensions de 10^8 germes/ml, à partir de cette suspension on prépare une série de dilutions allant de 10^{-1} à 10^{-4} germes/ml.

- **Préparation de la gamme de dilutions des huiles essentielles et des solutions méthanoliques d'extraits testés**

On procède suivant ces étapes :

➤ Liquéfaction de 200 ml du milieu à 95°C dans un bain marie ; en lui additionnant 1 ml de Tween 80.

➤ Préparation d'une dilution de 2% de l'HE ou d'extrait à tester en diluant 1 ml de notre HE dans 49 ml du milieu, et 5ml de notre solution méthanolique d'extrait dans un flacon contenant 45 ml du milieu gélose (Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures).

➤ Bien homogénéiser le 1^{er} flacon puis verser 25 ml de son contenu dans un autre flacon puis ajuster à 50 ml de milieu pour avoir la dilution de 1%, continuer ainsi jusqu'à obtention de la dilution 0.03%.

➤ A partir de chaque dilution préparé, on verse 20 ml dans chaque boîte de pétri et on les laisse solidifier.

➤ Ensemencer les boîtes par spotage à l'aide d'une microsiringue de 3µl des suspensions microbienne de la dilution 10^{-4} germes/ml, on laisse diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. On incube à 37°C pendant 24h pour les bactéries et 25°C pendant 48h pour les levures.

On parlera de CMI la où aucune croissance visible n'est constatée au niveau des spots tout en sachant que la présence d'une ou deux colonies n'est pas prise en considération.

9 Analyse statistique

Les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des HE et des extraits testés ont fait l'objet d'une étude statistique par l'analyse de la variance à une variable (ANOVA 1) et l'analyse par le test de *Tuckey*, en utilisant le logiciel SPSS 10.

Tous les graphes et les histogrammes obtenus ont été réalisés en utilisant les deux logiciels : Excel (de Microsoft Office 2007) et Statistica 9.0.



Chapitre II
Résultats et discussion

Résultats et discussion

1 Localisation des sites producteurs des huiles essentielles

1.1 Cas des lamiacées

Les observations effectuées à partir des coupes histologiques des tiges et des feuilles de *Teucrium polium* ssp *capitatum* et de *Thymus palleescens* confirment la présence de poils tecteurs (PT), sécréteurs (PS) et glandulaires (PG) tout autour des tiges et feuilles comme l'illustrent les figures (23 à 26).



(Gr : 40 × 10)

Figure 23 : Coupe transversale d'une tige de *Teucrium polium* ssp *capitatum*



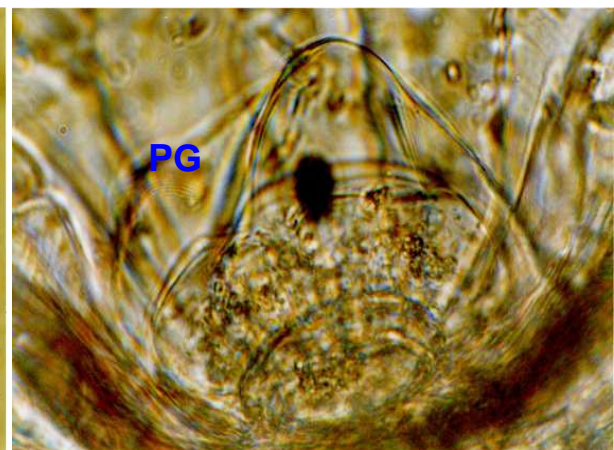
(Gr : 40 × 10)

Figure 24 : Coupe transversale d'une feuille de *Teucrium polium* ssp *capitatum*



(Gr : 40 × 10)

Figure 25 : Coupe transversale d'une tige de *Thymus palleescens*



(Gr : 40 × 10)

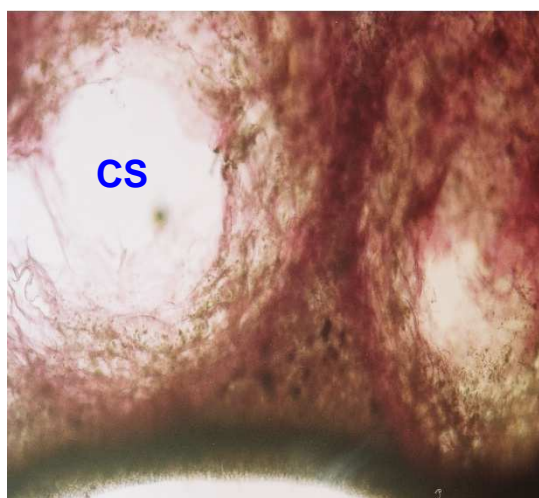
Figure 26 : Coupe transversale d'une feuille de *Thymus palleescens*

Seuls les poils glandulaires et sécréteurs ont l'aptitude de biosynthétiser, sécréter et séquestrer les huiles essentielles en quantité significative (Sharma *et al.*, 2003).

Après examen des différentes coupes, nous remarquons que ces poils sont beaucoup plus abondants sur les feuilles que sur les tiges. Par ailleurs, les dépôts exogènes d'huiles suggèrent la non nécessité d'un broyage de la matière végétale.

1.2 Cas des cupressacées

Les coupes histologiques effectuées sur les feuilles et fruits de *Juniperus phoenicea* révèlent la présence de canaux sécréteurs (CS) comme l'illustrent les figures 27 et 28.



(Gr : 40 × 10)

Figure 27 : Coupe transversale de fruit de *Juniperus phoenicea*



(Gr : 40 × 10)

Figure 28: Coupe transversale de feuille de *Juniperus phoenicea*

Compte tenu de l'organisation histologique des canaux sécréteurs, on constate que les huiles essentielles des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea* sont à dépôt endogène, ce qui nécessite un broyage de la matière végétale afin de faciliter leur extraction et obtenir de meilleurs rendements.

2 Rendement de l'extraction en HE

2.1 Le Thym

Le tableau 9 illustre les rendements obtenus en HE de l'espèce *Thymus pallescens* avec et sans broyage.

Tableau 9: Rendement de l'extraction en HE de *Thymus pallescens*

| Espèce | Rendements en % (ml/100gr) | |
|---------------------------------------|----------------------------|--------------|
| | Avec broyage | Sans broyage |
| <i>Thymus pallescens</i> ^a | 3,95 | 4,80 |
| <i>Thymus pallescens</i> ^b | 2,38 | 3,06 |

a : Thym de Kadiria (notre échantillon). b : Thym de Tablat (Bousbia, 2004).

Les rendements obtenus sont nettement supérieurs à ceux trouvés par **Bousbia (2004)** qui a travaillé sur la même espèce provenant de la région de Tablat. Cet écart est probablement attribué à la différence de provenance de la matière végétale ainsi qu'à la période de récolte.

Hazzit et Baaliouamer (2009) ont travaillé sur *Thymus pallescens* provenant de plusieurs régions d'Algérie et ont enregistré des rendements qui varient entre (4,2%-4,6%) pendant la période de floraison, ce qui est en accord avec les résultats obtenus.

2.2 Le Genévrier

Le tableau 10 illustre les rendements obtenus en HE des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea*.

Tableau 10 : Rendement de l'extraction en HE de *Juniperus phoenicea*.

| Espèce | Rendements en % (ml/100gr) | |
|---|----------------------------|--------|
| | Feuilles | Fruits |
| <i>Juniperus phoenicea</i> ^a | 0,39 | 2,75 |
| <i>Juniperus phoenicea</i> ^b | 0,20 | 2,54 |

a : Notre échantillon ; b : (Angioni et al. 2003)

D'après le tableau ci-dessus on remarque que le rendement en HE des fruits (2,75%) est nettement supérieur à celui des feuilles (0,39%). Ces résultats se rapprochent de ceux rapportés par **Angioni et al. (2003)** qui ont travaillé sur l'espèce de *Juniperus phoenicea* d'Italie.

3 La cinétique d'extraction des HE

Dans le but d'étudier l'influence de l'état de la matière végétale (entière ou broyée) sur la cinétique d'extraction, nous avons suivi l'évolution du rendement en HE de thym en fonction de la durée d'extraction (figure 29).

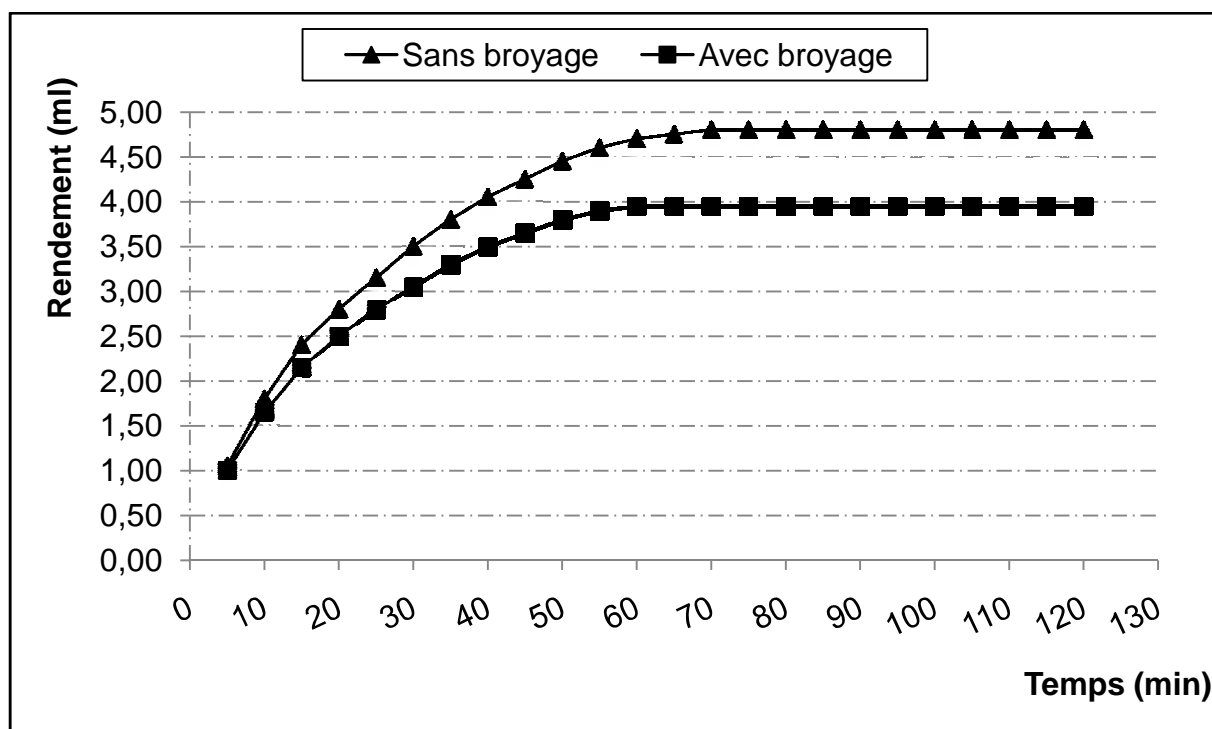


Figure 29 : Evolution du rendement en HE du thym dans le temps

A partir des deux courbes représentées dans la figure ci-dessus, nous constatons que leurs allures générales sont croissantes et qu'elles tendent vers un palier au bout de 70 min. Elles augmentent très rapidement au début de l'extraction jusqu'à 50 min, pour atteindre un rendement égale à 4,45 % et 3,8 % respectivement pour le thym entier et broyé. Nous constatons dès à présent que la valeur du rendement du thym entier est nettement supérieure à celui du thym broyé, ce qui est dû à une déperdition de composés volatils durant le broyage de la matière végétale. Donc, il est plus intéressant d'effectuer une extraction sans broyage de la matière végétale.

Les vitesses instantanées d'extraction de l'HE du thym sont calculées à partir des rendements instantanés en HE notés chaque 5 min (figure 30).

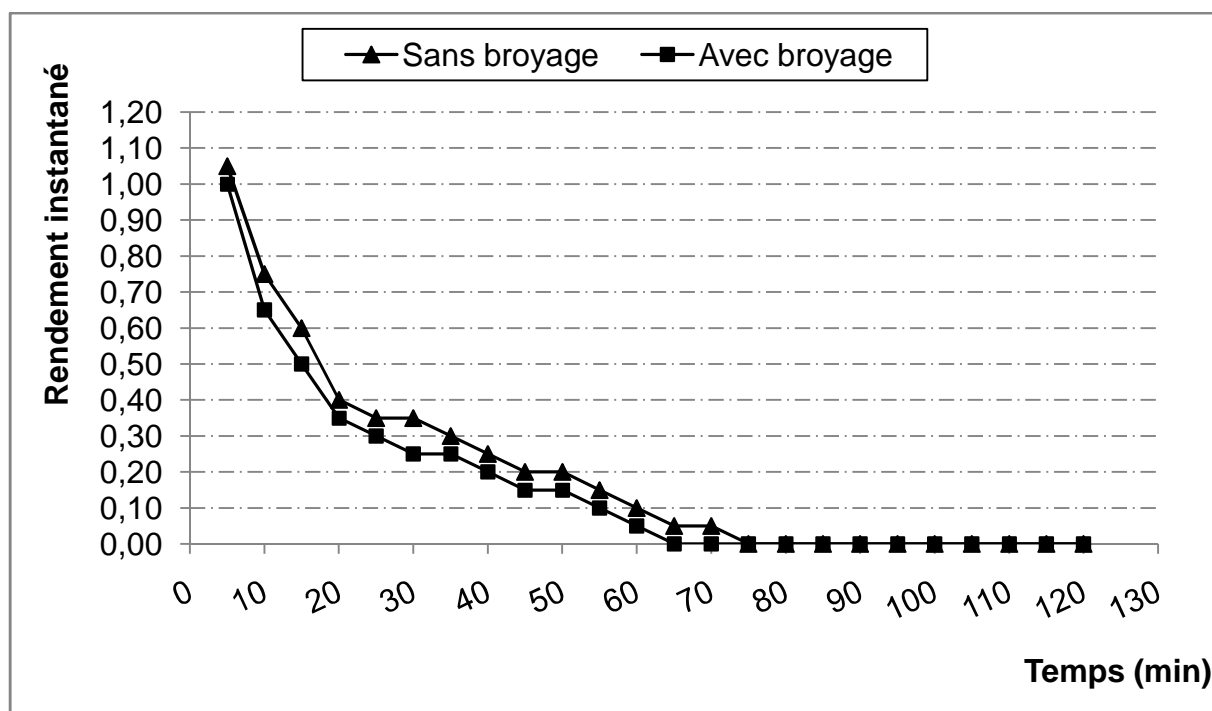


Figure 30 : Evolution de la vitesse d'extraction en fonction de la durée d'extraction de l'HE du thym

La figure ci-dessus illustre une forte diminution de la vitesse durant les 50 premières minutes, ce qui se traduit par un entraînement massif de l'HE où près de 96% et 92% de l'huile est récupérée respectivement avec et sans broyage. Puis à partir de 70 min on remarque un affaiblissement de la vitesse, cela signifie qu'il n'y a plus d'huile à extraire et que l'on peut arrêter l'extraction.

4 Analyse qualitative et semi-quantitative des HE par CPG et CG-SM

La composition chimique des différentes HE a été faite par CPG et CG-SM.

4.1 Analyse des HE des espèces de la famille des lamiacées

4.1.1 *Teucrium polium ssp capitatum*

Le tableau 11 regroupe les résultats de l'analyse par CPG et CG-SM de l'HE de la germandrée.

Tableau 11 : Composition chimique de l'HE de *Teucrium polium* ssp *capitatum* obtenue par CPG et CG-SM

| N° | Nom du composé | IR | | Concentration (%) | Identification |
|----|-----------------------------------|-------|------|-------------------|----------------|
| | | HP5MS | PEG | | |
| 1 | α -Thujene | 925 | 1029 | 0,1 | IR, SM, Etalon |
| 2 | α-Pinene | 935 | 1026 | 4,1 | IR, SM, Etalon |
| 3 | 2,4(10)-thujadiene | 945 | - | t | IR, SM |
| 4 | Camphene | 948 | 1072 | 0,2 | IR, SM, Etalon |
| 5 | Sabinene | 972 | 1132 | t | IR, SM |
| 6 | β-Pinene | 976 | 1119 | 10,5 | IR, SM, Etalon |
| 7 | 1-Octen-3-ol | 986 | 1462 | 0,2 | IR, SM |
| 8 | β -Myrcene | 992 | 1173 | 1,6 | IR, SM, Etalon |
| 9 | α -Phellandrene | 1005 | 1177 | 0,1 | IR, SM, Etalon |
| 10 | α -Terpinene | 1017 | 1192 | 0,2 | IR, SM, Etalon |
| 11 | p-Cymene | 1026 | 1290 | 0,8 | IR, SM |
| 12 | Limonene | 1029 | 1212 | 3,1 | IR, SM, Etalon |
| 13 | 1,8-Cineole | 1033 | 1223 | 0,1 | IR, SM, Etalon |
| 14 | cis- β -Ocimene | 1042 | 1233 | 0,1 | IR, SM |
| 15 | trans- β -Ocimene | 1048 | 1272 | 0,2 | IR, SM |
| 16 | γ -Terpinene | 1061 | 1261 | 0,7 | IR, SM, Etalon |
| 17 | Terpinolene | 1087 | 1300 | 0,2 | IR, SM, Etalon |
| 18 | Linalool | 1104 | 1558 | 0,5 | IR, SM, Etalon |
| 19 | β -Thujone | 1105 | 1426 | 0,1 | IR, SM |
| 20 | cis-p-2-menthen-1-ol | 1107 | - | 0,1 | IR, SM |
| 21 | Chrysanthenone | 1110 | 1489 | 0,1 | IR, SM |
| 22 | Campholaldehyde | 1113 | 1401 | 0,2 | IR, SM |
| 23 | 4-Acetyl-1methylcyclohexene | 1117 | - | 0,2 | IR, SM |
| 24 | β -Pinone (nopinone) | 1119 | 1562 | 0,1 | IR, SM |
| 25 | trans-Pinocarveol | 1126 | 1629 | 1,0 | IR, SM |
| 26 | Camphor | 1144 | 1556 | 0,3 | IR, SM |
| 27 | Verbenol | 1146 | 1683 | 0,3 | IR, SM |
| 28 | p-Menth-4(8)-ene | 1158 | - | 0,1 | IR, SM |
| 29 | Pinocarvone | 1162 | 1586 | 0,5 | IR, SM |
| 30 | Borneol | 1167 | 1732 | 0,2 | IR, SM |
| 31 | Pinocamphone | 1172 | 1530 | 0,1 | IR, SM |
| 32 | 4-Terpineol | 1177 | 1613 | 0,4 | IR, SM, Etalon |
| 33 | p-Cymen-8-ol | 1187 | 1864 | 0,1 | IR, SM |
| 34 | α -Terpineol | 1194 | 1723 | 0,1 | IR, SM, Etalon |
| 35 | Myrtenal | 1196 | 1649 | 0,9 | IR, SM |
| 36 | Myrtenol | 1198 | 1804 | 0,8 | IR, SM |
| 37 | Verbenone | 1203 | 1730 | 0,1 | IR, SM |
| 38 | trans-Carveol | 1205 | 1805 | 0,1 | IR, SM |
| 39 | Cuminaldehyde | 1215 | 1748 | 0,1 | IR, SM |
| 40 | Carvone | 1218 | 1704 | 0,1 | IR, SM |
| 41 | Bornyl acetate | 1285 | 1608 | 0,1 | IR, SM |
| 42 | α -Fenchyl acetate | 1293 | 1690 | 0,1 | IR, SM |
| 43 | Thymol | 1302 | 2212 | 0,3 | IR, SM, Etalon |
| 44 | Carvacrol | 1318 | 2238 | 5,5 | IR, SM, Etalon |

| | | | | | |
|---------------------------------|---|------|------|-------------|--------|
| 45 | 1,5,5-Trimethyl-6-methylene-cyclohexene | 1337 | - | 0,2 | IR, SM |
| 46 | α -Cubebene | 1348 | 1457 | 0,2 | IR, SM |
| 47 | Eugenol | 1353 | 2172 | 0,1 | IR, SM |
| 48 | α -Copaene | 1372 | 1509 | 1,0 | IR, SM |
| 49 | β -Bourbonene | 1380 | 1536 | 0,8 | IR, SM |
| 50 | β -Cubebene | 1390 | 1549 | 0,2 | IR, SM |
| 51 | β -Elemene | 1394 | 1600 | 0,2 | IR, SM |
| 52 | α -Gurjunene | 1403 | 1549 | 0,2 | IR, SM |
| 53 | β -Caryophyllene | 1415 | 1612 | 0,6 | IR, SM |
| 54 | β -Gurjunene | 1432 | 1532 | 0,2 | IR, SM |
| 55 | α -Bergamotene | 1434 | 1563 | 0,2 | IR, SM |
| 56 | α -Amorphene | 1441 | - | 0,1 | IR, SM |
| 57 | α -Humulene | 1452 | 1687 | 0,2 | IR, SM |
| 58 | Allo-aromadendrene | 1457 | 1663 | 0,4 | IR, SM |
| 59 | Germacrene D | 1477 | 1726 | 15,3 | IR, SM |
| 60 | Bicyclosesquiphellandrene | 1488 | - | 0,4 | IR, SM |
| 61 | Bicyclogermacrene | 1492 | 1766 | 5,5 | IR, SM |
| 62 | γ -Cadinene | 1511 | 1776 | 1,6 | IR, SM |
| 63 | δ -Cadinene | 1518 | 1772 | 2,9 | IR, SM |
| 64 | Cadina-1,4-diene | 1527 | 1799 | 0,3 | IR, SM |
| 65 | α -Cadinene | 1529 | 1785 | 0,1 | IR, SM |
| 66 | α -Calacorene | 1530 | 1895 | 0,2 | IR, SM |
| 67 | Germacrene B | 1558 | - | 0,6 | IR, SM |
| 68 | Germacrene D-4-ol | 1568 | - | 0,2 | IR, SM |
| 69 | Spathulenol | 1570 | 2154 | 2,3 | IR, SM |
| 70 | Globulol | 1574 | 2098 | 0,5 | IR, SM |
| 71 | Viridiflorol | 1587 | 2104 | 1,9 | IR, SM |
| 72 | Caryophyalldienol | 1628 | - | 0,4 | IR, SM |
| 73 | t-Cadinol | 1639 | 2198 | 18,3 | IR, SM |
| 74 | α -Cadinol | 1650 | 2259 | 1,9 | IR, SM |
| 75 | Nootkatone | 1774 | - | 0,1 | IR, SM |
| 76 | Hexahydrofarnesyl acetone | 1849 | 2131 | 0,2 | IR, SM |
| 77 | Hexadecanoic acid (palmitic acid) | 1982 | - | 0,1 | IR, SM |
| 78 | Phytol | 2121 | - | t | IR, SM |
| 79 | Pentacosane | 2500 | 2500 | t | IR, SM |
| Composés identifiés (%) | | | | 92,1 | |
| Hydrocarbures Monoterpéniques | | | | 22,0 | |
| Monoterpènes oxygénés | | | | 12,4 | |
| Hydrocarbures Sesquiterpéniques | | | | 31,2 | |
| sesquiterpènes oxygénés | | | | 25,5 | |
| Autres | | | | 1,0 | |

IR : Indices de retentions relatifs au n-alcanes C₇-C₂₅ calculés sur des colonnes capillaires polaire (PEG) et non polaire (HP5MS). **SM** : Comparaison avec les spectres de masses fournis par la librairie du spectromètre de masse. **t** : Concentration inférieure à 0,05%.

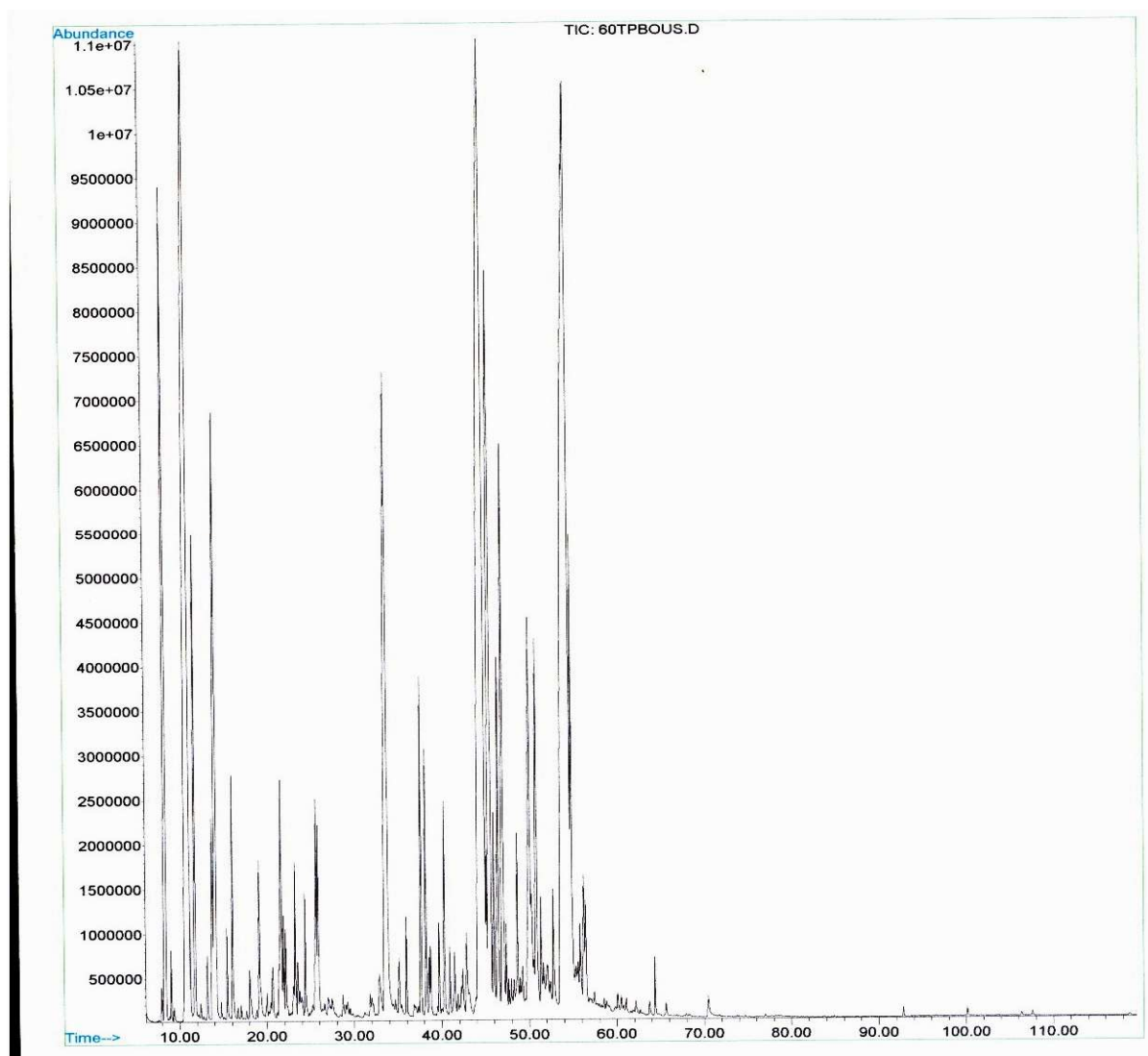


Figure 31 : Chromatogramme de l'HE de *Teucrium polium ssp capitatum* obtenu par CG-SM

L'analyse chromatographique de l'HE de cette espèce a permis d'identifier 79 composés ce qui correspond à 92,1% de l'ensemble des composés de l'HE analysée.

Le tableau 11 montre une légère dominance des hydrocarbures sesquiterpéniques et de leurs dérivés oxygénés représentant 56,7% de l'HE contre 34,4% pour les composés monoterpéniques. Parmi les composés majoritaires on trouve le **t-Cadinol** avec une teneur de **18,3%** suivi de près par le Germacrene D (15,3%) et le β -Pinene (10,5%).

Ces composés majoritaires ont été comparés à ceux trouvés par **Cozzani et al. (2005)** et **Hammoum et Kerbouche (2007)** qui ont travaillé sur la même espèce provenant de Corse et de kadiria (Bouira) respectivement.

Tableau 12 : Composés majoritaires de germandrée de trois régions différentes (Kadiria, Boussaâda, Corse).

| Nom du composé | HE de Kadiria(%) | HE de Boussaâda(%) | HE de Corse(%) |
|-----------------------------------|------------------|--------------------|----------------|
| α-Pinene | 6,2 | 4,1 | 28,8 |
| β -Pinene | 17,0 | 10,5 | 7,2 |
| β -Myrcene | 4,7 | 1,6 | 1,2 |
| p-Cymene | 0,7 | 0,8 | 7,0 |
| Limonene | 5,1 | 3,1 | 3,0 |
| Germacrene D | 20,4 | 15,3 | - |
| Bicyclogermacrene | 6,2 | 5,5 | - |
| t-Cadinol | 2,6 | 18,3 | - |

HE de Boussaâda : Notre échantillon. **HE de Kadiria :** Hammoum et Kerbouche, 2007.
HE de Corse : Cozzani et al., 2005.

Les principaux composés figurant dans le tableau ci-dessus sont illustrés graphiquement par la figure 32.

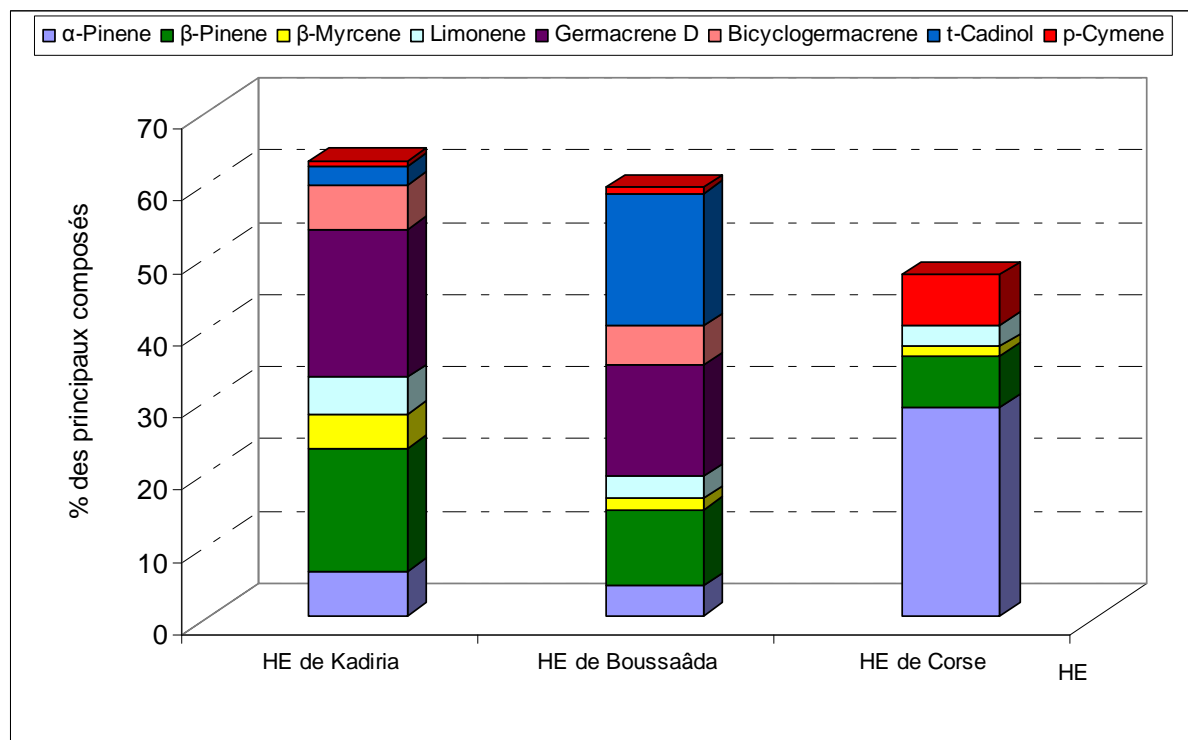


Figure 32 : Composés majoritaires de germandrée de trois régions différentes (Kadiria, Boussaâda, Corse).

La comparaison des résultats (figure 32) révèle une différence dans la composition chimique des trois HE. Cette différence est d'ordre quantitatif dans le cas des HE de *Teucrium polium* ssp *capitatum* de Kadiria et Boussaâda, et d'ordre qualitatif et quantitatif pour l'HE de la même espèce provenant de Corse où des composés tels que le Germacrene D ou le t-Cadinol majoritairement présents dans les deux échantillons (Kadiria et Boussaâda) sont absents de l'HE de germandrée de Corse.

Par conséquent, nous pouvons conclure que les HE de l'espèce *Teucrium polium* ssp *capitatum* diffèrent dans leurs compositions chimiques. Ce polymorphisme au sein de la même espèce peut être dû à la variabilité génétique de la plante, à la période de récolte, aux facteurs édapho-climatiques ou bien aux conditions d'extractions (Pereira et al., 2000 ; Hudaib et al., 2002 ; De Feo et al., 2003).

4.1.2 *Thymus pallescens*

Le tableau ci-dessous donne les composés identifiés et leurs proportions dans l'HE de *Thymus pallescens*.

Tableau 13 : Composition chimique de l'HE de *Thymus pallescens* obtenue par CPG et CG-SM

| N° | Nom du composé | IR | | Concentration (%) | Identification |
|----|--------------------------------------|-------|------|-------------------|----------------|
| | | HP5MS | PEG | | |
| 1 | Tricyclene | 923 | 1017 | t | IR, SM |
| 2 | α -Thujene | 925 | 1029 | 1,4 | IR, SM, Etalon |
| 3 | α -Pinene | 935 | 1026 | 1,1 | IR, SM, Etalon |
| 4 | Camphene | 948 | 1072 | 0,1 | IR, SM, Etalon |
| 5 | Sabinene | 972 | 1132 | 0,1 | IR, SM |
| 6 | β -Pinene | 976 | 1119 | 0,1 | IR, SM, Etalon |
| 7 | 1-Octen, 3-Ol | 982 | 1411 | 0,1 | IR, SM |
| 8 | 3-Octanone | 987 | 1225 | 0,1 | IR, SM |
| 9 | β -Myrcene | 992 | 1173 | 1,5 | IR, SM, Etalon |
| 11 | 3-Octanol | 1001 | 1393 | 0,1 | IR, SM |
| 12 | α -Phellandrene | 1005 | 1177 | 0,2 | IR, SM, Etalon |
| 13 | δ -3-Carene | 1009 | 1163 | 0,1 | IR, SM, Etalon |
| 14 | α -Terpinene | 1017 | 1192 | 1,8 | IR, SM, Etalon |
| 15 | p-Cymene | 1026 | 1290 | 10,3 | IR, SM |
| 16 | β -Phellandrene | 1030 | 1222 | 0,8 | IR, SM |
| 17 | <i>trans</i> - β -Ocimene | 1048 | 1272 | 0,1 | IR, SM |
| 18 | γ-Terpinene | 1061 | 1261 | 13,4 | IR, SM, Etalon |
| 19 | <i>cis</i> -Sabinene hydrate | 1069 | 1567 | 0,2 | IR, SM |

| | | | | | |
|---------------------------------|--------------------------------|------|------|-------------|----------------|
| 20 | 1-Nonen-3-ol | 1085 | 1525 | t | IR, SM |
| 21 | Terpinolene | 1087 | 1300 | t | IR, SM, Etalon |
| 22 | <i>trans</i> -Sabinene Hydrate | 1099 | 1482 | t | IR, SM |
| 23 | Linalool | 1104 | 1558 | 3,9 | IR, SM, Etalon |
| 24 | α -Campholenal | 1125 | 1502 | t | IR, SM |
| 25 | Borneol | 1167 | 1732 | 0,3 | IR, SM |
| 26 | Terpinen-4-ol | 1177 | 1613 | 0,1 | IR, SM, Etalon |
| 27 | Carvacrol methyl ether | 1242 | 1976 | 0,1 | IR, SM |
| 28 | Thymol | 1302 | 2212 | t | IR, SM, Etalon |
| 29 | Carvacrol | 1318 | 2238 | 57,7 | IR, SM, Etalon |
| 30 | α -Copaene | 1372 | 1509 | 0,1 | IR, SM |
| 31 | β -Bourbonene | 1380 | 1536 | 0,1 | IR, SM |
| 32 | α -Gurjunene | 1403 | 1549 | 0,5 | IR, SM |
| 33 | β -Caryophyllene | 1415 | 1612 | 1,6 | IR, SM |
| 34 | α -Humulene | 1450 | 1687 | 0,1 | IR, SM |
| 35 | Germacrene D | 1477 | 1726 | 1,0 | IR, SM |
| 36 | Bicyclogermacrene | 1492 | 1766 | 0,6 | IR, SM |
| 37 | α -Muurolene | 1495 | 1740 | t | IR, SM |
| 38 | β -Bisabolene | 1505 | 1748 | 0,1 | IR, SM |
| 39 | γ -Cadinene | 1511 | 1776 | 0,1 | IR, SM |
| 40 | δ -Cadinene | 1518 | 1772 | 0,2 | IR, SM |
| 41 | α -Bisabolene | 1537 | 1776 | 0,1 | IR, SM |
| 42 | Germacrene D-4-ol | 1568 | - | 0,2 | IR, SM |
| 43 | Spathulenol | 1570 | 2154 | 0,2 | IR, SM |
| 44 | Caryophyllene oxide | 1573 | 2014 | 0,3 | IR, SM |
| 45 | Globulol | 1574 | 2098 | t | IR, SM |
| 46 | Ledol | 1580 | 2057 | t | IR, SM |
| 47 | β -Eudesmol | 1644 | 2255 | 0,1 | IR, SM |
| 48 | α -Cadinol | 1650 | 2259 | t | IR, SM |
| Composés identifiés (%) | | | | 98,9 | |
| Hydrocarbures Monoterpéniques | | | | 31,0 | |
| Monoterpènes oxygénés | | | | 62,3 | |
| Hydrocarbures Sesquiterpéniques | | | | 4,5 | |
| Sesquiterpènes oxygénés | | | | 0,8 | |
| Autres | | | | 0,3 | |

IR : Indices de retentions relatifs au n-alcanes C₇-C₂₅ calculés sur des colonnes capillaires polaire (PEG) et non polaire (HP5MS). **SM** : Comparaison avec les spectres de masses fournis par la librairie du spectromètre de masse. **t** : Concentration inférieure à 0,05%.

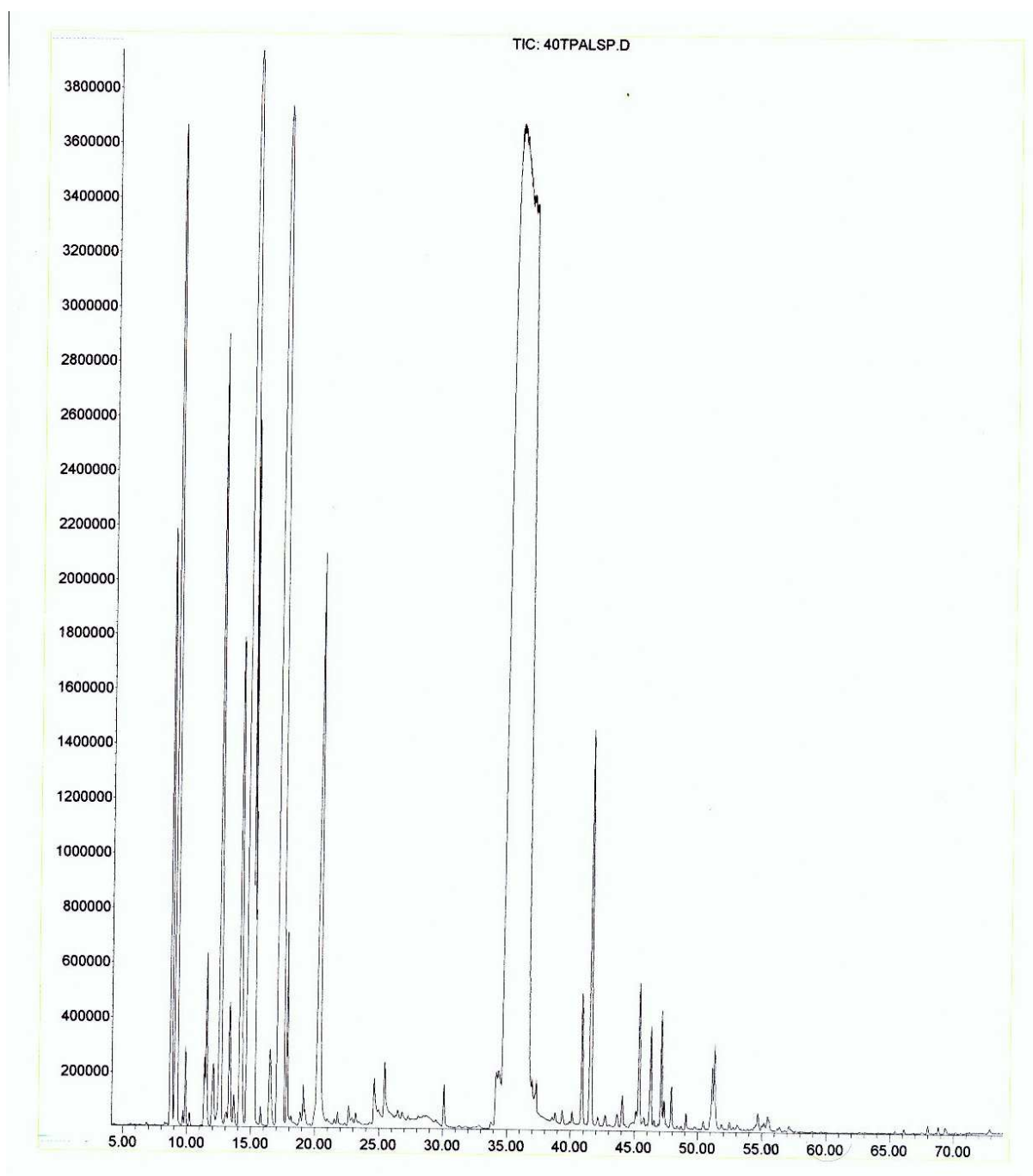


Figure 33 : Chromatogramme de l'HE de *Thymus pallescens* obtenu par CG-SM

Les 48 composés identifiés correspondent à une teneur de 98,9% de l'ensemble de l'HE injectée. Nous remarquons une nette dominance des composés monoterpéniques (93,3%) et plus précisément des monoterpènes oxygénés avec un taux de **62,3%**.

Le Carvacrol qui est un monoterpène oxygéné est représenté par un taux de 57,7%, suivi de ses deux précurseurs biogénétiques qui sont le γ -Terpinene et le p-Cymene qui représentent dans l'ordre un taux de 13,4 et 10,3%.

Les résultats trouvés, ont été comparés à ceux cités par **Hazzit et al. (2009)** qui ont travaillé sur la même espèce provenant de plusieurs régions (Sidi Aissa, Boussaâda et Tablat).

Tableau 14 : Comparaison entre la composition chimique d'espèces de *Thymus pallescens* de régions différentes

| Nom du composé | HE de Kadiria | HE de Sidi Aissa | HE de Boussaâda | HE de Tablat |
|---------------------|---------------|------------------|-----------------|--------------|
| p-Cymene | 10,3 | 17,3 | 10,0 | 16,2 |
| γ -Terpinene | 13,4 | 12,3 | 14,2 | 16,6 |
| Carvacrol | 57,7 | 50,9 | 46,9 | 41,5 |

HE de Kadiria : Notre échantillon ; HE de sidi Aissa, Boussaâda, Tablat (**Hazzit et al., 2009**).

Le tableau 14 est illustré graphiquement par la figure 34.

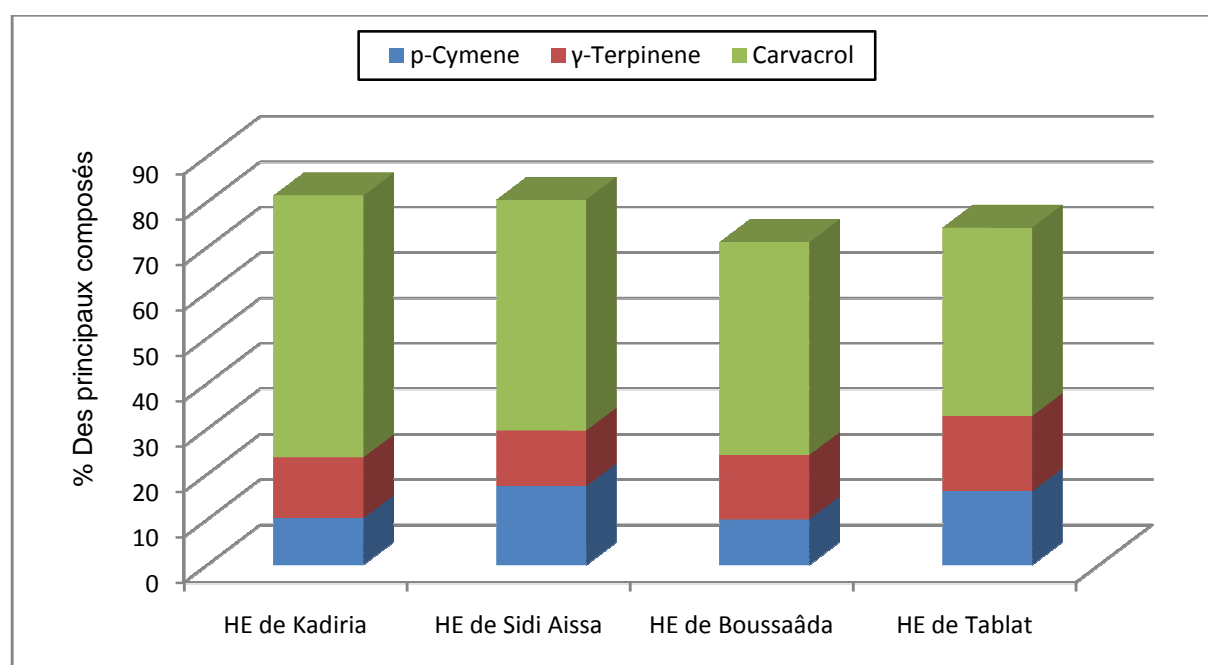


Figure 34 : Comparaison entre la composition chimique d'espèces de *Thymus pallescens* de régions différentes

Nous constatons que les résultats obtenus coïncident avec ceux trouvés par **Hazzit et al. (2009)** où les principaux composés sont similaires et ne diffèrent que par leurs teneurs. Les principaux composés sont le p-cymene, γ -Terpinene et le Carvacrol avec la dominance du Carvacrol. De manière générale on peut dire que cette espèce, se caractérise par une grande stabilité dans sa composition chimique et que le chémotype ayant le p-cymene, γ -Terpinene et le Carvacrol comme composés principaux semble être le plus répandu dans la partie centrale du pays.

4.1.3 *Satureja Calamintha ssp nepeta*

Nous reportons dans le tableau ci-dessous les résultats de l'analyse chromatographique de l'HE de calament.

Tableau 15 : Composition chimique de l'HE de *Satureja Calamintha ssp nepeta* obtenue par CPG et CG-SM

| N° | Nom du composé | IR | | Concentration (%) | Identification |
|---------------------------------|-----------------------|-------|------|-------------------|----------------|
| | | HP5MS | PEG | | |
| 1 | α -Pinene | 939 | 1026 | 0,2 | IR, SM |
| 2 | Sabinene | 973 | 1132 | t | IR, SM, Etalon |
| 3 | β -Pinene | 978 | 1119 | 0,1 | IR, SM, Etalon |
| 4 | β -Myrcene | 992 | 1173 | t | IR, SM, Etalon |
| 5 | 3-Octanol | 1001 | 1393 | 0,1 | IR, SM |
| 6 | p-Cymene | 1026 | 1290 | t | IR, SM, Etalon |
| 7 | Limonene | 1044 | 1212 | 0,1 | IR, SM |
| 8 | Eucalyptol | 1046 | 1223 | 2,8 | IR, SM |
| 9 | cis -Sabinene hydrate | 1075 | 1567 | t | IR, SM, Etalon |
| 10 | Menthone | 1155 | 1462 | 0,2 | IR, SM |
| 11 | Citronellal | 1159 | 1488 | t | IR, SM, Etalon |
| 12 | Isomenthone | 1163 | 1490 | 19,6 | IR, SM, Etalon |
| 13 | neo-Menthol | 1170 | 1599 | 33,0 | IR, SM, Etalon |
| 14 | Neoisomenthol | 1171 | 1626 | 0,1 | IR, SM |
| 15 | Pulegone | 1237 | 1645 | 39,5 | IR, SM |
| 16 | Piperitone oxide | 1262 | - | 1,5 | IR, SM |
| 17 | Isopiperitenone | 1281 | - | t | IR, SM, Etalon |
| 18 | Carvacrol | 1317 | 2238 | 0,2 | IR, SM |
| 19 | Piperitenone | 1341 | 1851 | 0,1 | IR, SM |
| 20 | Piperitenone oxide | 1363 | - | 0,4 | IR, SM, Etalon |
| 21 | α -Copaene | 1372 | 1509 | t | IR, SM |
| 22 | β -Bourbonene | 1380 | 1536 | t | IR, SM, Etalon |
| 23 | Geranyl acetone | 1385 | 1770 | t | IR, SM |
| 24 | Palustrol | 1558 | 1953 | 0,1 | IR, SM |
| 25 | Spathulenol | 1571 | 2154 | 0,1 | IR, SM, Etalon |
| 26 | Caryophyllene oxide | 1578 | 2014 | 0,1 | IR, SM |
| Composés identifiés (%) | | | | 98,2 | |
| Hydrocarbures Monoterpéniques | | | | 0,4 | |
| Monoterpènes oxygénés | | | | 97,4 | |
| Hydrocarbures Sesquiterpéniques | | | | T | |
| Sesquiterpènes oxygénés | | | | 0,3 | |
| Autres | | | | 0,1 | |

IR : Indices de retentions relatifs au n-alcanes C₇-C₂₅ calculés sur des colonnes capillaires polaire (PEG) et non polaire (HP5MS). **SM** : Comparaison avec les spectres de masses fournis par la librairie du spectromètre de masse. **t** : Concentration inférieure à 0,05%.

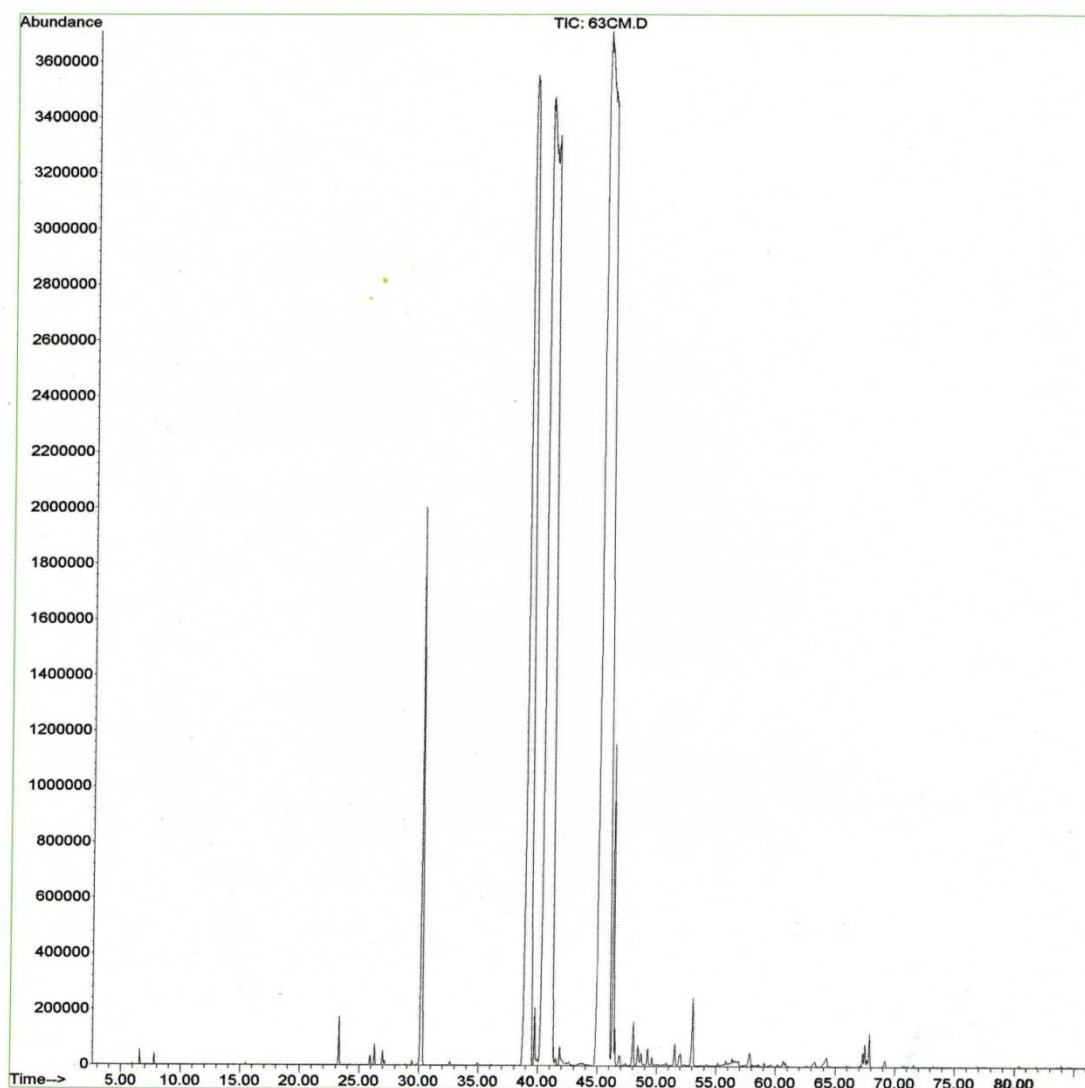


Figure 35 : Chromatogramme de l'HE de *Satureja calamintha ssp. nepeta* obtenu par CG-SM

L'analyse par CG et CG/SM de l'HE de *Satureja Calamintha ssp nepeta* (tableau 15) a permis l'identification de 26 composés correspondant à une teneur de 98,2% de l'ensemble de HE injectée. Les monoterpènes oxygénés avec 97,4% constituent la quasi-totalité de cette HE. Les principaux composés sont le pulegone (39,5%), le neo-menthol (33%) et l'isomenthone (19,6%). Si l'on compare les principaux composés de cette huile avec ceux de la même espèce provenant de corse, on peut dire que les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par **Rossi et al. (2007)** où le pulegone représente le composé principal avec un taux de 49% suivi de menthone (21,5%) et de l'isomenthone (8,3%).

4.2 Analyse des HE des espèces de la famille des cupressacées

4.2.1 *Juniperus phoenicea*

Le tableau ci-dessous représente la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea*.

Tableau 16 : Composition chimique de l'HE de *Juniperus phoenicea* obtenue par CPG et CG-SM

| N° | Nom du composé | IR | | Concentration (%) | | Identification |
|----|-------------------------------|-------|------|-------------------|-------------|----------------|
| | | HP5MS | PEG | Feuilles | Fruits | |
| 1 | Tricyclene | 923 | - | t | t | IR, SM, Etalon |
| 2 | α -Pinene | 939 | 1026 | 34.4 | 80.8 | IR, SM, Etalon |
| 3 | 2,4(10)-Thujadien | 945 | - | 0.1 | 0.1 | IR, SM, Etalon |
| 4 | α -Fenchene | 949 | 1059 | 0.1 | 0.1 | IR, SM |
| 5 | Camphene | 951 | 1072 | 0.1 | 0.2 | IR, SM, Etalon |
| 6 | Verbenene | 953 | 1121 | t | 0.1 | IR, SM |
| 7 | Sabinene | 972 | 1132 | - | 0.1 | IR, SM |
| 8 | β -Pinene | 978 | 1119 | 0.3 | 1.8 | IR, SM |
| 9 | β -Myrcene | 992 | 1173 | 0.4 | 0.6 | IR, SM, Etalon |
| 10 | α -Phellandrene | 1007 | 1177 | t | - | IR, SM, Etalon |
| 11 | δ -3-Carene | 1009 | 1163 | 5.9 | 1.9 | IR, SM, Etalon |
| 12 | p-Cymene | 1026 | 1290 | 0.2 | 0.2 | IR, SM |
| 13 | β -Phellandrene | 1030 | 1222 | 1.7 | 0.1 | IR, SM, Etalon |
| 14 | limonene | 1044 | 1212 | - | 0.6 | IR, SM |
| 15 | γ -Terpinene | 1060 | 1261 | t | - | IR, SM, Etalon |
| 16 | α -Pinene oxide | 1063 | - | - | 0.2 | IR, SM |
| 17 | Fencholenic aldehyde | 1088 | - | t | 0.1 | IR, SM |
| 18 | Terpinolene | 1093 | 1300 | 0.1 | - | IR, SM |
| 19 | p-Cymenene | 1095 | 1452 | t | t | IR, SM, Etalon |
| 20 | Linalool | 1104 | 1558 | 0.1 | - | IR, SM, Etalon |
| 21 | α -Campholene aldehyde | 1113 | 1401 | 0.2 | 0.5 | IR, SM, Etalon |
| 22 | Camphor | 1126 | 1629 | t | 0.2 | IR, SM |
| 23 | Pinocarveol | 1137 | 1664 | 0.1 | 0.8 | IR, SM |
| 24 | Verbenol | 1146 | 1686 | - | 0.6 | IR, SM |
| 25 | Isomenthone | 1163 | 1490 | t | - | IR, SM |
| 26 | 4-Terpineol | 1177 | 1613 | - | t | IR, SM |
| 27 | p-Cymen-8-ol | 1187 | 1864 | - | 0.1 | IR, SM |
| 28 | α -Terpineol | 1194 | 1723 | 0.1 | 0.1 | IR, SM |
| 29 | Myrtenal | 1196 | 1649 | t | 0.1 | IR, SM |
| 30 | Myrtenol | 1198 | 1804 | - | 0.1 | IR, SM |
| 31 | Estragol | 1200 | 1655 | t | - | IR, SM |

| | | | | | | |
|----|------------------------------|------|------|------------|------------|----------------|
| 32 | Carveol | 1205 | 1805 | - | 0.1 | IR, SM |
| 33 | Fenchyl acetate | 1227 | 1490 | 0.1 | - | IR, SM |
| 34 | Citronellol | 1233 | 1762 | 0.2 | - | IR, SM |
| 35 | Pulegone | 1237 | 1645 | 0.1 | - | IR, SM |
| 36 | Cuminaldehyde | 1241 | 1815 | t | - | IR, SM |
| 37 | Linalyl acetate | 1258 | 1663 | 0.6 | t | IR, SM |
| 38 | dihydrocarvyl acetate | 1275 | 1585 | 0.2 | t | IR, SM |
| 39 | Bornyl acetate | 1285 | 1608 | 0.1 | 0.1 | IR, SM |
| 40 | Carvacrol | 1317 | 2238 | 0.4 | - | IR, SM, Etalon |
| 41 | α -Cubebene | 1346 | 1457 | 0.1 | - | IR, SM |
| 42 | Terpinenyl acetate | 1356 | 1714 | 7.2 | 0.8 | IR, SM, Etalon |
| 43 | Neryl acetate | 1366 | 1733 | t | - | IR, SM |
| 44 | α -Copaene | 1372 | 1509 | 0.2 | t | IR, SM |
| 45 | β -Bourbonene | 1380 | 1536 | 0.1 | - | IR, SM |
| 46 | Geranyl acetate | 1385 | 1770 | t | - | IR, SM |
| 47 | β -Elemene | 1394 | 1600 | 0.2 | 0.2 | IR, SM |
| 48 | β -Caryophyllene | 1417 | 1620 | 2.1 | 0.4 | IR, SM |
| 49 | Aromadendrene | 1437 | 1625 | t | t | IR, SM |
| 50 | γ -Elemene | 1437 | - | 0.2 | - | IR, SM |
| 51 | Longipinene | 1441 | - | 0.1 | - | IR, SM, Etalon |
| 52 | α -Humulene | 1452 | 1687 | 1.0 | 0.2 | IR, SM, Etalon |
| 53 | γ -Muurolene | 1472 | 1690 | 0.3 | 0.1 | IR, SM |
| 54 | Germacrene D | 1480 | 1742 | 0.6 | t | IR, SM |
| 55 | β -Selinene | 1485 | 1743 | 0.2 | - | IR, SM |
| 56 | Ledene | 1486 | 1713 | - | t | IR, SM |
| 57 | Epibicyclosesquiphellandrene | 1488 | - | 3.4 | 0.1 | IR, SM |
| 58 | α -Muurolene | 1497 | 1740 | 0.8 | 0.2 | IR, SM |
| 59 | γ -Cadinene | 1511 | 1776 | 0.4 | 0.1 | IR, SM |
| 60 | cis-Calamenene | 1516 | 1835 | 4.3 | 0.2 | IR, SM |
| 61 | δ -Cadinene | 1519 | 1772 | 5.8 | 0.1 | IR, SM |
| 62 | Epizonarene | 1520 | - | 0.3 | - | IR, SM |
| 63 | α -Calacorene | 1530 | 1895 | 0.3 | t | IR, SM |
| 64 | Elemol | 1549 | 2081 | 0.7 | 0.1 | IR, SM |
| 65 | Germacrene B | 1558 | - | 0.2 | - | IR, SM |
| 66 | Nerolidol | 1565 | 2050 | 0.3 | 0.1 | IR, SM |
| 67 | Germacrene D-4-Ol | 1569 | - | 0.1 | - | IR, SM |
| 68 | Caryophyllene oxide | 1573 | 2014 | 3.9 | 3.9 | IR, SM |
| 69 | Salvial-4(14)-en-1-one | 1582 | - | 0.2 | 0.1 | IR, SM |
| 70 | Humulene oxide | 1642 | 2015 | - | 1.6 | IR, SM |
| 71 | β -Eudesmol | 1644 | 2255 | 0.7 | - | IR, SM |
| 72 | t-Muurolol | 1647 | - | 0.6 | - | IR, SM |

| | | | | | | |
|---------------------------------|--------------------|------|-------------|-----|-------------|--------|
| 73 | α -Cadinol | 1650 | 2259 | 1.6 | - | IR, SM |
| 74 | α -Eudesmol | 1896 | 2244 | 0.4 | - | IR, SM |
| 75 | Azunol | 1912 | - | 0.3 | - | IR, SM |
| 76 | Epimanoyl oxide | 2055 | - | 0.4 | - | IR, SM |
| Composés identifiés (%) | | | 82.5 | | 97.8 | |
| Hydrocarbures Monoterpéniques | | | 43.3 | | 86.6 | |
| Monoterpènes oxygénés | | | 9.4 | | 3.8 | |
| Hydrocarbures Sesquiterpéniques | | | 20.6 | | 1.6 | |
| sesquiterpènes oxygénés | | | 9.2 | | 5.8 | |

IR : Indices de retentions relatifs au n-alcanes C₇-C₂₅ calculés sur des colonnes capillaires polaire (PEG) et non polaire (HP5MS). **SM** : Comparaison avec les spectres de masses fournis par la librairie du spectromètre de masse. **t** : Concentration inférieur à 0,05%.

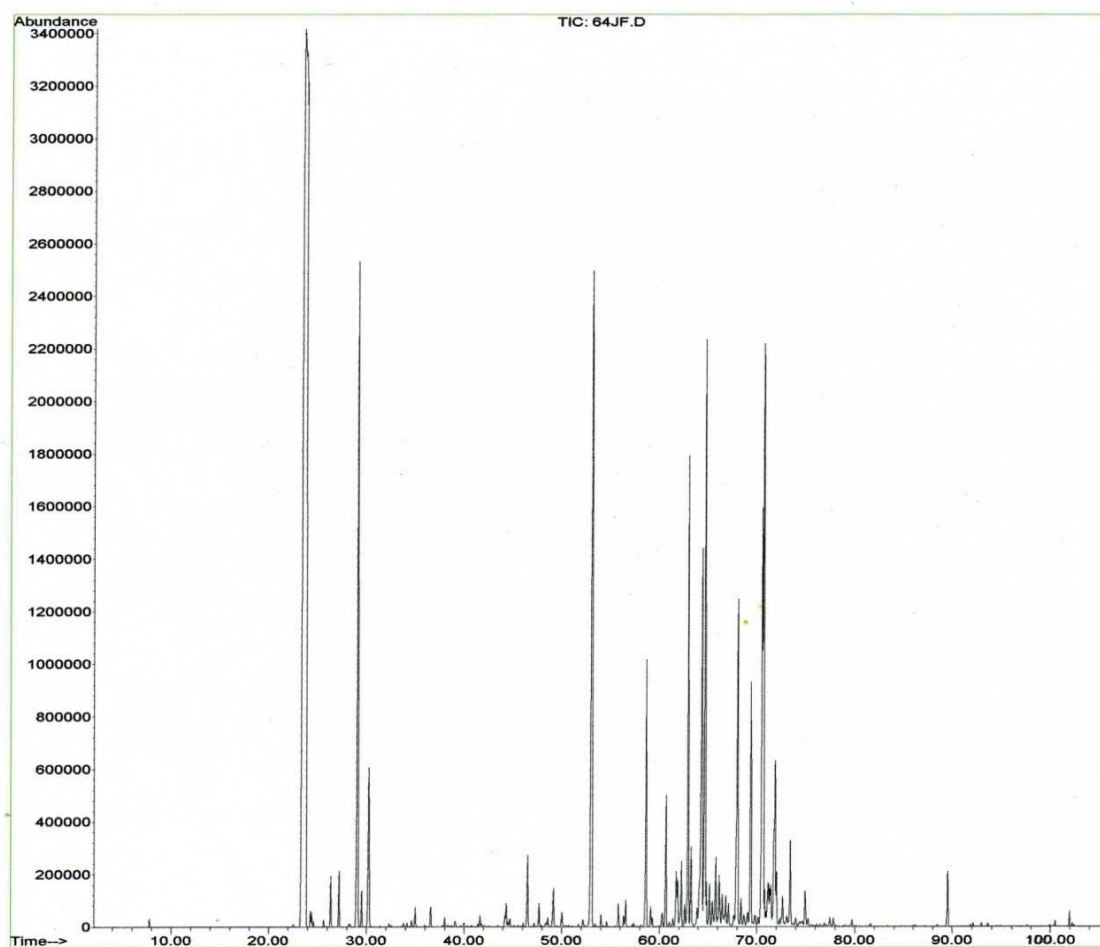


Figure 36 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *Juniperus phoenicea* obtenu par CG-SM

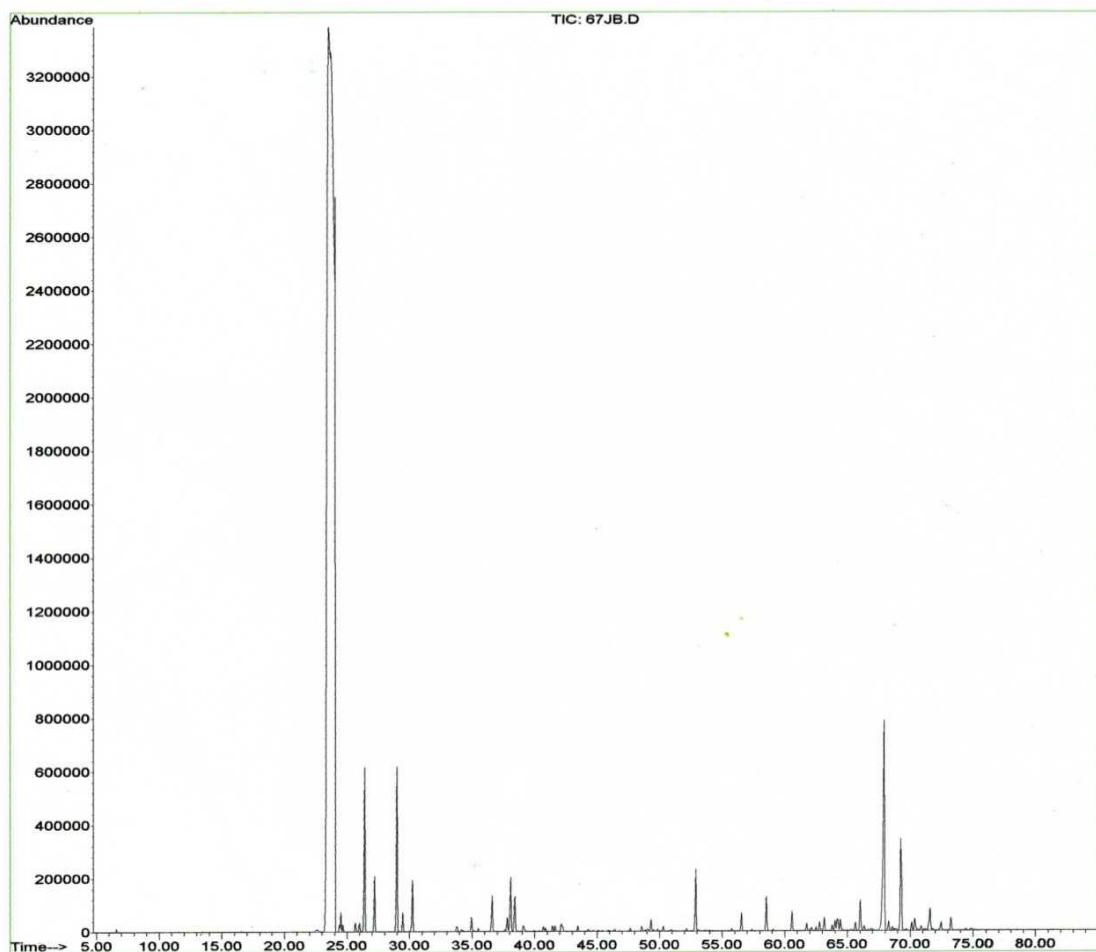


Figure 37 : Chromatogramme de l'HE des fruits de *Juniperus phoenicea* obtenu par CG-SM

L'analyse par CG et CG/MS des huiles essentielles extraites des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea* a permis l'identification de 66 composés représentant 82.5% de l'huile essentielle des feuilles et 49 composés totalisant 97.8 % de l'huile essentielle des fruits (tableau 16). Les hydrocarbures monoterpéniques sont majoritairement présents dans les deux huiles essentielles avec des taux de 86.6% pour les fruits et 43.3% pour les feuilles. En revanche les hydrocarbures sesquiterpéniques sont beaucoup plus présents dans les feuilles (20.6%) que dans les fruits (1.6%).

Les deux huiles essentielles diffèrent entre elles dans certains constituants où on trouve des composés détectés uniquement dans les feuilles ou dans les fruits, ainsi que dans la teneur des composés communs. Le composé majoritaire des feuilles et des fruits est l' α -pinène avec des taux de 34.4% et 80.8% respectivement, suivi de Terpinenyl acetate (7.2%), δ -3-Carene(5.9%), δ -Cadinene(5.8%), cis-Calamenene(4.3%), Caryophyllène

oxide(3.9%) et l' Epibicyclosesquiphellandrene (3.4%) pour les feuilles et du Caryophyllene oxide(3.9%), δ -3-Carene(1.9%), β -Pinene(1.8%) et l'Humulene oxide(1.6%) pour les fruits.

Le tableau ci-dessous regroupe les résultats d'une comparaison entre les teneurs de quelques composés majoritaires des huiles essentielles de feuilles et de fruits de *Juniperus phoenicea* étudiée et ceux cités dans la littérature (Mazari *et al.*, 2010 ; Achak *et al.*, 2009 et Angioni *et al.*, 2003).

Tableau 17 : Comparaison des teneurs (%) des composés majoritaires des huiles essentielles des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea*.

| composés | Algérie | | Maroc ^c | Italie ^d | | |
|-----------------------|---------------------|--------|--------------------|---------------------|----------|--------|
| | Bouira ^a | | | Feuilles | Feuilles | Fruits |
| | Feuilles | Fruits | Feuilles | | | |
| α -Pinene | 34.4 | 80.8 | 34.5 | 38.2 | 48.90 | 87.54 |
| δ -3-Carene | 5.9 | 1.9 | 4.7 | 7.6 | 22.82 | 1.23 |
| β -Phellandrene | 1.7 | 0.1 | 22.4 | t | 10.01 | 2.81 |
| δ -cadinene | 5.8 | 0.1 | 0.5 | t | - | - |
| Terpinyl acetate | 7.2 | 0.8 | 14.7 | - | 2.61 | 0.51 |

a : nos échantillons ; b : Mazari *et al.*, 2010 ; c : Achak *et al.*, 2009 ; d : Angioni *et al.*, 2003

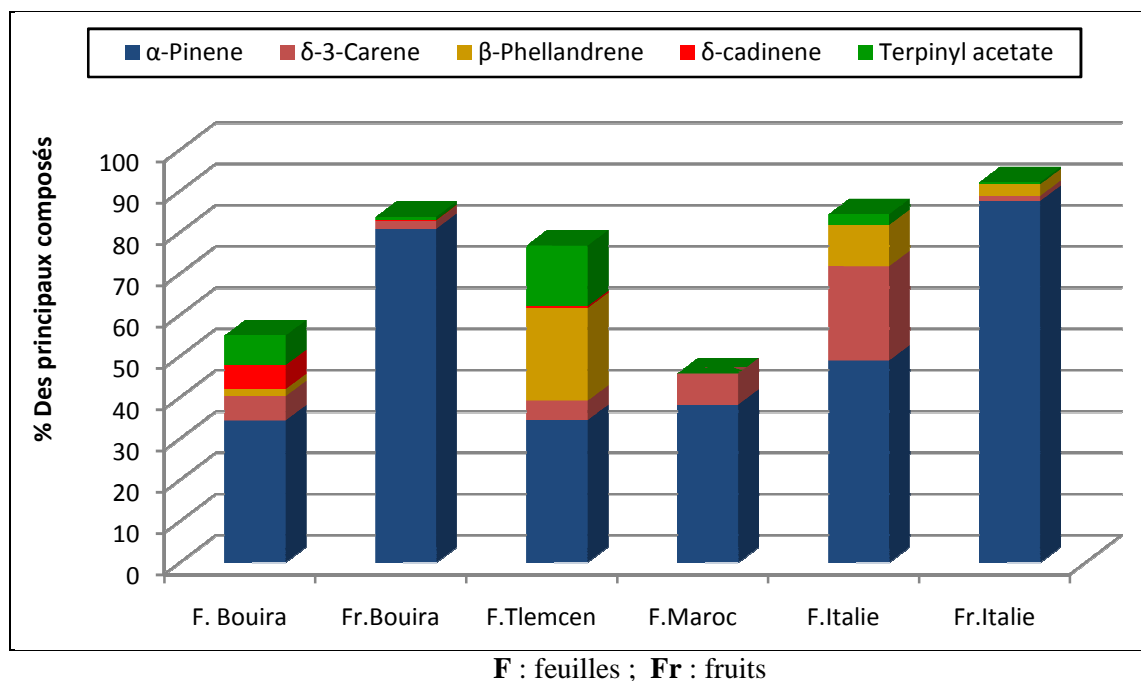


Figure 38 : Comparaison des teneurs (%) des composés majoritaires des huiles essentielles des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea*.

D'après le tableau 17 nous remarquons que les résultats obtenus sont en accord avec ceux de la majorité des échantillons étudiés par les différents auteurs qui rapportent l' α -**Pinene** comme composé principal. Nous remarquons aussi que la teneur de l' α -Pinene dans les feuilles de notre échantillon est identique à celle de *Juniperus* provenant de Tlemcen.

En ce qui concerne les feuilles de *Juniperus* nous avons remarqué certaines différences dans les teneurs de certains composés tels que : le terpinyl acetate qui est présent dans les feuilles de notre échantillon et celui de Tlemcen avec des taux de 7.2% et 14.7% respectivement et totalement absent dans le *Juniperus* du Maroc et ne dépasse pas 2.61% dans celui d'Italie, le β -Phellandrene (1.7%) dans notre échantillon contre 22.4% et 10.01% pour celui de Tlemcen et d'Italie respectivement.

Pour les fruits du genévrier, on constate que les teneurs des principaux composés de notre échantillon se rapprochent à celles de *Juniperus* d'Italie avec l' α -Pinene comme composé principal.

D'autres auteurs ont travaillé sur la même espèce provenant de différentes régions (**Dob et al., 2008 ; Achak et al., 2008 et El-sawi et al., 2007**) ont montré la dominance du monoterpène α -pinene dans les feuilles et les fruits de *Juniperus phoenicea*.

4.2.2 *Tetraclinis articulata*

Le tableau ci-dessous représente les composés identifiés et leurs proportions dans l'huile essentielle des feuilles et fruits de *Tetraclinis articulata*.

Tableau 18 : Composition chimique de l'HE de *Tetraclinis articulata* obtenue par CPG et CG-SM

| N° | Nom du composé | IR | | Concentration (%) | | Identification |
|----|---------------------|-------|------|-------------------|-------------|----------------|
| | | HP5MS | PEG | Feuilles | Fruits | |
| 1 | Tricyclene | 923 | - | 0.3 | t | IR, SM, Etalon |
| 2 | α -Pinene | 939 | 1026 | 24.9 | 57.5 | IR, SM, Etalon |
| 3 | α -Fenchene | 949 | 1059 | - | t | IR, SM, Etalon |
| 4 | Camphene | 951 | 1072 | 0.7 | 0.1 | IR, SM |
| 5 | Sabinene | 973 | 1132 | 0.1 | 0.3 | IR, SM, Etalon |
| 6 | β - Pinene | 978 | 1119 | 0.2 | 0.9 | IR, SM |
| 7 | β -Myrcene | 992 | 1173 | 6.7 | 3.6 | IR, SM |
| 8 | δ -Carene | 1009 | 1163 | t | 0.3 | IR, SM |
| 9 | p-Cymene | 1026 | 1290 | 0.3 | 0.2 | IR, SM, Etalon |
| 10 | Limonene | 1044 | 1212 | 9.6 | 20.9 | IR, SM, Etalon |
| 11 | γ -Terpinene | 1060 | 1261 | t | - | IR, SM, Etalon |
| 12 | Terpinolene | 1093 | 1300 | t | 0.1 | IR, SM |

| | | | | | | |
|---------------------------------|----------------------------------|------|------|-------------|-------------|----------------|
| 13 | p-Cymenene | 1095 | 1452 | t | - | IR, SM, Etalon |
| 14 | α -Pinene oxide | 1063 | - | t | 0.2 | IR, SM |
| 15 | Perillene | 1071 | - | 0.1 | - | IR, SM, Etalon |
| 16 | α -Campholene aldehyde | 1113 | 1401 | 0.1 | - | IR, SM |
| 17 | Pinocarveol | 1126 | 1629 | - | t | IR, SM |
| 18 | Camphor | 1144 | 1556 | 2.3 | 0.1 | IR, SM |
| 19 | Borneol | 1166 | 1732 | 0.4 | - | IR, SM, Etalon |
| 20 | 4-Terpineol | 1177 | 1613 | 0.1 | 0.1 | IR, SM, Etalon |
| 21 | p-Cymene-8-ol | 1187 | 1864 | - | 0.1 | IR, SM, Etalon |
| 22 | α -Terpineol | 1194 | 1723 | t | t | IR, SM |
| 23 | Myrtenal | 1196 | 1649 | t | t | IR, SM |
| 24 | Myrtenol | 1198 | 1804 | - | t | IR, SM |
| 25 | Carvone | 1218 | 1704 | t | - | IR, SM |
| 26 | Thymol methylether | 1235 | 1611 | - | t | IR, SM |
| 27 | Bornyl acetate | 1285 | 1608 | 40.2 | 2.7 | IR, SM |
| 28 | Carvacrol | 1317 | 2238 | - | 0.1 | IR, SM |
| 29 | α -Terpinenyl acetate | 1349 | - | 1.1 | 1.6 | IR, SM |
| 30 | α -Copaene | 1372 | 1509 | 0.2 | 0.2 | IR, SM |
| 31 | β -Bourbonene | 1380 | 1536 | t | - | IR, SM |
| 32 | Isoledene | 1412 | - | 0.3 | 0.3 | IR, SM |
| 33 | β -Caryophyllene | 1418 | 1591 | 6.6 | 5.9 | IR, SM |
| 34 | α -Humulene | 1452 | 1687 | 0.8 | 0.7 | IR, SM |
| 35 | trans- β -Farnesene | 1453 | - | t | 0.1 | IR, SM |
| 36 | Germacrene D | 1480 | 1742 | 0.2 | 0.2 | IR, SM |
| 37 | α -Muurolene | 1497 | 1740 | t | - | IR, SM |
| 38 | β -Bisabolene | 1502 | 1720 | t | - | IR, SM |
| 39 | γ -Cadinene | 1511 | 1776 | 0.1 | 0.5 | IR, SM |
| 40 | cis-Calamenene | 1516 | 1835 | t | - | IR, SM, Etalon |
| 41 | δ -Cadinene | 1519 | 1772 | 0.1 | 0.1 | IR, SM |
| 42 | Caryophyllene oxide | 1573 | 2014 | 3.6 | 2.3 | IR, SM, Etalon |
| 43 | t-Cadinol | 1639 | 2198 | 0.1 | 0.5 | IR, SM |
| 44 | Humulene oxide | 1642 | 2015 | 0.3 | 0.3 | IR, SM |
| Composés identifiés (%) | | | | 99.4 | 99.9 | |
| Hydrocarbures monoterpéniques | | | | 42.9 | 83.9 | |
| Monoterpènes oxygénés | | | | 44.2 | 4.9 | |
| Hydrocarbures sesquiterpéniques | | | | 8.3 | 8.0 | |
| Sesquiterpènes oxygénés | | | | 4.0 | 3.1 | |

IR : Indices de retentions relatifs au n-alcanes C₇-C₂₅ calculés sur des colonnes capillaires polaire (PEG) et non polaire (HP5MS). **SM** : Comparaison avec les spectres de masses fournis par la librairie du spectromètre de masse. **t** : Concentration inférieur à 0,05%.

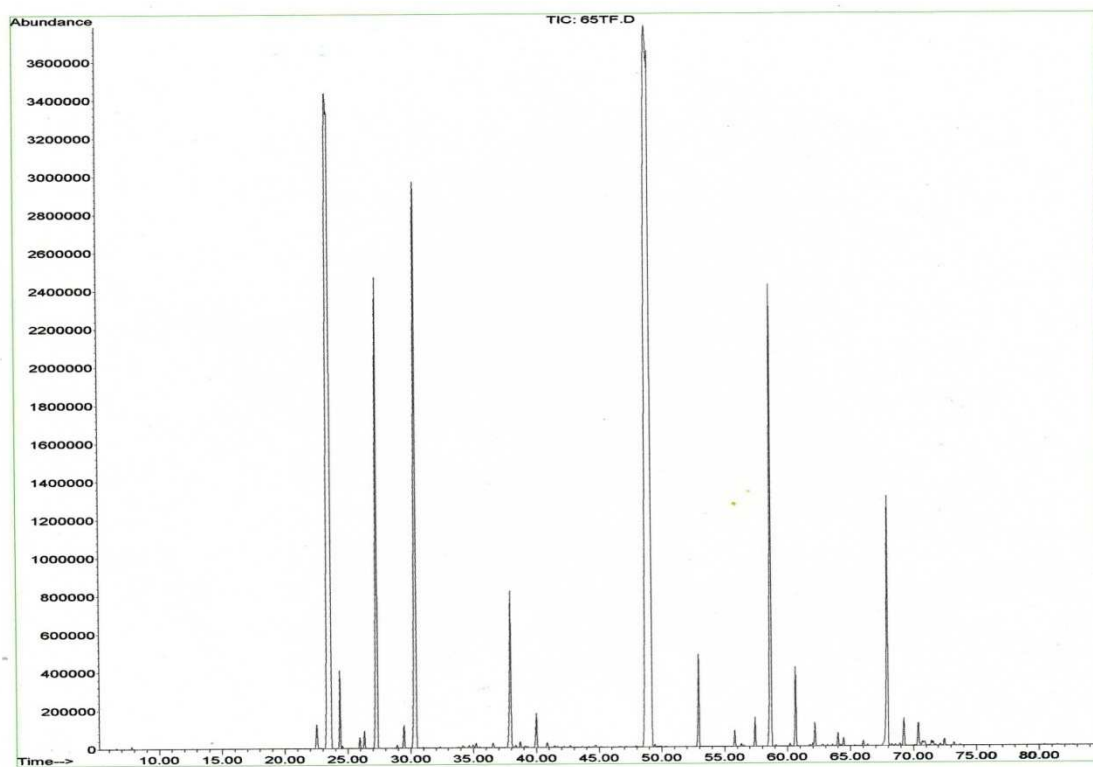


Figure 39 : Chromatogramme de l'HE des feuilles de *Tetraclinis articulata* obtenu par CG-SM

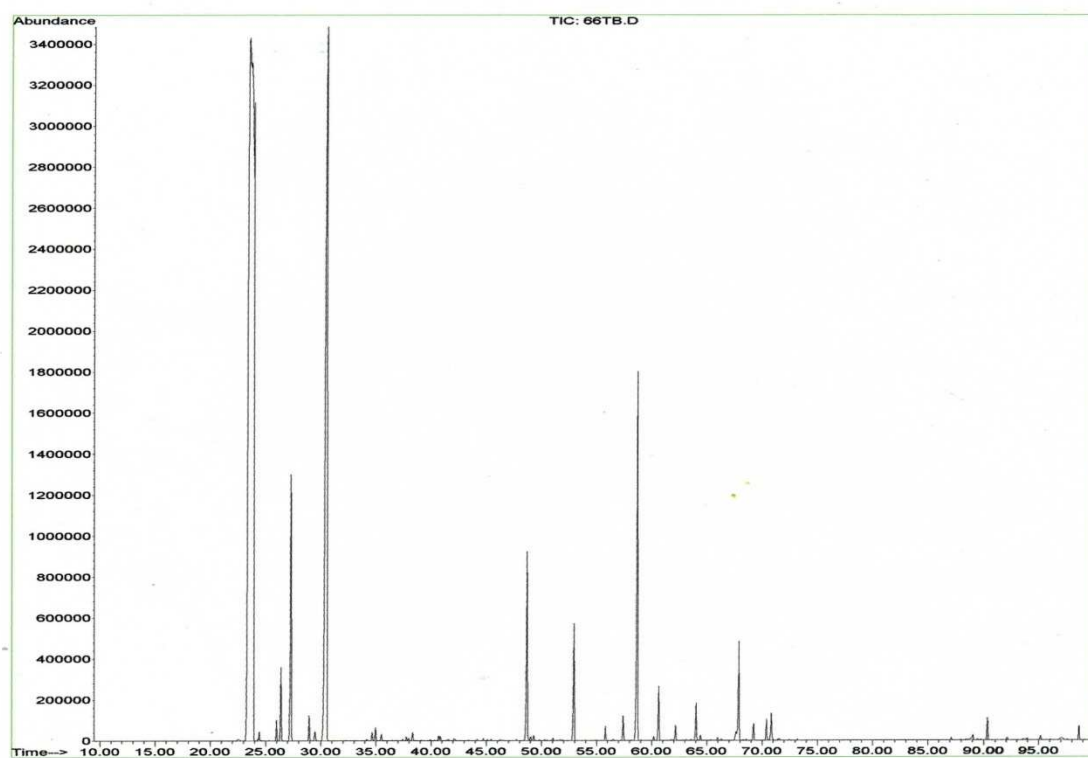


Figure 40 : Chromatogramme de l'HE des fruits de *Tetraclinis articulata* obtenu par CG-SM

L'analyse chromatographique par CPG et CG/MS des huiles essentielles des feuilles et des fruits de *Tetraclinis articulata* a révélé l'identification de 38 composés représentant 99.4% de l'huile essentielle des feuilles et 34 composés avec un taux de 99.9% de l'huile essentielle issue des fruits (tableau18). Les composés monoterpéniques enregistrent le plus grand taux (87.1%) dans l'huile essentielle des feuilles avec une légère dominance des monoterpènes oxygénés (44.2%) avec le bornyl acétate (40.2%) comme composé principale. Tandis que les hydrocarbures monoterpéniques représentent la quasi-totalité de l'huile essentielle des fruits (83.9%) avec la dominance de l' α -Pinene (57.5%) suivi de limonene (20.9%) et β -Caryophyllene (5.9%).

La comparaison des deux huiles relatives aux feuilles et aux fruits montre que celle des feuilles contient des quantités supérieures de bornyl acétate (40.2% vs. 2.7%), β -myrcene (6.7% vs. 3.6%), β -caryophyllene (6.6% vs. 5.9%) et caryophyllene oxide (3.6% vs. 2.3%). Par contre, l'huile essentielle des fruits contient des concentrations plus grandes en α -pinene (57.5% vs. 24.9%) et limonène (20.9% vs. 9.6%).

Nous avons comparé la composition chimique de l'HE des feuilles de notre échantillon avec celles cités dans la littérature (Tableau 19).

Tableau 19 : Comparaison des teneurs (%) des composés majoritaires des HE des feuilles de *Tetraclinis articulata* d'Algérie et de Maroc.

| Composés (%) | HE d'Algérie ^a | HE de Maroc ^b |
|------------------|---------------------------|--------------------------|
| Bornyl acétate | 40.2 | 30.74 |
| α -Pinene | 24.9 | 23.54 |
| Limonène | 9.6 | 23.31 |

a : notre échantillon ; b : Bourkhiss⁽²⁾ et al., 2007

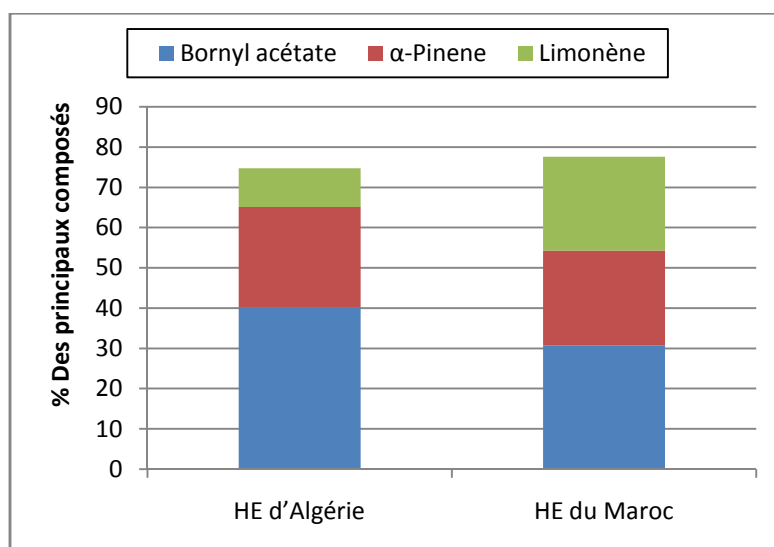


Figure 41 : Comparaison des teneurs (%) des composés majoritaires des HE des feuilles de *Tetraclinis articulata* d'Algérie et de Maroc

D'après la figure 41 nous avons constaté que nos résultats coïncident avec ceux de **Bourkhiss⁽²⁾ et al. (2007)** qui ont travaillé sur la même espèce provenant du Maroc. Les principaux composés majoritaires pour les deux espèces sont : bornyl acétate (40.2% et 30.74%), α -Pinene (24.9% et 23.54%) et limonène (9.6% et 23.31%) respectivement pour notre échantillon et celui du Maroc. La différence notable que nous avons relevé réside dans le fait que dans notre échantillon le limonène est à une teneur de 9.6% tandis que dans le thuya de Berbérie du Maroc est de 23.31%.

En ce qui concerne la composition de l'HE des fruits de *T. articulata* nous avons constaté que nos résultats diffèrent de ceux cités par **Tékaya-karoui et al. (2007)** qui ont travaillé sur la même espèce provenant de Tunisie. Les composés majoritaires dans notre HE sont l' α -Pinene (57.5%), limonène (20.9%) et β -caryophyllene (5.9%) alors que le p-cymene-8-ol(10.4%), β -phellandrene(8.1%) et le trans-pinacarveol(6.1%) sont majoritairement présents dans l'espèce provenant de Tunisie.

5 Rendement en extrait

Les extraits récupérés après évaporation à sec et sous pression réduite ont été pesés pour déterminer leurs poids sec, ces extraits renferment les flavonoïdes et les phénols totaux. Les rendements sont exprimés en (gramme d'extrait/100 gramme de matière végétale) et ils sont représentés dans le tableau 20.

Tableau 20 : Rendements en extraits de feuilles de *J. phoenicea* et de *T. articulata*

| Espèces | Rendements en % (gr/100gr) |
|-------------------------------|----------------------------|
| <i>Juniperus phoenicea</i> | 60 |
| <i>Tetraclinis articulata</i> | 28 |

D'après le tableau ci-dessus on remarque que le rendement en extrait de *J. phoenicea* (60%) et plus grand que celui de *T. articulata* (28%). Des études précédentes rapportent que les plantes ayant des rendements élevés en extraits contiennent une forte teneur en composés phénoliques (**Lehtinen et Laakso, 1998 ; Borneley et Peyrat-Maillard, 2000**).

5.1 Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits de feuilles de *J. phoenicea* et de *T. articulata*

5.1.1 Phénols totaux

La teneur en phénols totaux des extraits de feuilles de genévrier et de thuya de Berbérie est déterminée par la méthode colorimétrique de Folin ciocalteu, en utilisant la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique qui est représentée par la figure ci-dessous.

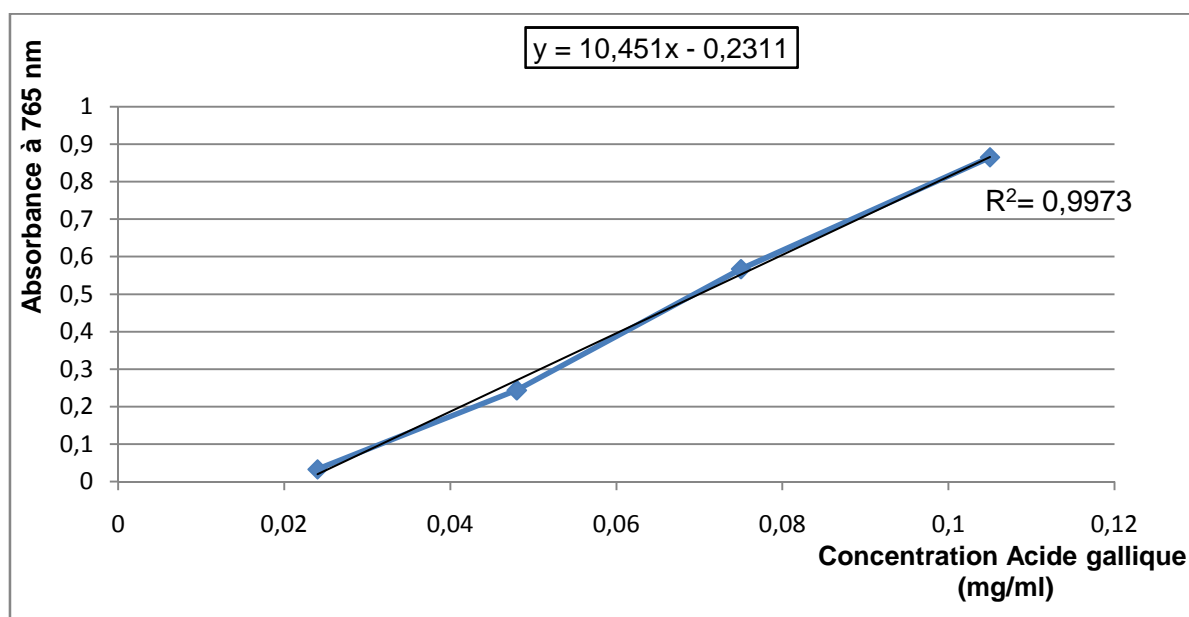


Figure 42 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

5.1.2 Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium en utilisant la courbe d'étalonnage obtenue avec la quercétine et représentée par la figure 43.

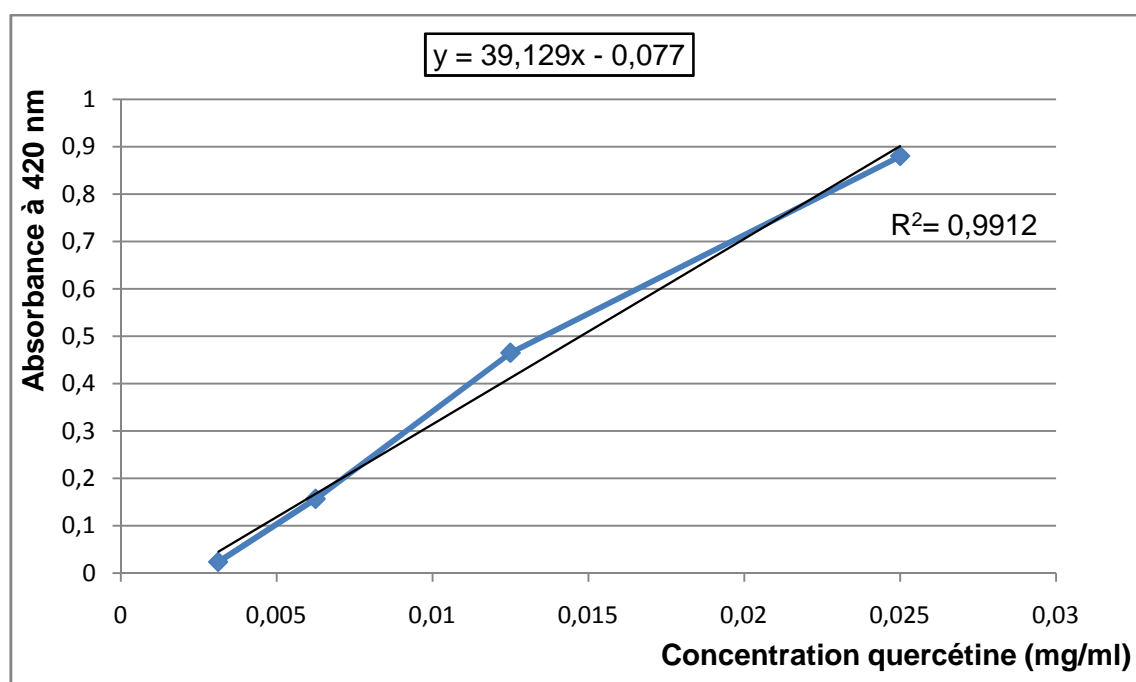


Figure 43 : courbe d'étalonnage de la quercétine

Le tableau ci-dessous représente les résultats du dosage des phénols totaux et de flavonoïdes.

Tableau 21 : Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits étudiés

| Extraits | Teneurs en polyphénols ($\mu\text{g GAE/mg d'extract}$) | Teneurs en flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/mg d'extract}$) |
|-------------------------------|--|---|
| <i>Juniperus phoenicea</i> | 417 | 20 |
| <i>Tetraclinis articulata</i> | 352 | 18 |

GAE : Equivalent d'acide gallique, **EQ** : Equivalent de Quercétine

Les résultats figurant dans le Tableau ci-dessus sont illustrés graphiquement dans la figure 44.

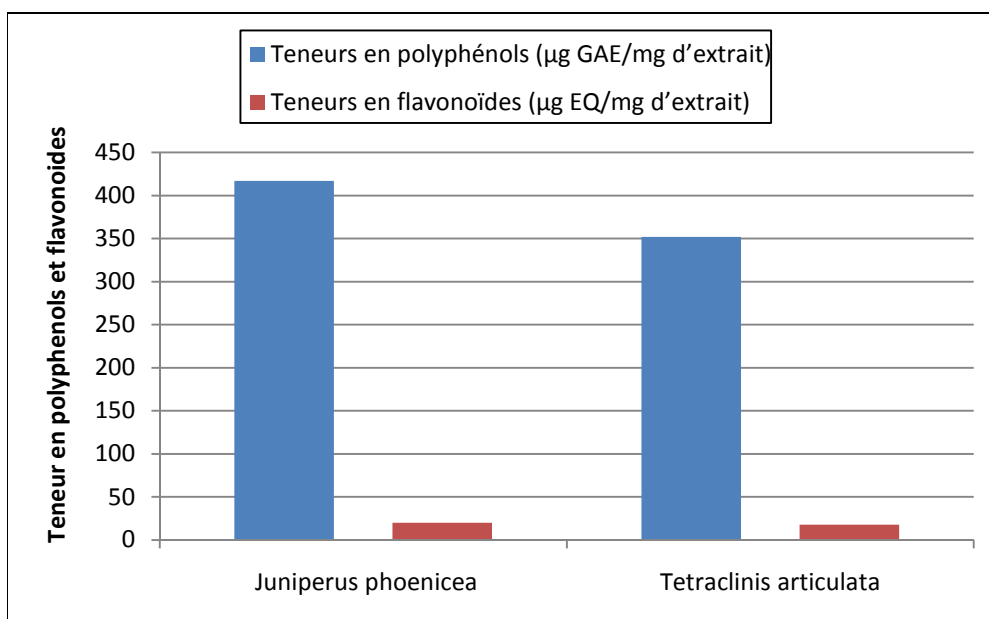


Figure 44 : teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits étudiés

Les résultats du dosage des phénols totaux illustrés dans la figure 44 ont permis d'enregistrer de fortes teneurs pour les deux extraits étudiés avec $417\mu\text{g GAE/mg d'extract}$ pour les feuilles de *J. phoenicea* et $352\mu\text{g GAE/mg d'extract}$ pour celles de *T. articulata*.

La teneur en phénols totaux retrouvé dans l'extrait de fruit de *Juniperus phoenicea* de Tunisie est de $143\mu\text{g GAE/mg d'extract}$ (Hayouni et al., 2007).

En général, la teneur en polyphénols d'un extrait dépend de la méthode d'extraction utilisée, de la nature du solvant ainsi que du matériel végétal utilisé (Hayouni et al., 2007).

Les résultats du dosage des flavonoïdes ont permis d'enregistrer des teneurs de $20\mu\text{g QE/mg d'extract}$ et $18\mu\text{g QE/mg d'extract}$ respectivement pour les extraits de feuilles de genévrier et de thuya de Berbérie. Les flavonoïdes sont considérés comme une sous classe des composés phénoliques, il est par conséquent logique que la teneur en phénols totaux des extraits soit directement reliée à leur teneur en flavonoïdes.

6 Evaluation de l'activité antioxydante des HE et des extraits testés.

L'activité antioxydante des HE et d'extraits testés a été évaluée par deux méthodes différentes : le test du DPPH, et la mesure du pouvoir réducteur.

6.1 Activité de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

La méthode de mesure de l'activité antioxydante par le test du piégeage du radical DPPH est largement utilisée pour sa fiabilité et répétabilité (Thaipong *et al.*, 2006 ; Siddhuraju, 2007). Les résultats de ce test sont hautement reproductibles et comparables à d'autres méthodes de piégeage des radicaux libres (Gil *et al.*, 2000).

6.1.1 Test du DPPH pour les huiles essentielles des trois espèces de lamiacées

Les résultats obtenus lors du test de mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH pour les espèces de thym, germandrée et calament sont résumés dans le tableau 22 et illustrés dans la figure 45.

Tableau 22 : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE des espèces de lamiacées, BHT et BHA.

| Concentration (mg/l) | Activité de piégeage du radical DPPH* (%) | | | | |
|-------------------------|---|----------------------------|--------------------------------|---------------|--------------|
| | <i>Thymus pallenscens</i> | <i>Teucrium polium</i> | <i>Satureja calamintha</i> | BHT | BHA |
| 100 | 12,04±1,84C/f | 2,10±0,11E/f | 5,88±0,17D/b | 73,15±0,85B/f | 91,70±0,4A/b |
| 200 | 25,88±0,19C/e | 2,64±0,15E/e | 6,05±0,85D/b | 80,63±0,32B/e | 91,40±0,3A/b |
| 400 | 42,27±0,59C/d | 5,79±0,13D/d | 6,15±0,46D/b | 84,75±0,52B/d | 92,10±0,7A/b |
| 600 | 58,68±0,58C/c | 8,25±0,07D/c | 6,23±0,23E/b | 86,35±0,59B/c | 93,10±0,1A/a |
| 800 | 69,99±0,84C/b | 11,87±0,18D/b | 6,33±0,23E/b | 88,81±0,27B/b | 93,30±0,0A/a |
| 1000 | 75,08±0,23C/a | 12,74±0,04D/a | 7,93±0,51E/a | 91,07±0,13B/a | 93,30±0,0A/a |

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type).

Lettre en majuscule : classification en groupes homogènes des HE des espèces de lamiacées (ligne)

Lettre en minuscule : classification en groupes homogènes des concentrations utilisés (colonne)

Les moyennes comportants des lettres différentes sont significativement différentes (P<0.05).

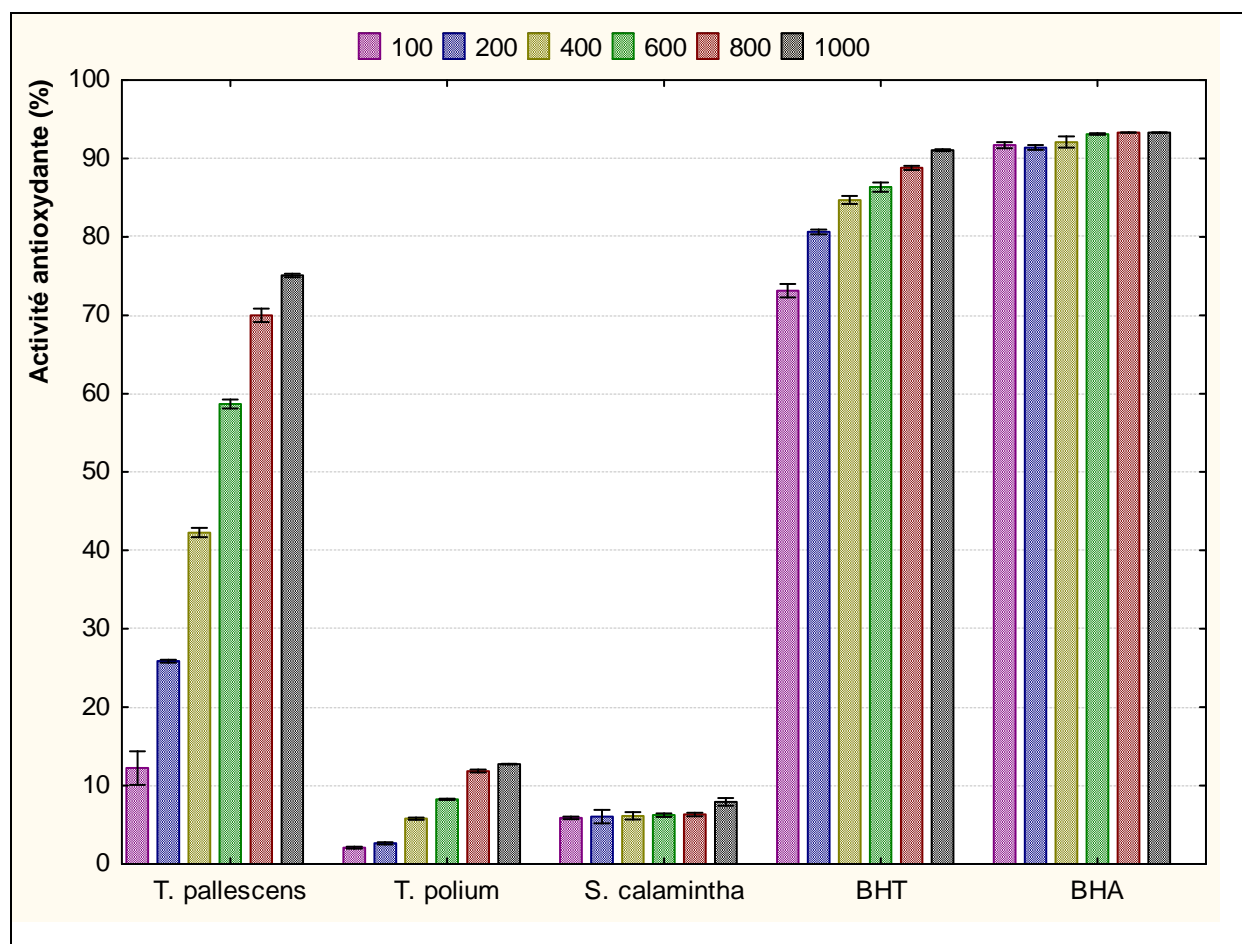


Figure 45 : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE des espèces de lamiacées, BHT et BHA.

D'après la figure ci-dessus, on remarque que l'activité de piégeage du radical DPPH des différentes HE des espèces de lamiacées, du BHT et du BHA augmente proportionnellement avec l'augmentation des concentrations.

Les antioxydants de synthèse, manifestent une forte activité même à de faibles concentrations. Pour une concentration de 100mg/l, les valeurs enregistrées sont de 73,15% et 91,70% respectivement pour le BHT et le BHA.

Parmi les trois espèces de lamiacées étudiées l'HE de *Thymus pallescens* enregistre la plus forte activité de piégeage du radical DPPH ce qui nous a permis de déterminer sa concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres (IC_{50}) qui est égale à 434,24 mg/l. Tandis que pour les HE de germandrée et de calament les valeurs de IC_{50} n'ont pas été déterminées car à la plus grande concentration (1000 mg/l) l'inhibition des radicaux libres n'arrive pas à 50%.

Oke et al. (2009) attribuent les différences d'intensité de piégeage des radicaux libres par les HE à la composition chimique de ces dernières. De ce fait la forte activité de piégeage du radical DPPH de l'huile essentielle de *Thymus palleescens* peut être expliquée par sa forte teneur en carvacrol (57,7%) qui est supposé jouer avec le thymol un rôle important dans l'activité biologique d'une HE (Morteza-Semnani et Rostami, 2006 ; Tepe et al., 2006 et Suhaj, 2006).

6.1.2 Test du DPPH pour les HE et les extraits des espèces de cupressacées

6.1.2.1 Cas des HE

Les résultats obtenus lors du test de mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH pour les HE de genévrier et de thuya de berbérie sont résumés dans le tableau 23 et illustrés dans la figure 46.

Tableau 23 : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE des espèces de cupressacées, BHT et BHA.

| Concentration (mg/l) | Activité de piégeage du radical DPPH* (%) | | | | | |
|----------------------|---|---------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| | <i>Juniperus phoenicea</i> | | <i>Tetraclinis articulata</i> | | BHT | BHA |
| | Feuilles | Fruits | Feuilles | Fruits | | |
| 100 | 8,18±0,63C/d | 2,99±0,28D/c | 7,92±0,20C/c | 2,13±0,48D/c | 73,15±0,85B/f | 91,70±0,40A/b |
| 200 | 9,07±0,58C/d | 3,72±0,47D/c | 8,42±0,42C/c | 3,33±0,18D/bc | 80,63±0,32B/e | 91,40±0,30A/b |
| 400 | 11,27±0,33C/c | 4,09±0,64E/bc | 9,18±0,21D/bc | 3,57±0,53E/bc | 84,75±0,52B/d | 92,10±0,70A/b |
| 600 | 12,87±0,47C/b | 5,19±0,15E/ab | 10,4±0,37D/ab | 4,89±0,95E/ab | 86,35±0,59B/c | 93,10±0,10A/a |
| 800 | 13,46±0,47C/ab | 5,83±0,41E/b | 11,08±1,08D/b | 5,03±0,77E/ab | 88,81±0,27B/b | 93,30±0,00A/a |
| 1000 | 14,54±0,20C/a | 6,35±0,65E/a | 11,63±1,02D/a | 5,65±0,56E/a | 91,07±0,13B/a | 93,30±0,00A/a |

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type).

Lettre en majuscule : classification en groupes homogènes des HE des espèces de cupressacées (ligne)

Lettre en minuscule : classification en groupes homogènes des concentrations utilisés (colonne)

Les moyennes comportants des lettres différentes sont significativement différentes (P<0.05).

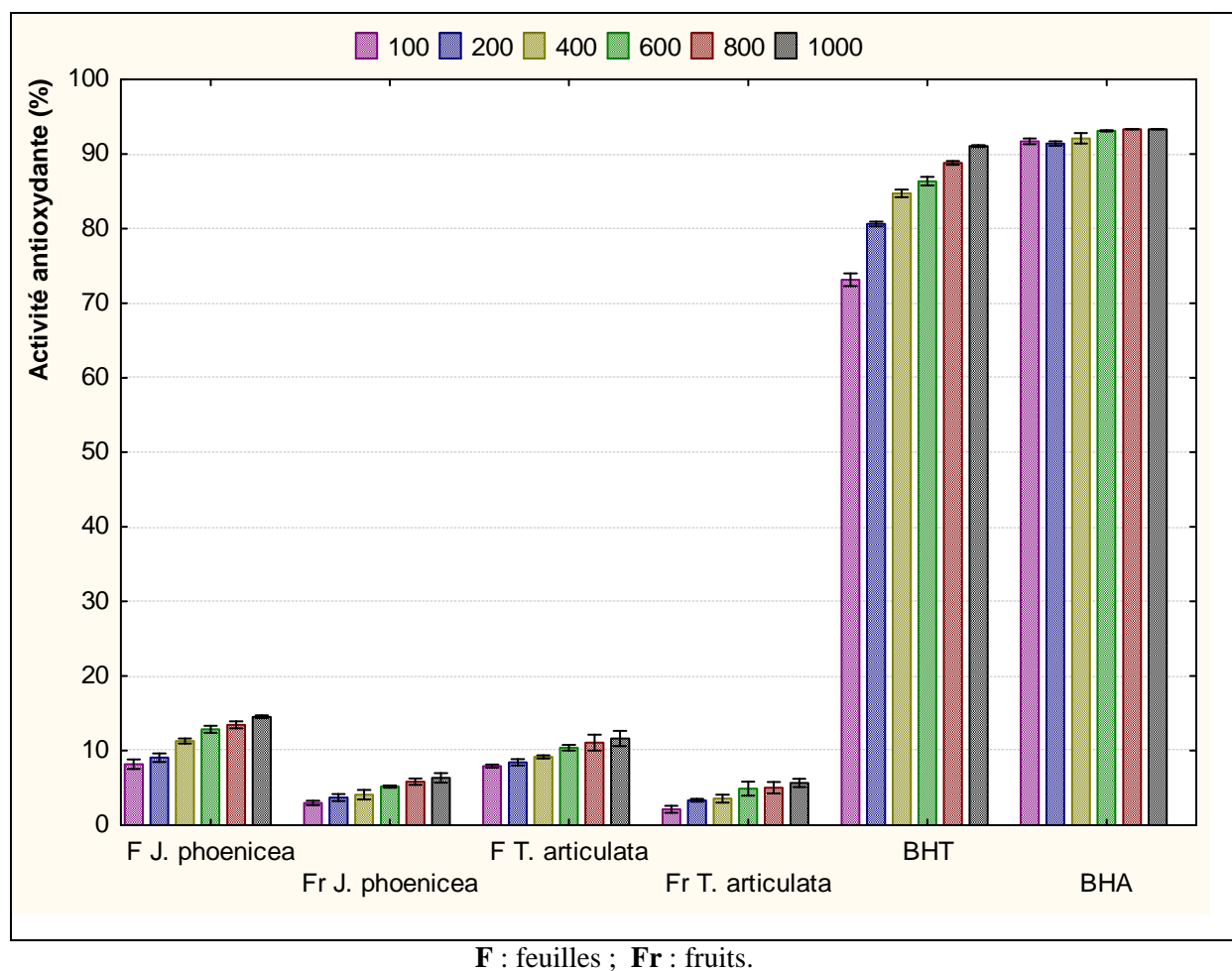


Figure 46 : Activité de piégeage du radical DPPH par les HE des espèces de cupressacées, BHT et BHA.

Le pouvoir de piégeage du radical DPPH des HE de *J. phoenicea* et de *T. articulata* existe puisqu'ils sont capables de réduire la forme stable de ce radical vers le diphénylpicrylhydrazine. Ce pouvoir de piégeage augmente proportionnellement avec la concentration de ces huiles.

Les concentrations minimales inhibitrices n'ont pas été déterminées car aucune des huiles n'a pu atteindre un seuil d'inhibition de 50% des radicaux étant donné qu'à la plus forte concentration (1000 mg/l), le taux d'inhibition ne dépasse pas les 15%.

Les huiles essentielles des feuilles ont montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH supérieur à celui des fruits que se soit pour le genévrier ou le thuya de Berbérie, ceci est dû à la différence de composition chimique entre les huiles extraites de feuilles et celles des fruits.

D'une façon générale, les HE des deux espèces de cupressacées étudiées présentent une faible capacité de piégeage du radical DPPH.

6.1.2.2 Cas des extraits de feuilles de *J. phoenicea* et de *T. articulata*

Les différentes activités de piégeage obtenues pour les extraits de feuilles de *J. phoenicea* et de *T. articulata* comparées à celles du BHT sont reportées dans le tableau 24 et la figure 47.

Tableau 24 : Résultats d'activité de piégeage du radical DPPH des deux extraits testés et du BHT

| Concentration (mg/l) | Activité de piégeage du radical DPPH* (%) | | |
|-------------------------|---|-----------------------------|---------------|
| | Extrait <i>J.phoenicea</i> | Extrait <i>T.articulata</i> | BHT |
| 0,5 | 9,20±0,91d | 8,20±1,07d | ND |
| 5 | 21,19±0,93c | 20,58±0,48c | ND |
| 20 | 69,58±0,66A/b | 60,61±0,51B/b | 42,14±0,48C/c |
| 50 | 88,94±0,12A/a | 88,23±1,33A/a | 62,49±0,69B/b |
| 100 | 89,22±0,67A/a | 89,17±0,83A/a | 73,15±0,85B/a |

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type). **ND** : non déterminé.

Lettre en majuscule : classification en groupes homogènes des extraits (ligne)

Lettre en minuscule : classification en groupes homogènes des concentrations utilisés (colonne)

Les moyennes comportants des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0.05$).

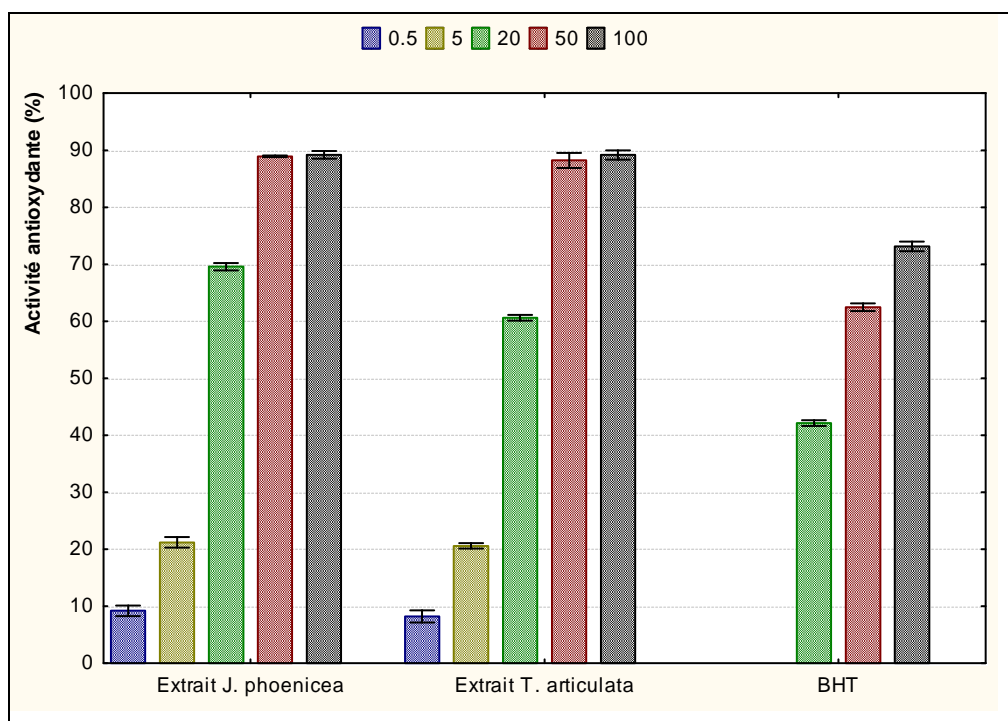


Figure 47 : Activité de piégeage du radical DPPH des deux extraits testés et du BHT

D'après la figure ci-dessus, on remarque une augmentation proportionnelle des activités de piégeage à l'augmentation des concentrations en extraits.

Les extraits éthanoliques des feuilles de *Juniperus phoenicea* et de *Tetraclinis articulata* ont montré une grande activité d'inhibition du radical DPPH, ainsi pour une concentration de 20 mg/l d'extrait, l'activité antioxydante est de 69,58% et 60,61% respectivement pour les feuilles de *J. phoenicea* et de *T. articulata*.

Les différentes concentrations des deux extraits montrent une activité de piégeage supérieure à celle du BHT, ceci est confirmé par les résultats obtenus pour l'IC₅₀ (Tableau 25) où cette dernière est de 9,81 mg/l et 9,88 mg/l pour les extraits de genévrier et de thuya de Berbérie respectivement contre 28 mg/l pour le BHT. On conclut donc que les deux extraits étudiés disposent d'une plus grande activité antioxydante par rapport à celle du BHT.

Tableau 25 : Valeurs d'IC₅₀ des deux extraits et du BHT

| Extrait/substance | IC ₅₀ * (mg/l) |
|------------------------------|---------------------------|
| Extrait <i>J. phoenicea</i> | 9,81± 0.07A |
| Extrait <i>T. articulata</i> | 9,88±0.34A |
| BHT | 27,99±0.9B |

* : Concentration pour 50 % d'inhibition exprimées en (moyenne ± écart type).

Lettre en majuscule : classification en groupes homogènes des extraits (colonne)

Les moyennes comportants des lettres différentes sont significativement différentes (P<0.05).

Cette grande activité antioxydante des deux extraits étudiés peut être expliquée par leurs fortes teneurs en phénols totaux et flavonoïdes. En effet ces derniers sont considérés comme d'excellents antioxydants dont les propriétés oxydo-réducteurs leur permettent d'agir comme des agents réducteurs, donateurs d'hydrogène et inhibiteurs de l'oxygène singulet et triplet (**Pietta, 2000**).

La capacité des flavonoïdes ainsi que des phénols totaux à piéger les radicaux libres s'explique par leurs structures chimiques comportant un nombre important d'atomes d'hydrogène, des groupements hydroxylés, des noyaux phényles qui seraient capables de capter les radicaux libres en démobilisant leurs électrons célibataires (**Calliste et al., 2001, Torres de Pinedo et al., 2007 ; Wojdyło et al., 2007**).

6.2 Mesure du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur mesure la capacité de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), donc la mesure de l'aptitude d'une huile essentielle ou d'un extrait à interagir avec les espèces chimiques réactives en tant que donneur d'électrons tels que les radicaux libres. Ces radicaux ainsi réduits deviennent plus stables.

6.2.1 Pouvoir réducteur des différentes HE des espèces de lamiacées

Les résultats du pouvoir réducteur des huiles essentielles des trois espèces de lamiacées étudiées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique exprimé par l'absorbance à 700 nm, sont résumés dans le tableau 26.

Tableau 26 : Pouvoir réducteur des différentes HE des espèces de lamiacées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique.

| Concentration (mg/l) | Absorbances * à 700nm | | | | | |
|-------------------------|-----------------------------|----------------------------|--------------------------------|-----------------|----------------|-----------------------|
| | <i>Thymus palescens</i> | <i>Teucrium polium</i> | <i>Satureja calamintha</i> | BHT | BHA | l'Acide ascorbique |
| 100 | 0,256±0,025D/f | 0,181±0,001E/e | 0,088±0,00F/f | 0,863±0,011C/e | 2,483±0,054B/d | 2,823±0,010A/a |
| 200 | 0,491±0,009D/e | 0,350±0,008E/d | 0,094±0,003F/e | 1,063±0,024C/d | 2,737±0,023B/c | 2,850±0,018A/a |
| 400 | 0,840±0,014D/d | 0,440±0,011E/c | 0,110±0,00F/c | 1,161±0,008C/c | 2,957±0,031A/b | 2,855±0,013B/a |
| 600 | 1,068±0,005B/c | 0,470±0,020C/b | 0,116±0,002D/c | 1,178±0,005B/bc | 2,998±0,030A/b | 2,873±0,180A/a |
| 800 | 1,154±0,009B/b | 0,489±0,003C/b | 0,141±0,003D/b | 1,218±0,036B/b | 3,003±0,015A/b | 2,987±0,123A/a |
| 1000 | 1,359±0,015B/a | 0,578±0,003C/a | 0,153±0,001D/a | 1,303±0,003B/a | 3,121±0,055A/a | 3,055±0,185A/a |

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type).

Lettre en majuscule : classification en groupes homogènes des HE des espèces de lamiacées (ligne)

Lettre en minuscule : classification en groupes homogènes des concentrations utilisés (colonne)

Les moyennes comportants des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0.05$).

Les résultats résumés dans le tableau ci-dessus sont illustrés dans la figure 48.

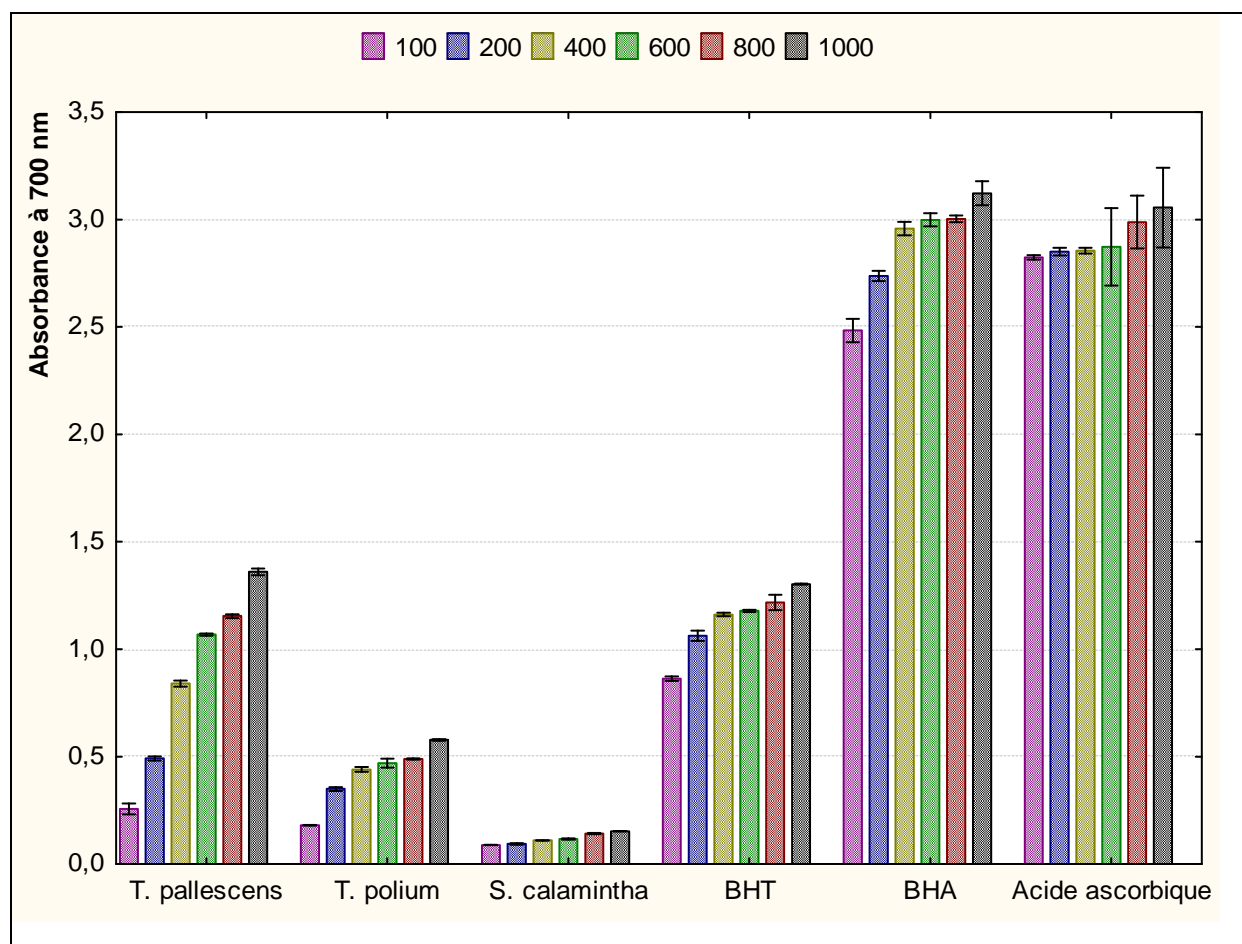


Figure 48 : Pouvoir réducteur des différentes HE des espèces de lamiacées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique.

Le pouvoir réducteur des HE des espèces de lamiacées (thym, germandrée, calament) ainsi que celui du BHT, BHA et l'acide ascorbique augmente en fonction de leurs concentrations (Figure 48).

La capacité réductrice la plus élevée est enregistrée pour le BHA, suivi par l'acide ascorbique lui-même suivi par l'HE de *Thymus pallescens* qui montre un pouvoir réducteur supérieur à celui du BHT.

Parmi les trois espèces de lamiacées étudiées, *Thymus pallescens* enregistre le plus grand pouvoir réducteur, alors que la plus faible valeur est enregistrée pour l'espèce de *Satureja calamintha*. Ceci peut être expliqué par la forte teneur en composés phénoliques chez l'espèce de thym où le carvacrol est présent avec un taux de 57,7% contrairement à l'espèce de *Teucrium polium* et *Satureja calamintha* qui sont pauvre en composés phénoliques. Ces composés connus pour leur pouvoir réducteur sont appelés reductones. Ils

sont capables de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}), céder des électrons et transformer les radicaux libres actifs en des produits stables (Dorman *et al.*, 2004, Singh *et al.*, 2006).

6.2.2 Pouvoir réducteur des HE et d'extraits des espèces de cupressacées

6.2.2.1 Cas des HE

Les résultats du pouvoir réducteur des HE et des extraits des deux espèces de cupressacées étudiées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique exprimés par l'absorbance à 700 nm, sont résumés dans le tableau 27.

Tableau 27 : Pouvoir réducteur des différentes HE des espèces de cupressacées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique.

| Concentration (mg/l) | Absorbances* à 700nm | | | | | | |
|-------------------------|----------------------------|-----------------|-------------------------------|----------------|-----------------|----------------|---------------------|
| | <i>Juniperus phoenicea</i> | | <i>Tetraclinis articulata</i> | | BHT | BHA | Acide ascorbique |
| | Feuilles | Fruits | Feuilles | Fruits | | | |
| 100 | 0,205±0,012D/c | 0,162±0,017DE/c | 0,034±0,008F/e | 0,109±0,015E/e | 0,863±0,011C/e | 2,483±0,054B/d | 2,823±0,010A/a |
| 200 | 0,296±0,017D/b | 0,252±0,042D/b | 0,120±0,005E/d | 0,141±0,002E/d | 1,063±0,024C/d | 2,737±0,023B/c | 2,850±0,018A/a |
| 400 | 0,313±0,014D/b | 0,317±0,033D/ab | 0,251±0,011E/c | 0,160±0,008F/d | 1,161±0,008C/c | 2,957±0,031A/b | 2,855±0,013B/a |
| 600 | 0,328±0,021C/b | 0,343±0,027C/a | 0,267±0,003C/c | 0,186±0,006C/c | 1,178±0,005B/bc | 2,998±0,030A/b | 2,873±0,180A/a |
| 800 | 0,348±0,037C/b | 0,356±0,043C/a | 0,296±0,001C/b | 0,229±0,004C/b | 1,218±0,036B/b | 3,003±0,015A/b | 2,987±0,123A/a |
| 1000 | 0,406±0,013C/a | 0,373±0,023C/a | 0,330±0,014C/a | 0,529±0,009C/a | 1,303±0,003B/a | 3,121±0,055A/a | 3,055±0,185A/a |

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type).

Lettre en majuscule : classification en groupes homogènes des HE des espèces de cupressacées (ligne)

Lettre en minuscule : classification en groupes homogènes des concentrations utilisés (colonne)

Les moyennes comportants des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0.05$).

Les résultats résumés dans le tableau ci-dessus sont illustrés dans la figure 49

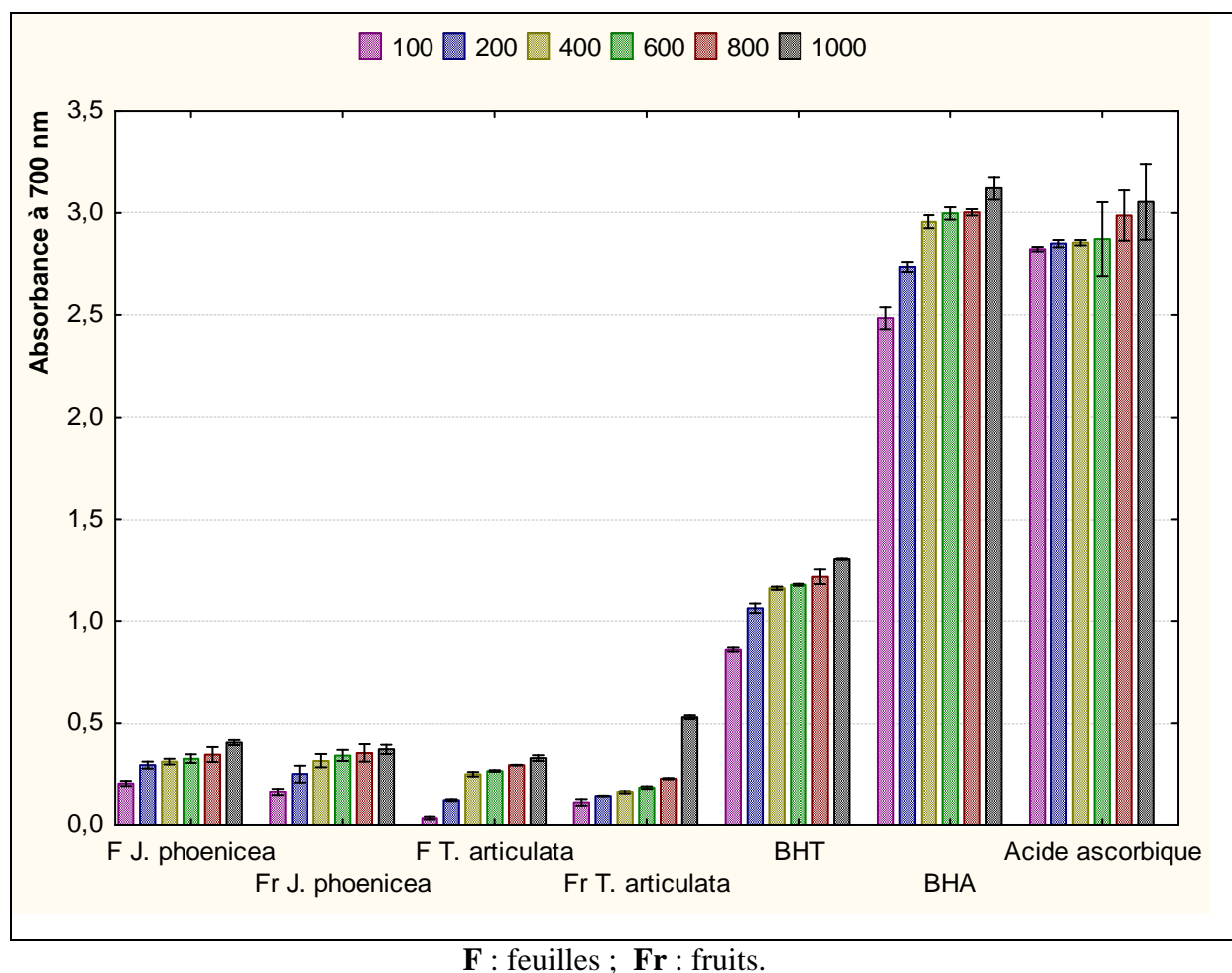


Figure 49 : Pouvoir réducteur des différentes HE des espèces de cupressacées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique.

D'après la figure ci-dessus, on remarque que le pouvoir réducteur des HE étudiées, du BHT, du BHA et de l'acide ascorbique augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration. Les capacités réductrices des HE de *J. phoenicea* et de *T. articulata* sont inférieures à celles des antioxydants de synthèse.

D'une façon générale, les HE des feuilles et des fruits des deux espèces de cupressacées étudiées montrent un faible pouvoir réducteur. L'absence ou la faible teneur en composés phénoliques peut partiellement expliquer cette faible capacité réductrice.

6.2.2.2 Cas des extraits

Les résultats du pouvoir réducteur obtenus pour les extraits de feuilles de *J. phoenicea* et de *T. articulata* comparés à celles du BHT sont reportés dans le tableau 28.

Tableau 28 : Pouvoir réducteur des deux extraits testés et du BHT.

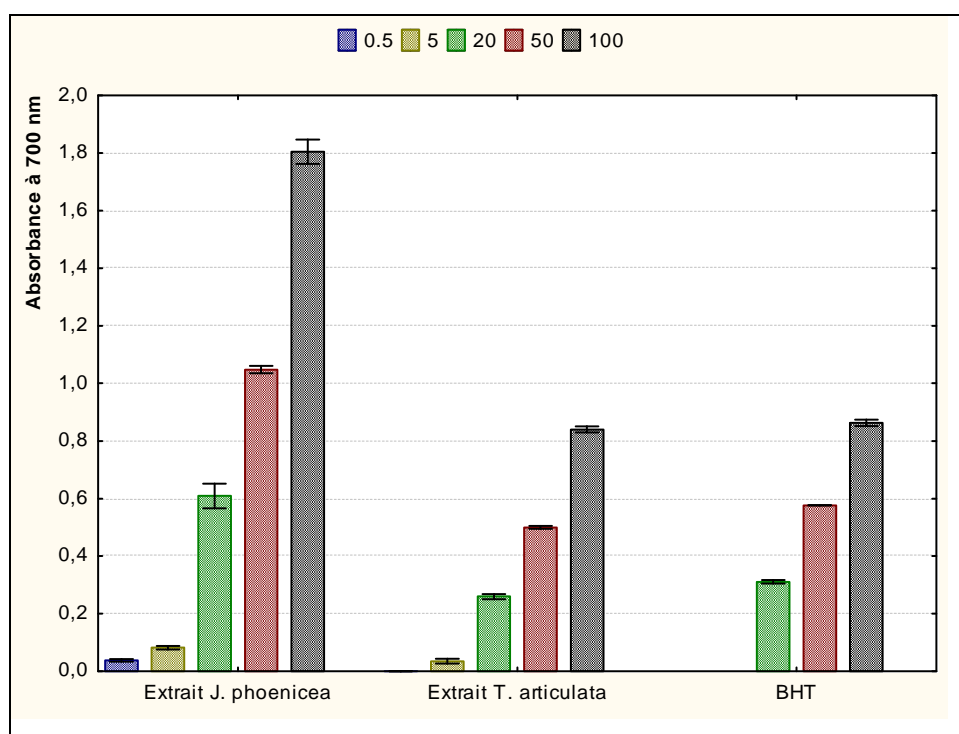
| Concentration (mg/l) | Absorbances* à 700nm | | |
|-------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------|
| | Extrait <i>J.phoenicea</i> | Extrait <i>T.articulata</i> | BHT |
| 0,5 | 0,039±0,005d | 0,00e | ND |
| 5 | 0,083±0,006d | 0,035±0,008d | ND |
| 20 | 0,609±0,043A/c | 0,260±0,009B/c | 0.311±0.006B/c |
| 50 | 1,048±0,013A/b | 0,500±0,005C/b | 0.576±0.001B/b |
| 100 | 1,804±0,043A/a | 0,840±0,011B/a | 0.863±0.011B/a |

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type). **ND** : non déterminé.

Lettre en majuscule : classification en groupes homogènes des extraits (ligne)

Lettre en minuscule : classification en groupes homogènes des concentrations utilisés (colonne)

Les moyennes comportants des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0.05$).

**Figure 50 : Pouvoir réducteur des deux extraits testés et du BHT**

D'après le tableau 28, nous remarquons qu'à la concentration 0,5 mg/l l'extrait de genévrier a un très faible pouvoir réducteur alors que celui de thuya de Berbérie s'est montré

carrément inactif, mais au fur et à mesure que les concentrations des deux extraits augmentent leurs pouvoirs réducteurs augmentent proportionnellement.

La figure 50 montre que l'extrait de feuilles de genévrier possède un fort pouvoir réducteur qui est nettement supérieur à celui du BHT. Concernant l'extrait de feuilles de thuya de Berbérie celui-ci montre un pouvoir réducteur proche de celui de l'antioxydant de synthèse (BHT).

On remarque que les capacités réductrices des extraits de feuilles des deux espèces de cupressacées étudiées sont nettement plus importantes que celles enregistrées pour les HE, ce qui est en accord avec les résultats cités auparavant pour le test de piégeage du radical DPPH.

De plus, l'intensité réductrice de nos extraits est en corrélation avec leurs teneurs en flavonoïdes et en phénols totaux. On constate donc que l'activité antioxydante de nos extraits serait attribuée à leurs teneurs en flavonoïdes et en phénols totaux. Ceci rejoint les résultats obtenus par **Djeridane et al., 2006** qui ont travaillé sur 11 extraits de plantes algériennes.

7 Evaluation de l'activité antimicrobienne des HE et des extraits testés.

L'activité antimicrobienne a été évaluée par une étude qualitative et quantitative de l'effet antimicrobien de nos HE et extraits testés.

7.1 Etude qualitative de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de nos échantillons a été faite sur 9 souches provenant de la collection du laboratoire de microbiologie du **CRD-SAIDAL**, ceci par la méthode des aromagrammes. Le pouvoir antimicrobien des HE est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par **Meena et Sethi (1994)** et **Ela et al., (1996)**. Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 4 classes :

- Fortement inhibitrice lorsque : diamètre de la zone d'inhibition ≥ 28 mm ;
- Modérément inhibitrice lorsque : $16 \text{ mm} \leq$ diamètre de la zone d'inhibition < 28 mm ;
- Légèrement inhibitrice lorsque : $10 \text{ mm} \leq$ diamètre de la zone d'inhibition < 16 mm ;
- Non inhibitrice lorsque : diamètre de la zone d'inhibition < 10 mm.

7.1.1 Etude qualitative de l'activité antimicrobienne des HE des espèces de lamiacées

Les résultats de l'activité antimicrobienne des HE sur les souches testées sont illustrés dans le tableau 29.

Tableau 29 : Diamètre des zones d'inhibitions* (en mm) des HE des espèces de lamiacées

| HE Souches | <i>Teucrium polium</i> | <i>Thymus palleescens</i> | <i>Satureja calamintha</i> | Mélange <i>Thym-Germandree</i> |
|----------------------------------|------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------------|
| Bactéries Gram + | | | | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 35,33±0,57A/d | 69,33±0,57B/a | 40,66±0,57A/c | 49±1B/b |
| <i>Enterococcus faecium</i> | 13,66±0,57CD/c | 36,33±1,52E/a | 15,66±0,57D/c | 23,33±1,15D/b |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 22±1B/c | 38,33±1,52E/a | 20±1B/b | ND |
| Bactéries Gram- | | | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | R | 16,33±1,15F/a | 10,33±0,57E/c | 13,33±0,57F/b |
| <i>Escherichia coli</i> | 14,66±0,57C/c | 46,33±1,52D/a | 16,33±0,57D/c | 27±1,73CD/b |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 14,66±0,57C/d | 49,66±1,52D/a | 19,66±1,52C/c | 29±1C/b |
| <i>Bordetella bronchiseptica</i> | 13,66±0,57CD/c | 48,66±0,57D/a | ND | 25,33±1,52DE/b |
| Levures | | | | |
| <i>Candida albicans</i> | 13,66±0,57CD/c | 57,66±0,57C/a | 11,33±0,57E/c | 49,66±1,52B/b |
| <i>Saccharomyces cereviceae</i> | 12,33±0,57D/d | 73±1,73A/a | 17,33±0,57D/c | 61,66±0,57A/b |

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type). **ND** : non déterminé. **R** : Résistante
 Lettre en majuscule : classification en groupes homogènes des souches microbienne (colonne)
 Lettre en miniscule : classification en groupes homogènes des HE des espèces de lamiacées (ligne)
 Les moyennes comportants des lettres différentes sont significativement différentes (P<0.05).

Les résultats obtenus sont illustrés graphiquement par la figure 51.

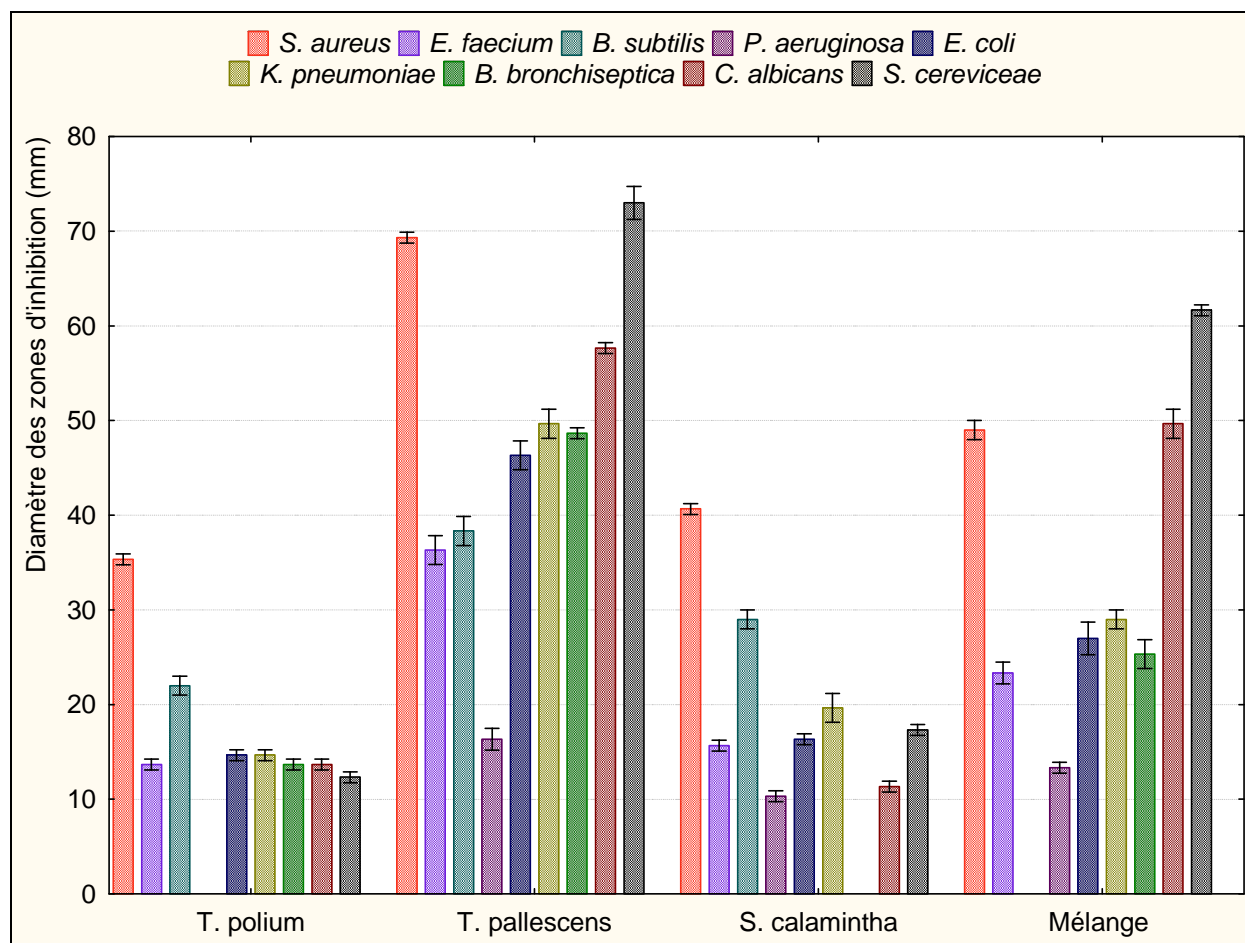


Figure 51 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibitions des espèces de lamiacées

D'après le tableau 29 et selon l'échelle citée par **Meena et Sethi (1994)** et **Ela et al., (1996)** les résultats obtenus peuvent s'interpréter comme suit :

➤ **Cas des bactéries Gram+**

- Les HE de *Teucrium polium* et de *Satureja calamintha* ont manifesté tous les deux des activités inhibitrices : fortes sur le *Staphylococcus aureus*, modérées sur *Bacillus subtilis* et légères sur *Enterococcus faecium*.
- L'HE de *Thymus pallescens* a montré une activité fortement inhibitrice sur les trois bactéries gram+ testées, tandis que le mélange des HE de thym et de germandrée a une forte activité inhibitrice sur *Staphylococcus aureus* et une activité modérément inhibitrice sur *Enterococcus faecium*.

Parmi les bactéries gram+ testées, la souche *Staphylococcus aureus* s'est montrée la plus sensible envers les HE étudiées, tandis que *Enterococcus faecium* était la plus résistante. Parmi les HE testées (tableau 29), celle de *Thymus pallescens* a montré la plus forte activité

inhibitrice envers l'ensemble des souches testées. Par contre, une association thym et germandrée a eu un effet antagoniste sur les bactéries gram+ testées.

➤ **Cas des bactéries Gram-**

- L'HE de germandrée a montré une activité légèrement inhibitrice sur *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Bordetella bronchiseptica*, alors qu'elle n'a aucun effet sur *Pseudomonas aeruginosa*.

- L'HE de *Satureja calamintha* s'est montrée modérément inhibitrice sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* et légèrement inhibitrice sur *Pseudomonas aeruginosa*.

- L'HE de *Thymus pallescens* a une forte activité inhibitrice sur *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Bordetella bronchiseptica* et une action modérément inhibitrice sur *Pseudomonas aeruginosa*, alors que le mélange de l'HE du thym et de la germandrée a une forte activité inhibitrice seulement sur *Klebsiella pneumoniae*, une action modérément inhibitrice sur *Escherichia coli* et *Bordetella bronchiseptica* et un effet légèrement inhibiteur sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Parmi les bactéries Gram- testées, la souche *Klebsiella pneumoniae* s'est montrée la plus sensible envers nos HE, alors que *Pseudomonas aeruginosa* était la plus résistante. L'HE de *Thymus pallescens* a eu la plus forte activité inhibitrice sur les quatre bactéries Gram-testées. L'association de l'HE du thym et de la germandrée a donné un effet antagoniste sur l'ensemble des souches.

➤ **Cas des levures**

- L'HE de la germandrée a une activité légèrement inhibitrice sur les deux levures testées ;

- L'HE de *Satureja calamintha* a une activité modérément inhibitrice envers *Saccharomyces cereviceae* et légèrement inhibitrice sur *Candida albicans*;

- L'HE de *Thymus pallescens* a une forte activité inhibitrice sur les deux levures ;

- Le mélange de l'HE du thym et de la germandrée a une activité fortement inhibitrice sur les deux levures testées.

Parmi les levures testées, *Candida albicans* s'est montrée la plus résistante envers les différentes HE alors que *Saccharomyces cereviceae* était plus sensible. L'HE de *Thymus pallescens* a eu le plus grand effet inhibiteur. L'association de l'HE du thym et de la germandrée a donné un effet antagoniste sur les deux levures.

7.1.2 Etude qualitative de l'activité antimicrobienne des HE des espèces de cupressacées

Les résultats de l'activité antimicrobienne des HE sur les souches testées sont illustrés dans le tableau 30 :

Tableau 30 : Diamètre des zones d'inhibitions* (en mm) des HE des espèces des cupressacées

| HE Souches | <i>Juniperus phoenicea</i> | | <i>Tetraclinis articulata</i> | |
|---------------------------------|----------------------------|-----------------|-------------------------------|---------------|
| | Feuilles | Fruits | Feuilles | Fruits |
| Bactéries Gram + | | | | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 36±1,52A/a | 19,66±1,52A/bc | 22±1A/b | 17,66±1,15B/c |
| <i>Enterococcus faecium</i> | 13,33±0,57C/a | 10,66± 0,57C/b | 12,33±0,57BCD/a | 10,33±0,57C/b |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 31,66±1,52B/a | 22±1,73A/b | 22±1A/b | 21±1A/b |
| Bactéries Gram- | | | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | R | R | R | R |
| <i>Escherichia coli</i> | 12±1C/ab | 11,66±0,57BC/ab | 13,33±0,57BC/a | 10,66±0,57C/b |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 11,33±1,15C/a | 11,66±1,52BC/a | 13,66±1,15B/a | 11,33±0,57C/a |
| Levures | | | | |
| <i>Candida albicans</i> | 11,33±0,57C | R | 11±1CD | R |
| <i>Saccharomyces cereviceae</i> | 12,33±0,57C/b | 14,33±1,15B/a | 10,66±0,57D/b | 11,33±0,57C/b |

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type). **R** : Résistante

Lettre en majuscule : classification en groupes homogènes des souches microbienne (colonne)

Lettre en miniscule : classification en groupes homogènes des HE des espèces de cupressacées (ligne)

Les moyennes comportants des lettres différentes sont significativement différentes (P<0.05).

Les résultats obtenus sont illustrés graphiquement par la figure 52.

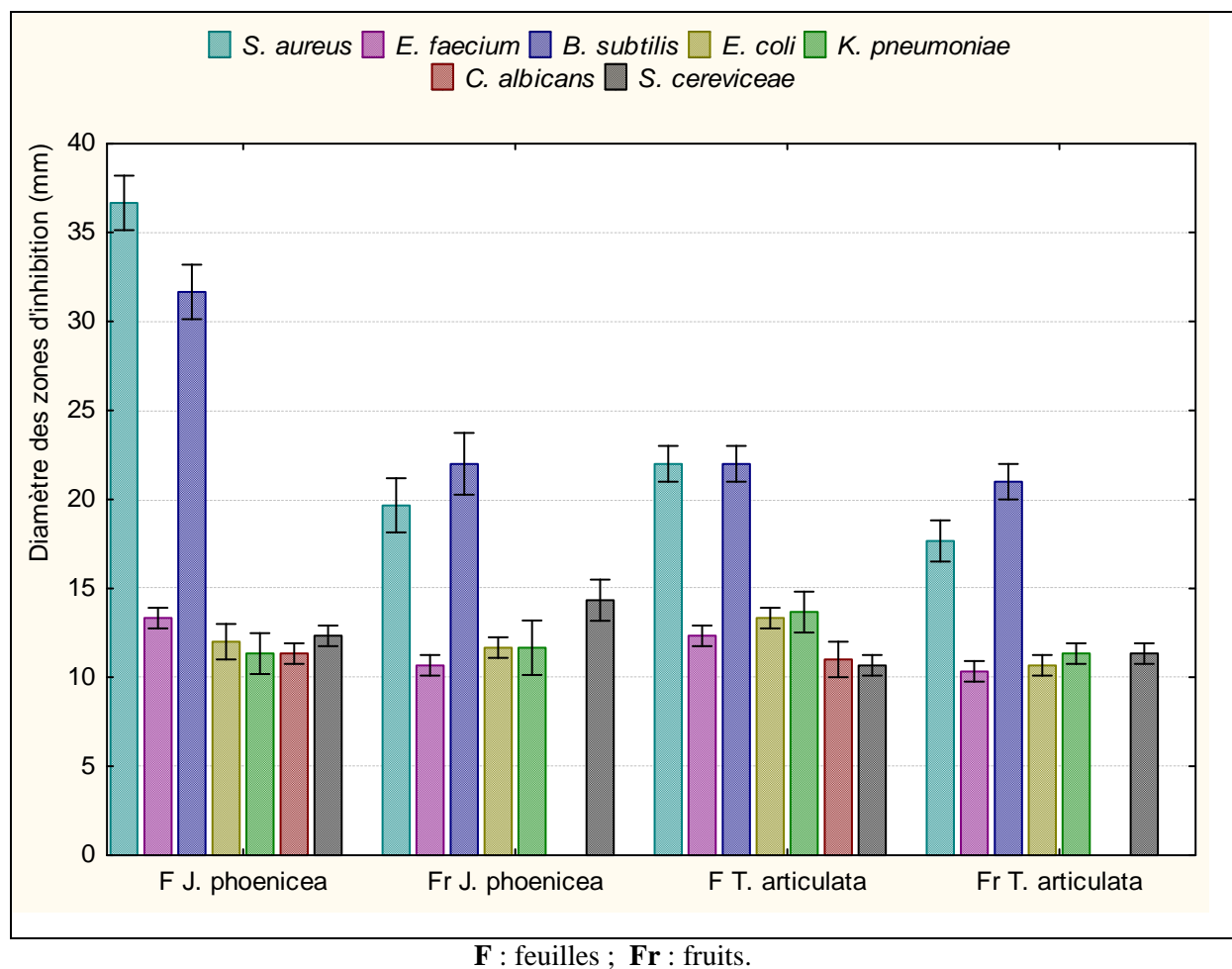


Figure 52 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibitions des espèces de cupressacées

D'après le tableau 30 et selon l'échelle citée par Meena et Sethi (1994) et Ela et al., (1996) les résultats obtenus peuvent s'interpréter comme suit :

➤ **Cas des bactéries Gram+**

- L'HE des feuilles de *Juniperus phoenicea* a une activité fortement inhibitrice envers *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et une action légèrement inhibitrice sur *Enterococcus faecium* ;
- L'HE des fruits de *Juniperus phoenicea* s'est montré modérément inhibitrice sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et légèrement inhibitrice sur *Enterococcus faecium* ;

- Les HE des feuilles et des fruits de *Tetraclinis articulata* ont une activité modérément inhibitrice envers *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et une action légèrement inhibitrice sur *Enterococcus faecium*.

- Parmi les HE des espèces de cupressacées étudiées, celle des feuilles de *Juniperus phoenicea* a montré la plus forte activité inhibitrice envers l'ensemble des bactéries Gram+ testées. *Staphylococcus aureus* s'est montré la bactérie la plus sensible.

➤ **Cas des bactéries Gram-**

- Les HE des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea* ainsi que celles des feuilles et des fruits de *Tetraclinis articulata* ont montré une activité légèrement inhibitrice sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, alors qu'elles n'ont aucun effet sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Les HE de *Juniperus* et de *Tetraclinis* ont montré une faible activité inhibitrice envers les bactéries Gram- testées. *Pseudomonas aeruginosa* s'est montré résistante à l'ensemble des huiles.

➤ **Cas des levures**

- Les HE des feuilles de *Juniperus phoenicea* et de *Tetraclinis articulata* ont une action légèrement inhibitrice envers les deux levures testées ;

- Les HE des fruits de *Juniperus phoenicea* et de *Tetraclinis articulata* ont une action légèrement inhibitrice sur *Saccharomyces cereviceae* alors que *Candida albicans* s'est montré totalement résistante à ces huiles.

Les HE des deux espèces de cupressacées étudiées ont eu une faible activité inhibitrice sur les deux levures testées. Les HE des feuilles des deux espèces se sont montrés légèrement plus active que celles des fruits. En effet *Candida albicans* est résistante aux HE des fruits de *Juniperus* et de *Tetraclinis*.

7.1.3 Etude qualitative de l'activité antimicrobienne des extraits testés

Les résultats de l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de genévrier et de thuya de Berbérie sur les souches testées sont illustrés dans le tableau 31.

Tableau 31 : Diamètre des zones d'inhibitions* (en mm) des extraits testés

| HE Souches | Extrait <i>J.phoenicea</i> | Extrait <i>T.articulata</i> |
|----------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Bactéries Gram+ | | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 27,66±1,15A | 26,66±0,57A |
| <i>Enterococcus faecium</i> | 11,66±0,57C | 11,33±1,15C |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 18,33±0,57B | 17,33±1,52B |
| Bactéries Gram- | | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 11,33±1,15C | 11,33±1,15C |
| <i>Escherichia coli</i> | 11,33±0,57C | 11±1C |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 12±1C | 10,66±0,57C |
| <i>Bordetella bronchiseptica</i> | 12,33±1,15C | 11,66±1,15C |
| Levures | | |
| <i>Candida albicans</i> | 10,33±0,57C | 10,33±0,57C |
| <i>Saccharomyces cereviceae</i> | 11,33±1,15C | 10,66±0,57C |

* : valeurs exprimées en (moyenne ± écart type).

Lettre en majuscule : classification en groupes homogènes des souches microbienne (colonne)

Les moyennes comportants des lettres différentes sont significativement différentes (P<0.05).

D'après le tableau 31 et selon l'échelle citée par **Meena et Sethi (1994)** et **Ela et al., (1996)** les résultats obtenus peuvent s'interpréter comme suit :

- Les extraits de feuilles de *J. phoeniceas* et de *T. articulata* ont tout les deux une activité modérément inhibitrice sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et légèrement inhibitrice sur *Enterococcus faecium* ;

- Ces extraits ont montré une activité légèrement inhibitrice envers toutes les bactéries Gram- et les levures testées.

Les résultats obtenus sont illustrés graphiquement par la figure 53.

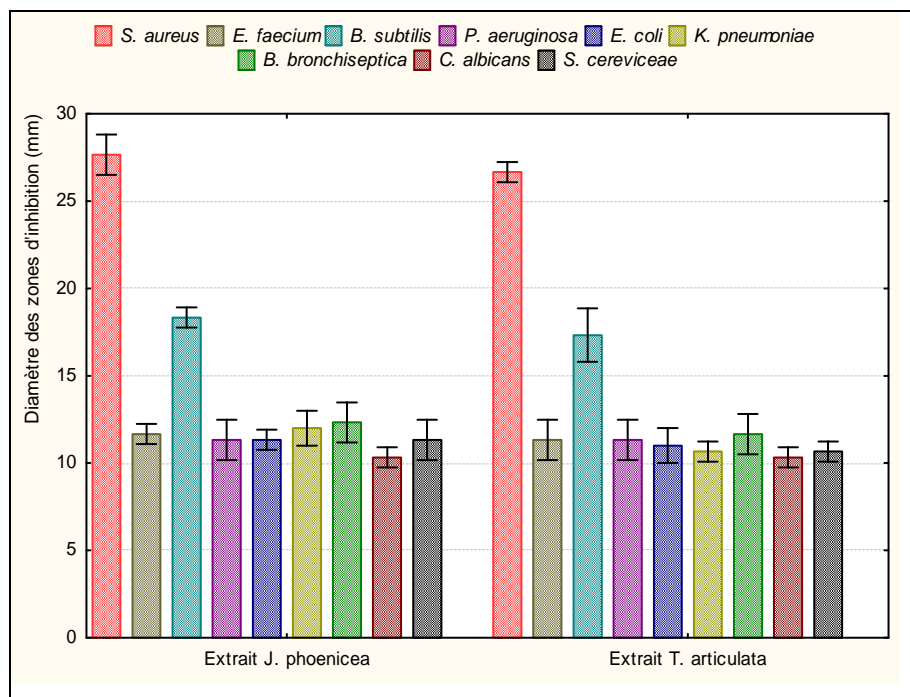


Figure 53 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibitions des extraits de *J. phoenicea* et *T. articulata*

D'après les résultats cités précédemment, on constate que l'HE du thym a la plus forte activité antimicrobienne dans toutes les huiles testées, ceci peut s'expliquer par sa richesse en carvacrol auquel on attribue généralement une forte action inhibitrice (Faleiro et al., 2005). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Hazzit (2008) qui rapporte que toutes les souches bactériennes ont montré un certain degré de sensibilité à l'HE de *Thymus pallescens*.

Le carvacrol qui est le composé majoritaire de *Thymus pallescens* est considéré comme étant biocide, il provoque des perturbations au niveau de la membrane bactérienne et ceci s'accompagne de pertes d'ATP et d'ions potassium K^+ et enfin la mort de la bactérie (Ultee et al., 1999 ; Knowles et al., 2005), cependant, il est probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique (Lahlou, 2004).

Rossi et al. (2007) ont testé l'effet antimicrobien de l'HE de *Satureja calamintha* de corse sur quatre souches bactériennes. Ils rapportent que *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus sensible à cette huile alors que *Pseudomonas aeruginosa* s'est montré la plus résistante, ce qui est en accord avec nos résultats.

Les travaux réalisés par Kabouche⁽²⁾ et al. (2005) montrent que *Bacillus subtilis* est résistante à l'HE de *Teucrium polium ssp. aurasiacum* alors que les bactéries Gram- montrent une grande sensibilité à cette huile ce qui n'est pas en accord avec nos résultats.

L'association thym-germandrée s'est avérée inutile, bien au contraire elle a eu un effet antagoniste sur l'ensemble des souches testées. Ce qui n'est pas en accord avec les résultats d'**Hermal (1993)** qui a signalé un effet synergique ou indifférent dans une association thym-cannelle.

Les résultats rapportés par **Mazari et al. (2010)** sur l'effet antimicrobien des HE des feuilles de *Juniperus phoenicea* provenant de la région de Tlemcen ont montré une sensibilité des souches microbiennes à cette huile avec des zones d'inhibition qui varient entre 6.5- 15 mm selon la souche testée. *Pseudomonas aeruginosa* s'est montrée résistante à cette huile ce qui est le cas dans notre étude.

L'HE des feuilles de *Tetraclinis articulata* présente une faible activité inhibitrice vis-à-vis des germes testés. Cependant, les microorganismes étudiés n'ont pas manifesté la même sensibilité vis-à-vis de l'HE sauf pour *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, ces dernières ont présenté la même vulnérabilité à cette essence.

L'activité antimicrobienne de cette HE est due principalement à son profil chimique. Il est à préciser que notre essence est caractérisée par la présence de l' α -pinène connu pour son effet inhibiteur. D'autre part, les esters et surtout l'acétate de bornyle (40,2%), peuvent aussi participer à l'effet antibactérien enregistré. En effet, en se basant sur les travaux de **Tzakou et al. (1998)**, les HE de deux chémotypes de *Thymus longicaulis* riches en acétate de géranyl pour le premier et en acétate d' α -terpényle pour le deuxième, possèdent une grande activité antimicrobienne.

Les résultats rapportés par **Bourkhiss⁽²⁾ et al. (2007)** sur l'effet antimicrobien de l'HE des feuilles de *Tetraclinis articulata* provenant du Maroc et possédant le même profil chimique que notre espèce coïncident avec les résultats trouvés.

D'après le tableau 30, on remarque que l'HE des feuilles de *J. phoeniceas* a une activité inhibitrice supérieure à celle des fruits sur toutes les souches testées sauf pour *Saccharomyces cereviceae* où l'HE des fruits était meilleure, la même remarque a été enregistrée pour les HE de *T. articulata*. **El-sawi et al. (2007)** rapportent le même résultat que le notre en testant l'effet antimicrobien des HE des feuilles et des fruits de *J. phoenicea* d'Egypte.

L'activité antimicrobienne des HE de genévrier et de thuya de Berbérie peut en partie, être associée à leurs principaux constituants tel que : α -pinène, terpinyle acetate, bornyle acetate, caryophyllène oxyde et β -phellandrène. Ces composés sont connus pour leurs effets

antimicrobiens (Cosentino *et al.*, 1999; Alessandra *et al.*, 2005; Yang *et al.*, 2007; Demirci *et al.*, 2007).

Selon Dorman et Deans (2000) les HE contenant des terpènes possèdent des propriétés antimicrobiennes, ce qui explique nos résultats. En outre, les composants présents en faible quantité peuvent également contribuer à l'activité antimicrobienne des HE ; en impliquant probablement un certain type de synergie avec d'autres composés actifs (Marino *et al.*, 2001).

On remarque que de façon identique aux HE, les extraits ont une plus grande capacité inhibitrice sur les bactéries Gram+ que sur les bactéries Gram-. Ceci serait lié à la plus grande sensibilité aux composés apolaires tels que les phénols totaux et les flavonoïdes, dont le mode d'action semble être similaire à l'action des composés présents dans les HE (Ultee *et al.*, 2002 ; Fernandez-Lopez *et al.*, 2005 ; Pérez-Fons *et al.*, 2006). Des résultats similaires ont été rapportés par Hayouni *et al.* (2007) après avoir testé l'effet antimicrobien de l'extrait de fruits de *J. phoenicea* ainsi que par d'autres auteurs en utilisant différents extraits (Candan *et al.*, 2003 ; Negi et Jayaprakasha, 2003).

D'après le tableau 31, On remarque que les extraits de feuilles de *J. phoenicea* et de *T. articulata* ont des zones d'inhibition presque similaires sur l'ensemble des souches testées, ceci est dû à leurs teneurs en polyphénols et flavonoïdes qui se rapprochent.

On remarque aussi que les extraits de *J. phoenicea* et de *T. articulata* n'ont pas montré une activité inhibitrice supérieure à celle des HE de feuilles de mêmes espèces, ceci peut être dû au fait que les extraits sont solides, donc on les a dilués pour pouvoir les utiliser.

Pour *Pseudomonas aeruginosa*, cette dernière s'est montrée sensible aux extraits de feuilles de *J. phoenicea* et de *T. articulata* alors qu'elle s'est montrée résistante pour les HE de ces deux espèces. Ceci peut être attribué à la richesse des extraits en phénols totaux et en flavonoïdes contrairement aux HE qui sont riches en composés terpéniques (Del campo *et al.*, 2000).

Il est à noter que l'activité antimicrobienne de l'extrait de fruits de *Juniperus phoenicea* de Tunisie cité par Hayouni *et al.* (2007) est plus forte que celle enregistrée pour l'extrait de feuilles de notre espèce.

Selon Valero et Salmeron (2003) et Pibiri (2006), il est très difficile de faire une comparaison entre les résultats trouvés et ceux rapportés par la littérature, ceci peut être dû :

- Nature du matériel végétal (l'espèce, extrait ou l'HE, origine géographique, altitude, saison de cueillette) ;

- Procédé d'extraction ;
- Composition chimique des HE utilisées ;
- Niveau de pureté du produit final et sa conservation ;
- Nature des souches testées ;
- Méthodes utilisées pour estimer l'activité antimicrobienne ;
- Milieux de culture employés (milieu synthétique ou naturel) ;
- Qualité des souches testées.

D'une façon générale, ce que l'on peut dire, c'est que les HE des espèces de lamiacées ont une activité antimicrobienne meilleure que celles des HE des espèces de cupressacées étudiées. Ceci est dû à leurs compositions chimiques où on trouve plus de composés oxygénés dans les lamiacées. Les composés chimiques de plus grande efficacité et à plus large spectre sont des phénols (thymol, carvacrol et eugénol), des alcools (α -terpineol, 4-terpineol, linalool), des aldéhydes, des cétones et plus rarement des terpènes (**Cosentino et al., 1999 ; Dorman et Deans, 2000**).

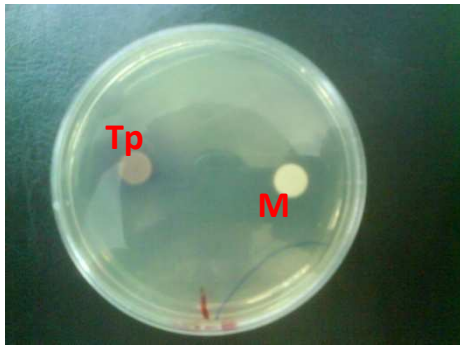
Staphylococcus aureus s'est avérée la plus sensible des souches testées, cette sensibilité accrue est confirmée par les travaux de **Özkan et al. (2003) ; Pibiri (2006) ; Kabouche⁽²⁾ et al. (2005)**.

Pseudomonas aeruginosa quant à elle s'est montrée la plus résistante des souches testées. Cette résistance est due à la capacité de celle-ci à former un biofilm. Ce dernier est une organisation complexe, composée de différentes strates dans lesquelles les bactéries se trouvent dans des états physiologiques spécifiques à leur situation. Ainsi, toute la population bactérienne n'est pas exposée simultanément et identiquement au produit (**Pibiri, 2006**).

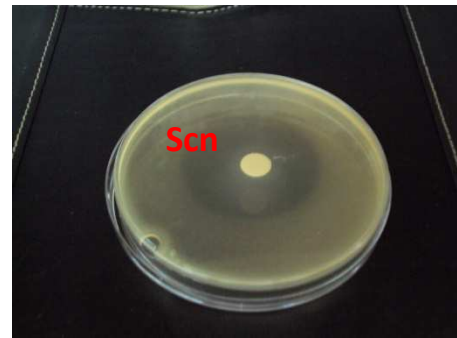
Ainsi donc, et d'après les résultats trouvés on peut dire que les bactéries Gram+ sont plus sensibles que les Gram-, ce qui est en accord avec les travaux de **Cosentino et al. (1999) ; de Billerbeck (2000) ; Hayouni et al. (2007)**. La faible sensibilité de ces dernières est à mettre en relation avec la présence d'une seconde membrane lipopolysaccharidique jouant un rôle de barrière vis-à-vis des HE (**Chao et al., 2000**).

La sensibilité de *Staphylococcus aureus* envers les différents échantillons testés ainsi que la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* sont illustrées par les photos des figures 54 et 55.

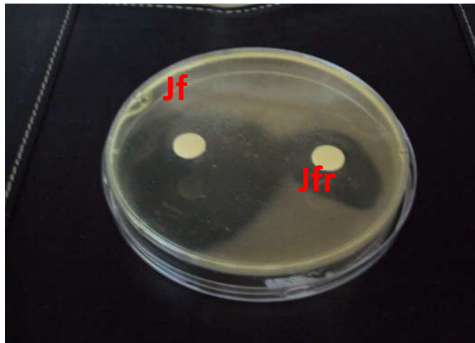
La figure 56 montre les photographies des résultats obtenus pour les HE testées sur *Saccharomyces cereviceae*.



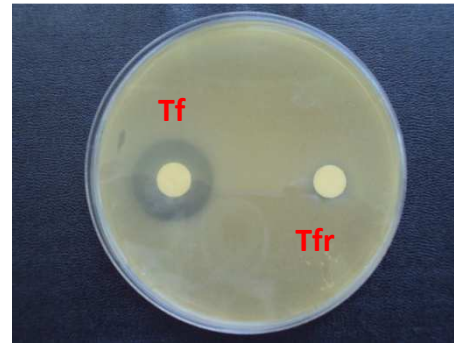
Tp : *Thymus pallescens*, **M** : Mélange



Scn : *Satureja calamintha ssp nepeta*



Jf : *Juniperus phoenicea* (feuilles)
Jfr : *Juniperus phoenicea* (fruits)



Tf : *Tetraclinis articulata* (feuilles)
Tfr : *Tetraclinis articulata* (fruits)

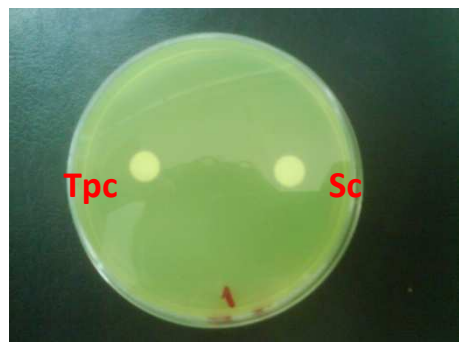


Ej : Extrait *Juniperus phoenicea*

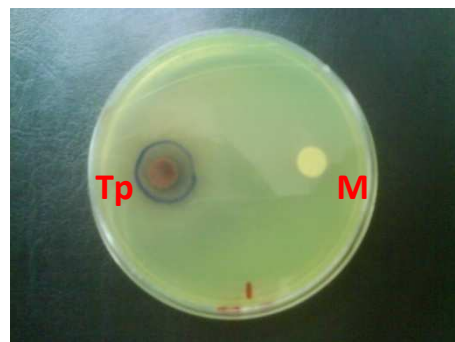


Et : Extrait *Tetraclinis articulata*

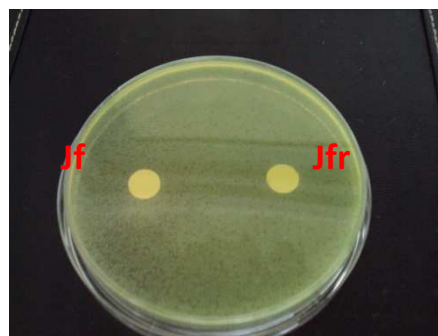
Figure 54 : Zones d'inhibition des HE et des extraits testés sur *Staphylococcus aureus*



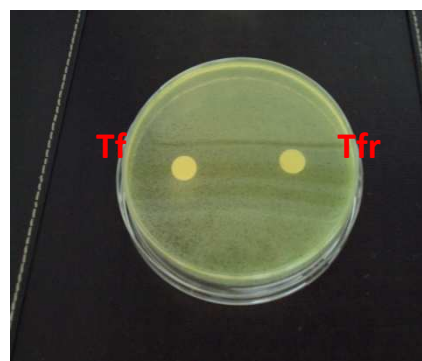
Tpc : *Teucrium polium* ssp *capitatum*
Scn: *Satureja calamintha* ssp *nepeta*



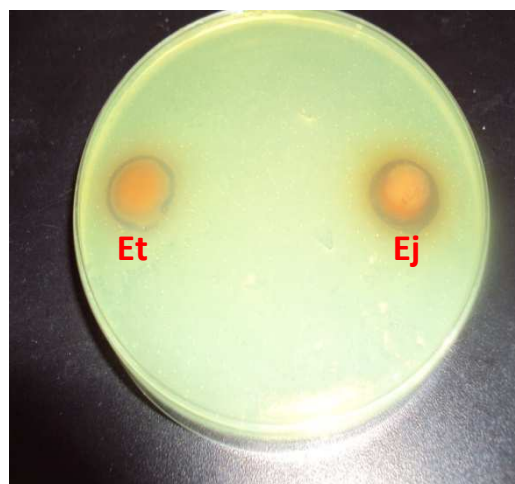
Tp : *Thymus pallescens*,
M : Mélange



Jf : *Juniperus phoenicea* (feuilles)
Jfr : *Juniperus phoenicea* (fruits)



Tf : *Tetraclinis articulata* (feuilles)
Tfr : *Tetraclinis articulata* (fruits)



Ej : Extrait *Juniperus phoenicea*
Et : Extrait *Tetraclinis articulata*

Figure 55 : Zones d'inhibition des HE et des extraits testés sur *Pseudomonas aeruginosa*

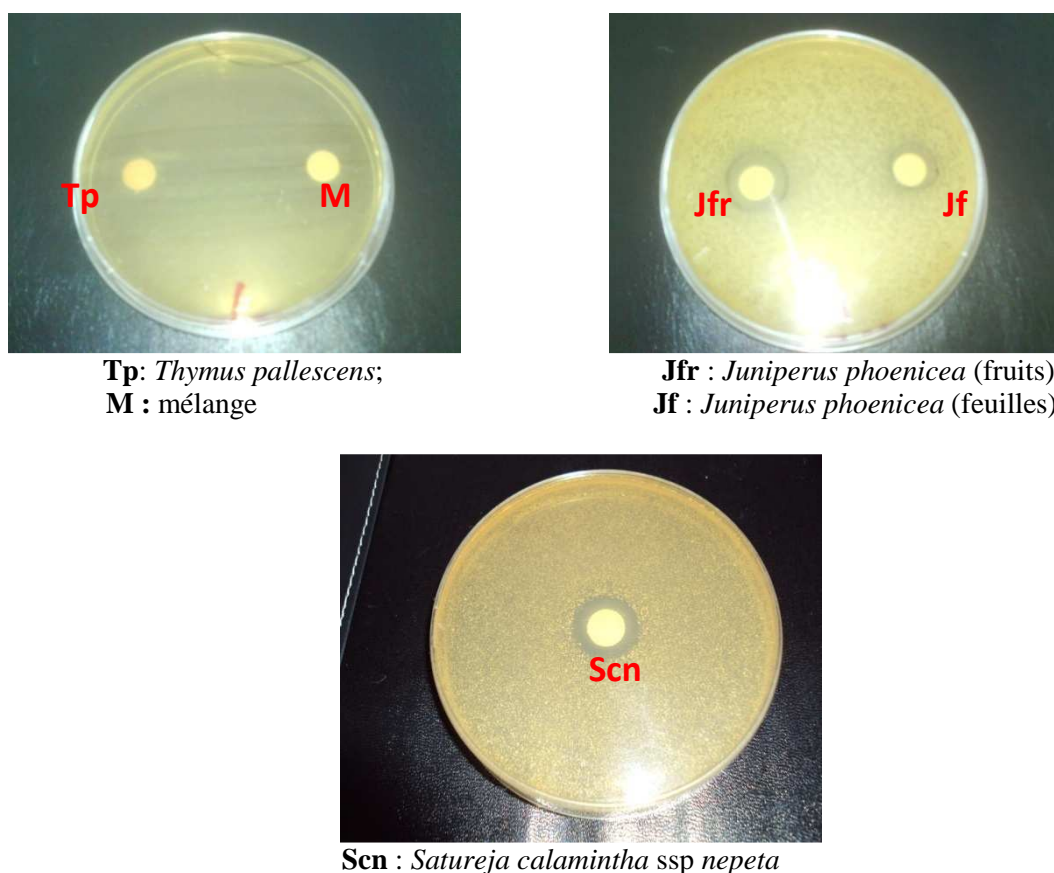


Figure 56 : Zones d'inhibition des HE testés sur *Saccharomyces cereviceae*.

7.2 Etude quantitative de l'activité antimicrobienne

Afin de confirmer les résultats trouvés précédemment dans l'étude qualitative de l'activité antimicrobienne, nous avons procédé à la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des HE de *Thymus pallescens*, *Satureja calamintha ssp nepeta*, des feuilles de *Juniperus phoenicea* ainsi que celles des extraits étudiés.

Les valeurs des CMI des HE et des extraits testés vis-à-vis des souches microbiennes sensibles sont représentées dans le tableau 32.

Tableau 32 : Concentration Minimales Inhibitrices (CMI) des HE et des extraits

| Souches | CMI % HE | | | CMI % extraits | |
|------------------------------|--------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------|---------------------|
| | <i>Thymus pallescens</i> | <i>Satureja calamintha</i> | Feuilles <i>J. phoenicea</i> | <i>J. phoenicea</i> | <i>T.articulata</i> |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,06 | 0,25 | 0,5 | 0,25 | 0,125 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | 0,06 | 0,25 | 0,5 | 0,25 | 0,25 |
| <i>Enterococcus faecium</i> | 0,125 | 0,5 | 1 | 0,125 | 0,125 |
| <i>Escherichia coli</i> | 0,125 | 0,5 | 1 | - | - |

| | | | | | |
|--------------------------------------|------|-------|------|-----|-----|
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 0,06 | 0,125 | 2 | 1 | 1 |
| <i>Bordetella bronchiseptica</i> | - | - | - | 0,5 | 0,5 |
| <i>Candida albicans</i> | 0,06 | 0,125 | 0,25 | 2 | 2 |
| <i>Saccharomyces cereviceae</i> | 0,06 | 0,125 | 0,25 | 1 | 1 |

Les principaux résultats obtenus lors de la détermination des CMI et représentés dans le tableau ci-dessus sont illustrés par les photographies des figures 57-62.

D'après les résultats obtenus on constate que :

Les valeurs des CMI obtenues varient en fonction des souches testées et des échantillons utilisés ;

L'HE de *Thymus pallescens* a montré la plus forte inhibition avec des valeurs très faible de CMI ce qui confirme les résultats précédemment obtenus avec la méthode de diffusion sur gélose (aromatogramme);

Les valeurs de CMI enregistrées pour l'espèce de thym sont de 0,06% pour l'ensemble des souches testées sauf pour *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* où les CMI sont de 0,125% ;

Pour les extraits, ces derniers ont montré des CMI très proches ce qui explique la similitude des diamètres de leurs zones d'inhibitions.

L'ensemble des espèces bactériennes ont subit une action bactériostatique a des concentrations différentes. Les bactéries Gram+ se sont montrées plus sensible que les Gram- ce qui confirme les résultats obtenus dans l'étude qualitative de l'activité antimicrobienne.

Les valeurs de CMI obtenues pour l'extrait de feuilles de genévrier sont plus faibles que celles obtenues pour son l'HE pour l'ensemble des souches testés sauf pour les deux levures. Ce fort pouvoir bactériostatique de cet extrait par rapport à celui de l'HE est attribué à sa richesse en phénols totaux et flavonoïdes (**Del campo et al. 2000**).

D'après les travaux de **Schelz et al. (2006)** réalisés sur l'espèce de thym et de genévrier on constate que les valeurs de CMI rapportées sont très proches à celles trouvées. Par contre **Angioni et al. (2003)**, ont enregistré pour l'espèce de *Juniperus phoenicea* des CMI inférieures à les notre. Cette différence du pouvoir inhibiteur est attribuée à sa teneur en certains composés actifs, qui est elle même liée aux conditions écologiques dans lesquelles évolue la plante, à la période de récolte et au mode d'extraction (**Ozcan et Erkmen, 2001 ; Oussalah et al., 2008**).

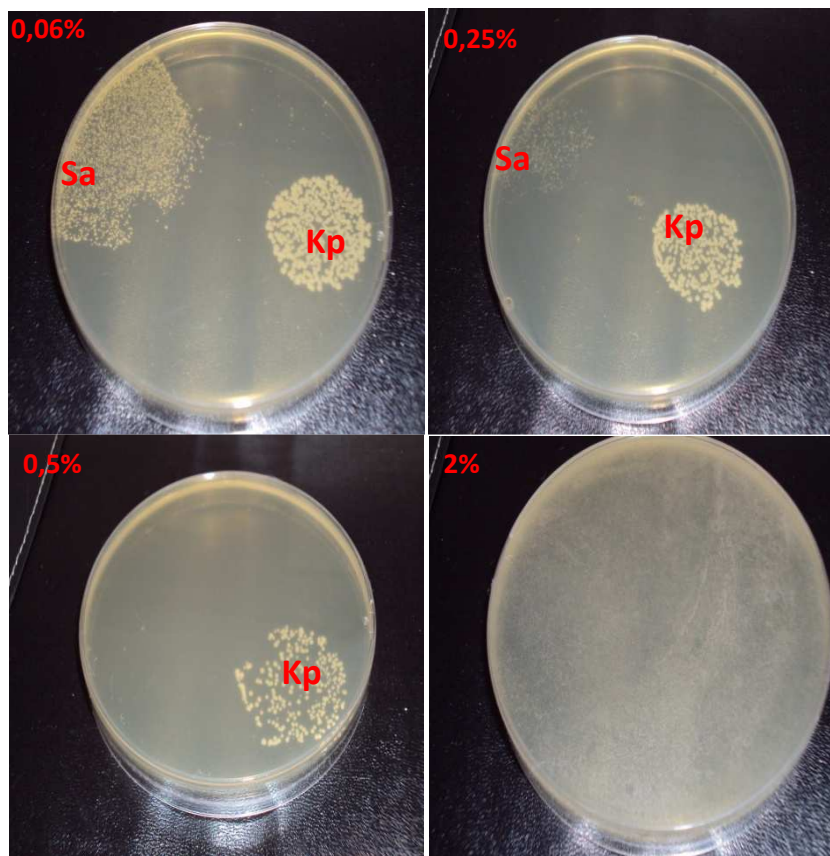


Figure 57: Détermination des CMI de l'HE des feuilles de *Juniperus phoenicea* vis-à-vis de *S. aureus*(Sa) et *K. pneumoniae*(Kp).

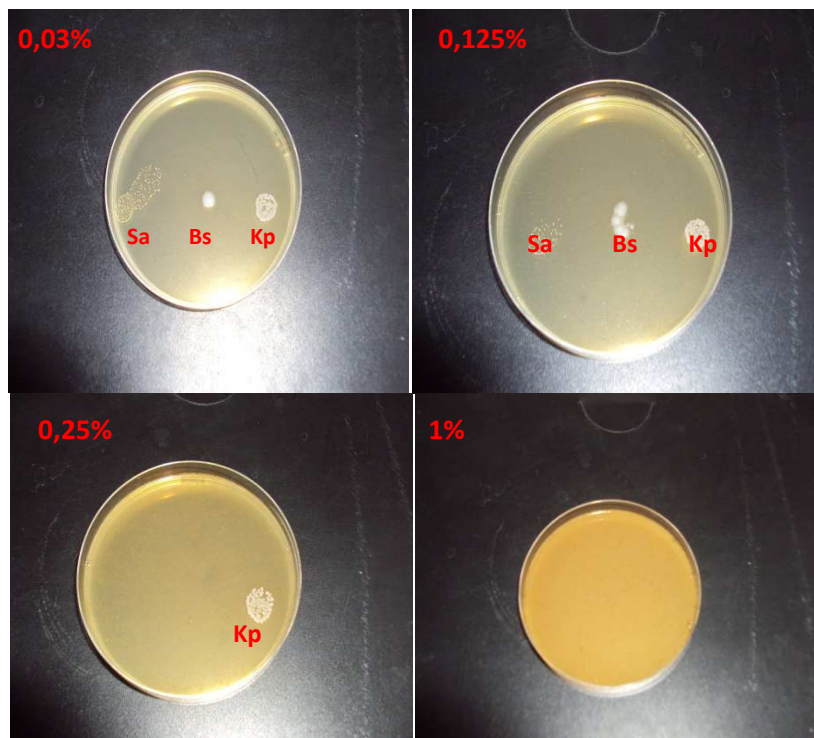


Figure 58: Détermination des CMI de l'extrait des feuilles de *J. phoenicea* vis-à-vis de *S. aureus*(Sa), *B. subtilis*(Bs) et *K. pneumoniae*(Kp).

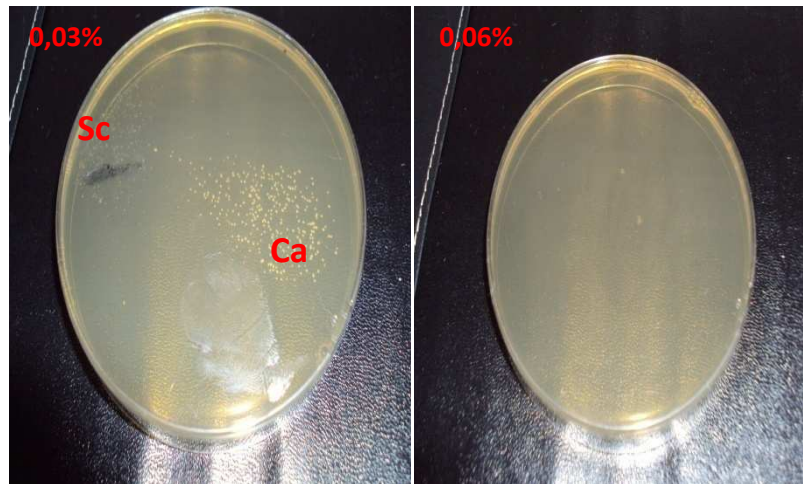


Figure 59 : Détermination des CMI de l'HE de *Thymus pallescens* vis-à-vis de *S. cereviceae*(Sc) et *C. albicans*(Ca)

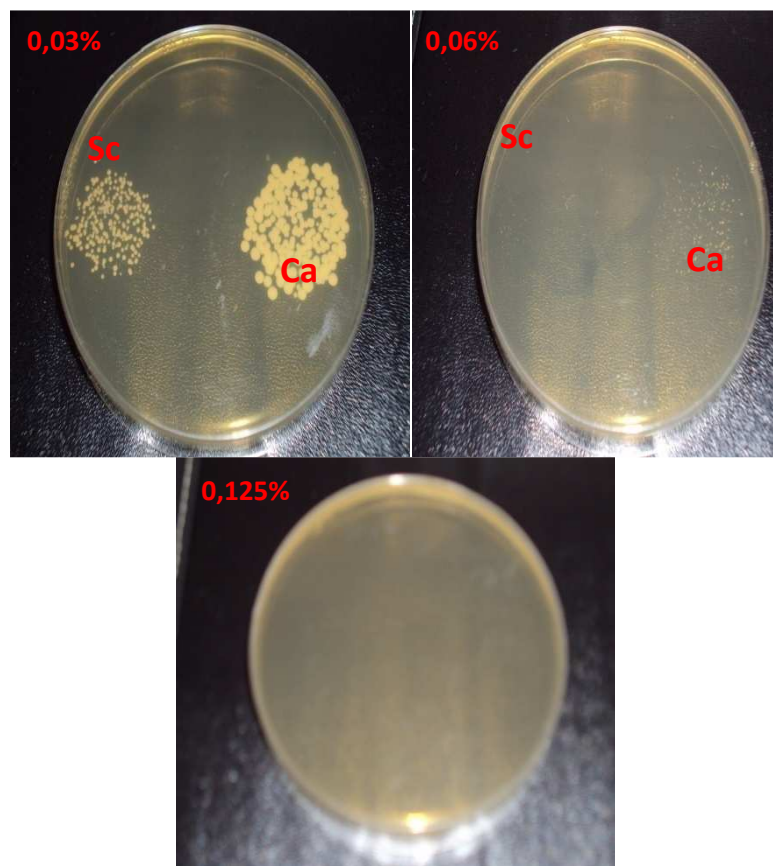


Figure 60 : Détermination des CMI de l'HE de *Satureja calamintha* vis-à-vis de *S. cerevisiae*(Sc) et *C. albicans*(Ca)

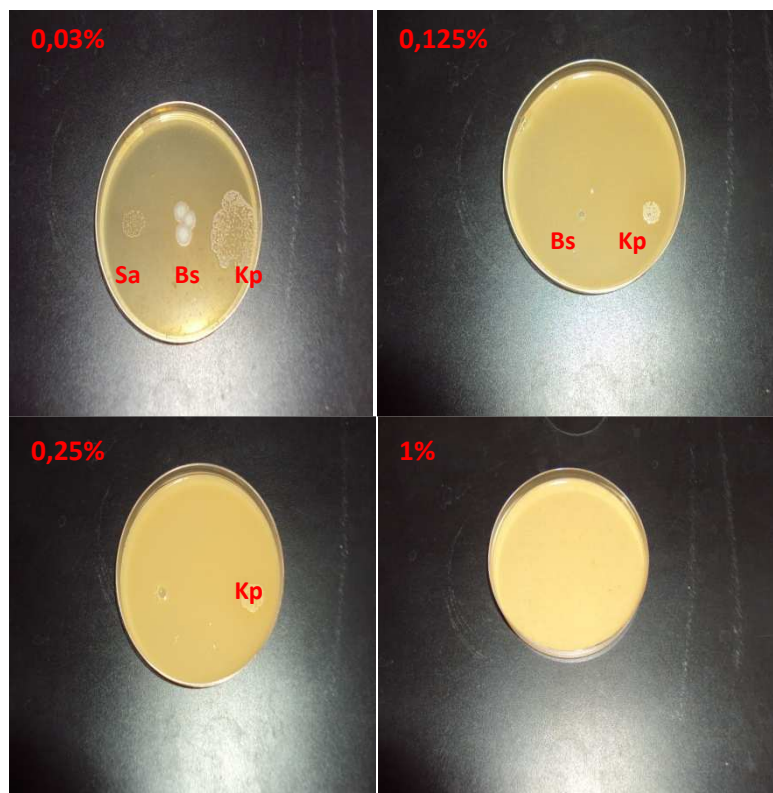


Figure 61 : Détermination des CMI de l'extrait des feuilles de *Tetraclinis articulata* vis-à-vis de *S. aureus*(Sa), *B. subtilis*(Bs) et *K. pneumoniae*(Kp)

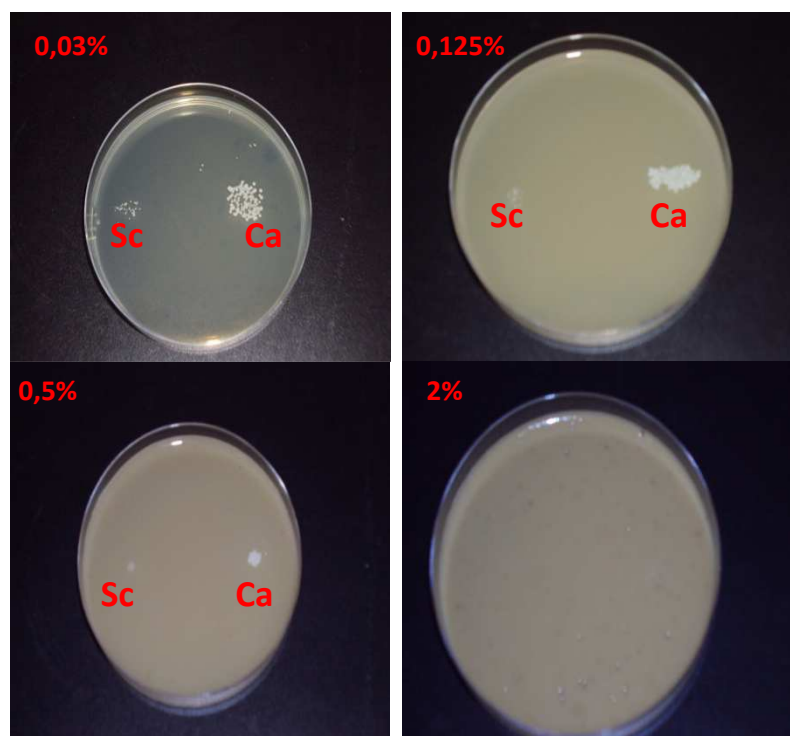


Figure 62 : Détermination des CMI de l'extrait des feuilles de *T. articulata* vis-à-vis de *S. cerevisiae*(Sc) et *C. albicans*(Ca)

Conclusion générale

Conclusion générale

Actuellement, il existe une grande inquiétude sur le danger que peuvent présenter les conservateurs chimiques dont beaucoup sont suspects en raison de leurs actions cancérigènes et allergènes ou de leur toxicité résiduelle. C'est pour cela que le consommateur soucieux de sa santé, commence à prendre conscience de l'importance du retour au naturel.

A cet effet et dans le cadre de la valorisation de la flore spontanée poussant en Algérie, nous avons mené un travail qui consistait à étudier la composition chimique et l'activité biologique des HE de *Thymus palleescens*, *Teucrium polium ssp capitatum*, *Satureja calamintha ssp nepeta*, *Juniperus phoenicea* et *Tetraclinis articulata* et celle des extraits de feuilles de *J. phoenicea* et de *T. articulata*.

De cette étude nous pouvons ressortir les points suivants :

Les observations des coupes histologiques sous microscope photonique des tiges et des feuilles de la germandrée et du thym ont révélé la présence de poils tecteurs, sécréteurs et glandulaires exogènes, alors que celles des feuilles et des fruits de genévrier ont révélé la présence de canaux sécréteurs endogènes.

L'extraction des HE par hydrodistillation a fourni des rendements de 4,8% (ml/100g de matière végétale fraîche) pour le thym, 0,39% et 2,75% pour les feuilles et les fruits de genévrier respectivement.

La cinétique d'extraction de l'HE du thym avec et sans broyage de la matière végétale a montré que la majorité de l'essence est extraite au bout des 50 premières minutes et que le broyage n'améliore pas le rendement en cette huile.

La caractérisation des HE étudiées par une analyse qualitative par CPG et CG-SM nous a permis d'identifier :

✓ 79 composés de l'HE de *Teucrium polium* dont le t-cadinol (18,3%), germacrène D (15,3%) et β -pinène (10,5%) sont les composés majoritaires ;

✓ 48 composés qui correspondent à une teneur de 98,9% de l'ensemble de l'HE de *Thymus palleescens* et appartenant au chémotype carvacrol, ce dernier représente un taux de 57,7% suivi par le γ -terpinene (13,4%) et le p-cymene (10,3%) ;

✓ 26 composés de l'HE de *Satureja calamintha* avec la pulegone (39,5%), le neo-menthol (33%) et l'isomenthone (19,6%) comme composés principaux ;

✓ 66 et 49 composés des HE des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea* respectivement. Le composé majoritaire des deux HE est l' α -pinene avec des taux de 34.4 (feuilles) et 80.8% (fruits) suivi du Terpenenyl acetate (7.2%), δ -3-Carene (5.9%) et δ -

Cadinene (5.8%) pour les feuilles et du Caryophyllene oxide (3.9%), δ -3-Carene(1.9%) et β -pinene(1.8%) pour les fruits.

✓ 38 et 34 composés de l'HE des feuilles et des fruits de *Tetraclinis articulata* respectivement. Les composés monoterpéniques enregistrent le plus grand taux (87.1%) dans l'HE des feuilles avec une légère dominance des monoterpènes oxygénés (44.2%) avec le bornyl acétate (40.2%) comme composé principale. Tandis que les hydrocarbures monoterpéniques représentent la quasi-totalité de l'huile essentielle des fruits (83.9%) avec la dominance de l' α -Pinene (57.5%) suivi du limonene (20.9%) et du β -Caryophyllene (5.9%).

En ce qui concerne les extraits, les rendements d'extraction enregistrés sont de 60% pour l'extrait de feuilles de *J. phoenicea* et de 28% pour celui de *T. articulata*.

L'évaluation de la teneur en phénols totaux des extraits, nous a permise d'enregistrer une teneur de 417 μ g GAE/mg pour l'extrait de *Juniperus phoenicea* et 352 μ g GAE/mg pour celui de *Tetraclinis articulata*. Le dosage des flavonoïdes de ces extraits révèle des teneurs de 20 μ g QE/mg et 18 μ g QE/mg pour l'extrait de *J. phoenicea* et de *T. articulata* respectivement.

Nous avons testé *in vitro* 9 échantillons pour leur possible activité antioxydante et antimicrobienne.

L'activité antioxydante a été évaluée par deux tests différents : l'inhibition du radical DPPH et le pouvoir réducteur.

Parmi les sept échantillons d'huiles testés, l'inhibition du radical DPPH exprimée en terme de concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC_{50}), n'a été évaluée que pour l'HE de thym (IC_{50} =434,24 mg/l) étant donné que pour les autres huiles cette grandeur ne pouvait pas être atteinte. Pour les autres huiles, à la plus forte concentration (1000mg/l), elles n'arrivent pas à dépasser 15% d'activité de piégeage. Par contre, les extraits ont montré une activité de piégeage du radical DPPH plus élevée que celle du BHT (IC_{50} =28mg/l) avec une légère supériorité de l'extrait de genévrier (IC_{50} =9,81mg/l) par rapport à celui de thuya de Berbérie (IC_{50} =9,88mg/l). Ce fort pouvoir serait attribué à la forte teneur des extraits en composés phénoliques.

Les HE testées ont montré des pouvoirs réducteurs assez faibles. Le thym a manifesté le pouvoir réducteur le plus élevé par rapport aux autres huiles testées et qui est équivalent à celui du BHT mais il reste inférieur à celui du BHA et de l'acide ascorbique. Parmi les deux extraits testés celui du genévrier a montré la plus forte capacité réductrice qui est nettement supérieure à celle du BHT.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des HE et des extraits testés a été réalisée par une étude qualitative et quantitative sur 9 souches microbiennes (3 Gram +, 4 Gram -, et 2 levures).

Les HE et les extraits étudiés ont montré une action inhibitrice envers la majorité des souches microbiennes testées.

L'HE du thym a la plus forte activité antimicrobienne parmi toutes les huiles testées, ceci peut s'expliquer par sa richesse en carvacrol auquel on attribue généralement une forte action inhibitrice. Par contre l'HE des fruits de *T. articulata* est la moins active.

L'activité antimicrobienne du mélange thym-germandrée a montré un effet antagoniste sur l'ensemble des souches testées, donc il est plus intéressant d'utiliser l'HE de thym seul qu'en association avec celle de la germandrée ;

Parmi les bactéries testées, *Staphylococcus aureus* s'est montrée la plus sensible à l'action des HE et d'extraits testés, contrairement à *Pseudomonas aeruginosa* qui était la moins sensible.

On remarque que *Pseudomonas aeruginosa* est sensible aux extraits de feuilles de *T. articulata* et de *J. phoenicea* alors qu'elle s'est montrée résistante aux HE obtenues à partir des feuilles des mêmes espèces.

Il est à noter que les extraits de *J. phoenicea* et de *T. articulata* n'ont pas montré une activité inhibitrice supérieure à celle des HE de feuilles de mêmes espèces.

En ce qui concerne l'étude qualitative de l'activité antimicrobienne, les HE de thym, de calament, des feuilles de genévrier ainsi que les deux extraits montrent une action bactériostatique sur l'ensemble de bactéries testées, ceci à des concentrations différentes.

Les valeurs des CMI enregistrées pour l'espèce de thym varient entre 0,06% et 0,125% pour l'ensemble des souches testées.

Pour les extraits, ces derniers ont montré des CMI très proches ce qui a expliqué la similitude des diamètres de leurs zones d'inhibitions.

Les valeurs des CMI obtenues pour l'extrait des feuilles de genévrier sont plus faibles que celles obtenues pour son HE, et ceci pour l'ensemble des souches testés mis à part les deux levures. Ce fort pouvoir bactériostatique est attribué à la richesse des extraits en phénols totaux et flavonoïdes.

L'activité antimicrobienne des HE est hautement dépendante de leurs compositions chimiques (principalement les phénols). Il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique. De ce fait, la valeur d'une HE tient à son

« totum », c'est à dire à l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires.

Enfin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances de source naturelle biologiquement actives. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Dans la perspective de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait intéressant :

- De tester d'autres méthodes d'extractions et leurs influences sur la composition chimique et les capacités biologiques ;
- D'approfondir l'analyse de la composition chimique des différents extraits obtenus, afin d'identifier les espèces chimiques responsables de leurs activités biologiques ;
- De tester les principaux composés et comparer leurs pouvoirs antimicrobiens et antioxydants avec ceux des HE ;
- De vérifier les résultats expérimentaux dans un aliment sélectionné.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Achak N., Romane A., Abbad A., Ennajjar M., Romdhane M. et Abderrabba A., 2008.** Essential oil composition of *Juniperus phoenicea* from Morocco and Tunisia. Journal essential oil-bearing plants, Vol. 11, n. 2, p.p. 137-142.
- **Achak N., Romane A., Alifriqui M. et Adams R.P., 2009.** Chemical studies of leaf essential oils of three species of *Juniperus* from Tensift Al Haouz-Marrakech region (Marocco). Journal of Essential Oil Research, Vol. 21, p.p. 337-341.
- **Achhal A., 1986.** Étude phytosociologique et dendrométrique des écosystèmes forestiers du bassin versant du N'Fis (Haut Atlascentral). Th. Doctorat, Univ. Aix-Marseille, 204 P.
- **Adams R.P., 1999.** Systematics of *Juniperus* section *Juniperus* based on leaf essential oils and random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). Biochemical Systematics and Ecology, vol.28, p.p. 515-528.
- **Adams R.P., Mumba L.E., James S.A, Pandey R.N., Gauquelin T et Badri W., 2003.** Geographic variation in the leaf oils and DNA fingerprints (RAPDs) of *Juniperus thurifera* from Morocco and Europe. Journal of Essential Oil Research, Vol. 15, n. 3, p.p. 148-154.
- **AFNOR (2000).** Association française de normalisation. Normes française : huile essentielle. Ed. Afnor, Paris.
- **Alessandra L.O., Roberta B.L., Fernando A.C., Marcos N.E., 2005.** Volatile compounds from pitanga fruit (*Eugenia uniflora* L.). Food chemistry, V. 99, p.p. 1–5.
- **Alibert G., Ranjeva R., et Boudet M.A., 1977.** Organisation subcellulaire des voies de Synthèse des composés phénoliques. Physiol. Veg., Vol. 15, p.p. 279 - 301.
- **Alonso W.R. et Croteau R., 1993.** Prenyltransferases and cyclases: Methods Plant. Biochemistry, Vol. 9, p.p. 239–260.
- **Angioni A., Barra A., Russo M.T., Coroneo V., Dess S. et Cabras P., 2003.** Chemical Composition of the Essential Oils of *Juniperus* from Ripe and Unripe Berries and Leaves and Their Antimicrobial Activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 51, n.10, p.p. 3073-3078
- **Anietot N., 1988.** Utilisation des plantes aromatiques et médicinales en agriculture pour le sol, le compost, et l'alimentation. Ed. Guy Tredaniel, Paris. 149 P.

- **Asili J., Emami S.A., Rahimizadeh M., Fazly-Bazzaz B.S. et Hassanzadeh M.K., 2008.** Chemical and Antimicrobial Studies of *Juniperus communis* subsp. *hemisphaerica* and *Juniperus oblonga* essential oil. Journal of Essential Oil Bearing plants, Vol. 11, n. 1, p.p. 96-105.
- **Baher Z. F. et Mirza M., 2003.** Volatile constituents of *Teucrium flavum* L. from Iran. Journal of Essential Oil Research, Vol. 15, n. 2, p.p. 106-107.
- **Banthorpe D.V. et Charwood B.V., 1972.** Chemistry of terpinene and terpenoides. Ed. A.A. new man academic press, London and New York. 374 P.
- **Barrero A.F., Herrador M.M., Arteaga P., Quílez del Moral J.F., Sánchez-fernández E., Akssira M., Aitigri M., Mellouki F., et Akkad S., 2006.** Chemical composition of the Essential Oil from the leaves of *Juniperus phoenicea* L. from North Africa. Journal of Essential Oil Research, Vol. 18, n. 2, p.p. 168-169.
- **Bärtels A., 1998.** Guide des plantes du bassin méditerranéen. Ed. Eugen Ulmer, Paris. 400 P.
- **Basile A., Jimenez-Carmona M. et Clifford A.A., 1998.** Extraction of rosemary by super heated water. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 46, n. 12, P. 5205-5209.
- **Belaiche, P., 1979.** "L'aromatogramme" : Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1. Ed. M.S.A., Paris. 204 P.
- **Beloued A., 2005.** Plantes médicinales d'Algérie. Ed. Office Des Publications Universitaires, Alger. 284 P.
- **Benhabiles N.E., 1995.** Comparaisons des huiles essentielles de deux espèces Algériennes de romarin : Extraction et étude analytique. Th. magister, ENP, Alger.
- **Bennis S., Chami F., Chami N., Bouchikhi T. et Remmal A., 2004.** Surface alteration of *Saccharomyces cereviceae* induced by thymol and eugenol. Letters in Applied Microbiology, Vol. 38, n. 6, p.p. 454-458.
- **Bernard T., Perinau F., Brav O., Delmas M. et Gaset A., 1988.** Extraction des huiles essentielles. Chimie et technologie. Information chimie.
- **Berthod A., Billardello B. et Geoffroy S., 1999.** Polyphenols in countercurrent Chromatography: An example of large scale separation1. Analisis. EDP Sciences, Wiley VCH, Vol. 27, p.p. 750-757.
- **Beta T., Nam S., Dexter J. E. et Sapirstein H.D., 2005.** Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. Journal of Cereal Science, Vol. 82, n. 4, p.p. 390-393.

- **Birt D.F., Hendrich S. et Wang W., 2001.** Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacology et therapeutics.*, Vol. 90, p.p. 157-177.
- **Blakeway J. et Salerno M., 1987.** Pour la science. Ed. Institut des renseignements scientifiques et techniques, Paris.
- **Bohlmann J., Steele C.L. et Croteau R., 1997.** Monoterpene synthases from grand fir (*Abies grandis*): DNA isolation, characterization, and functional expression of myrcene synthase, (-)-(4s)-limonene synthase, and (-)-(1s,5s)-pinene synthase. *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 272, p.p. 21784–21792.
- **Boudy P., 1952.** Guide du forestier en Afrique du Nord. Ed. La Maison Rustique, Paris. 478 P.
- **Bouhadid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N. S. et Abrini J., 2006.** *Thymus* essential oils : chemical composition and *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities In Congrès International de Biochimie, 09-12 Mai 2006, Agadir (Maroc). Biochimie, Substances Naturelles et Environnement
- **Bourgeois C. M., Mescle J. F. et Zucca J., 1996.** Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed. Tec. et Doc., Paris. 672 P. (Sciences et techniques agroalimentaires).
- **Bourkhiss⁽¹⁾ B., Ouhssine M., Hnach M., Bourkhiss M.B., Satrani B., Farah A., 2007.** Composition chimique et bioactivité de l'huile essentielle des rameaux de *Tetraclinis articulata*. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, Vol. 146, p.p. 75-84.
- **Bourkhiss⁽²⁾ M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., et Chaouch M., 2007.** Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. *Afrique science*, Vol. 3, n. 2, p.p. 232-242.
- **Bousbia N., 2004.** Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin) : Etude de leurs activités antimicrobiennes. Th. magister, INA, Alger, 130 P.
- **Borneley S. et Peyrat-Maillard M., 2000.** Antioxidant activity of malt rootlet extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.48, p.p. 2785–2792
- **Bowles B.L., Sackitey S.K. et Willams A.C., 1995.** Inhibitory effects on flavour compounds on *Staphylococcus aureus* WRRRC B 124., *Journal of Food Safety*, Vol. 15, p.p. 337-347.
- **Brouillard R., Figueiredo P., Elhabiri M. et Dangles O., 1997.** Molecular interactions of phenolic compounds in relation to the colour of fruits and vegetables. In:

Phytochemistry of fruit and vegetables Proceedings of the Phytochemical Society of Europe. Oxford. Clarendon Press, p.p. 30 - 49.

- **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 2^{ème} Ed., Paris. 623 P.
- **Bruneton J., 1995.** Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Ed. Lavoisier, Paris. 915 P.
- **Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 3^{ème} Ed., Paris. 585 P.
- **Bruni R., 2005.** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chemistry, n. 91, p.p. 621-632.
- **Burits M. et Bucar F., 2000.** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. Phytotherapy research, Vol. 14, p.p. 323-328
- **Burt S. A. et Reinders R. D., 2003.** Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. Letters in Applied Microbiology, Vol. 36, n. 3, p.p. 162-167.
- **Burton G.W., Traber M.G. et Acuff R.V., 1998.** Human plasma and tissue alpha-tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. American Journal of Clinical Nutrition, Vol. 67, p.p. 669-684.
- **Calliste C.A., Trouillas P., Allais D. P., Simon A., Duroux J.L., 2001.** Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 49, p.p.3321-3327.
- **Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A. et Akpulat H.A., 2003.** Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *Millefolium* Afan.(Asteraceae). Journal of Ethnopharmacology, Vol. 87, p.p. 215–220.
- **Cane D.E., 1990.** Enzymatic formation of sesquiterpenes. Chemical Reviews, Vol. 90, p.p. 1089 –1103.
- **Canillac N. et Mourey A., 1996.** Comportement de *Listeria* en présence d'huiles essentielles de sapin et de pin. Sciences des Aliments, Vol. 16, p.p. 403 – 411.

- **Chao S.C., Young D.G. et Oberg G.J., 2000.** Screening for inhibitory activity of Essential Oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 12, p.p. 639-649.
- **Chen X., Chen Y., Heinstejn P. et Davson V.J., 1995.** Cloning, Expression, and Characterization of (+)--Cadinene Synthase: A Catalyst for Cotton Phytoalexin Biosynthesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Vol. 324, p.p. 255–266.
- **Chevolleau S., 1990.** Etude de l'activité antioxydante des plantes: importance de l'alpha tocophérol. Th. Doctorat, Faculté des sciences et techniques de Saint Jérôme, Aix-Marseille, 186 P.
- **Cohen M., 2002.** Stress oxidant, glycation protéique, vieillissement et maladies liées à l'âge. *La phytothérapie européenne*, Vol. 6, p.p. 18 – 26.
- **Colby S.M., Crock J., Dowdle-Rizzo B., lemaux P.G. et Croteau R. 1998.** Germacrene C synthase from *Lycopersicon esculentum* cv. VFNT Cherry tomato: cDNA isolation, characterization, and bacterial expression of the multiple product sesquiterpene cyclase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 95, p.p. 2216–2221.
- **Connolly J.D. et Hill R.A., 1991.** Dictionary of terpenoids. Ed. Chapman & Hall, London, 2156 P.
- **Cosentino S., Tuberoso C. I. G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E. et Palmas F., 1999.** In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 29, n. 2, p.p. 130-135.
- **Cowan M. M., 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 12, n. 4, p.p. 564–582.
- **Cox S. D. et Mann C. M., 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 88, n. 1, p.p. 170-175.
- **Cozzani S., Muselli A., Desjobert J. M., Bernardini A. F., Tomi F. et Casanova J., 2005.** Chemical composition of essential oil of *Teucrium polium* ssp. *capitatum* (L.) from Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, Vol. 20, p.p. 436-441.
- **Crabas N., Marongiu B., Piras A., Pivetta T. et Porcedda S., 2003.** Extraction, séparation and isolation of fowl and dyes of *Officinalis calendula* L. And *Aloysias triphylla* Britton by CO₂ supercritical. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 15, n. 4, p. 272.
- **Crapiste G. H., Brededan M. I. V. et Caralli A., 1999 .** Oxidation of sunflower oil during storage. *Journal of American Oil Chemist's Society* , Vol. 76, p.p. 1437- 1443 .

- **Crock J., Wildung M.R. et Croteau R., 1997.** Isolation and bacterial expression of a sesquiterpene synthase cDNA clone from peppermint (*Mentha x piperita*, L.) that produces the aphid alarm pheromone (E)- β -farnesene. Proceedings of the National Academy of Sciences, Vol. 94, p.p. 12833–12838.
- **Croteau R., 1987.** Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. Chemical Reviews, Vol. 87, p.p. 929–954.
- **Croteau R., Alonso W.R., Koeppe A.E. et Johnson M. A., 1994.** Biosynthesis of monoterpenes: Partial purification, characterization, and mechanism, of action of 1,8-Cineole synthase. Archives of Biochemistry and Biophysics, Vol. 309, p.p. 184–192.
- **Croteau R., Kutchan T.M. et Norman G.L., 2000.** Natural products (secondary metabolites). American society of plant physiologists, Vol. 24, p.p. 1250 -1318.
- **Das N.P. et Preira T.A., 1990.** Effects of flavonoids on thermal autoxidation of palm oil : structure activity relationships. Journal of American Oil Chemist's Society, Vol. 67, p.p. 255-258.
- **Davidson P.M. et Parish M.E., 1989.** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. Food Technology, Vol. 43, p.p. 148-155.
- **Deans S.G. et Ritchie G., 1987.** Antimicrobial proprieties of plants essential oils. Journal of food microbiology, vol. 5, p.p. 162-180.
- **De Billerbeck G., 2000.** Activité fongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon nardus* sur l'*Aspergillus niger* : Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet inhibiteur des substances volatiles en phase vapeur. Faculté des sciences pharmaceutiques, Institut national polytechnique de Toulouse, 236 P.
- **De Feo V., Bruno M., Tahiri B., Napolitano F. et Senatore F., 2003.** Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils from *Thymus spinulosus* Ten. (Lamiaceae). Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 51, p.p. 3849-3853.
- **Delaigne R., 1930.** Les essences naturelles et parfums, Ed. Armond colin, Paris. 89 P.
- **Del Campo J., Amiot M.-J., Nguyen-The C., 2000.** Antimicrobial effect of rosemary extracts. Journal of Food Protection, Vol. 63, p.p. 1359–1368.
- **Demirci B., Kosar M., Demirci F., Dinc M. et Baser K.H.C., 2007.** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. et Kotschy. Food Chemistry, Vol. 105, p.p. 1512-1517.

- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna, D., Stocker P. et Vidal N., 2006.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, Vol. 97, p.p. 654–660.
- **Dob T., Dahmane D., Chelghoum C., 2008.** Chemical Composition of the Essential Oil of *Juniperus phoenicea* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 20, n. 1, p.p. 15-20.
- **Dorman D.H.G., Bachmayer O., Kosar M. et Hiltunen R., 2004.** Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 52, p.p. 762-770.
- **Dorman H. J. D. et Deans S. G., 2000.** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 88, n. 2, p.p. 308-316.
- **Ela M.A., El-Shaer N.S. et Ghanem N.B., 1996.** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*, Vol. 51, p.p. 993-995.
- **El-Sawi S.A., Motawae M.H. et Ali A.M., 2007.** Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, Vol. 4, n. 4, p.p. 417-426.
- **Eymard S., 2003.** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Th. Doctorat, Université de Nantes, France, 277 P.
- **Facchini P.J. et Chappell J., 1992.** Gene family for an elicitor-induced sesquiterpene cyclase in tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 89, p.p. 11088–11092.
- **Favier A., 2003.** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, p.p. 108-115.
- **Faleiro L., Miguel G., Gomes S., Costa L., Venancio F., Teixeira A., Figueiredo A.C., Barroso J. G. et Pedro L. G., 2005.** Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolate from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum Vulgare* L.. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 53, p.p. 8162-8168.
- **Fauchère J. L. et Avril J. L., 2002.** Bactériologie générale et médicale. Ed. Ellipses, Paris. 365 P.

- **Feng W. et Zheng X., 2007.** Essential oils to control *Alternaria alternaria* *in vitro* and *in vivo*. Food Control, Vol. 18, p.p. 1126-1130.
- **Fernandez-Lopez J., Zhi N., Aleson-Carbonell L., Perez-Alvarez J.A. et Kuri V., 2005.** Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. Meat Science, Vol. 69, p.p.371–380.
- **Franchomme P. et Pénéol D., 1990.** Matière médicale aromatique fondamentale. L'aromathérapie exactement, n. 4, p.p. 317-446
- **Frankel E.N., 1998.** Lipid oxidation: The Oily Press. Ed. Dundee, Scotland. 303 P.
- **Gambliel H. et Croteau R., 1984.** Pinene Cyclases I and II. Journal of Biological Chemistry, Vol. 259, n. 2, p.p.740–748.
- **Gang D.R., Wang J., Dudareva N., Hee Nam K., Simon J. E., Lewinsohn E. et Pichersky E., 2001.** An Investigation of the Storage and Biosynthesis of Phenylpropenes in Sweet Basil. Plant Physiology, Vol. 125, p.p. 539–555.
- **Garnero J., 1996.** Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur. P. 1-45.
- **German J.B. et Kinsella J.F., 1985.** Lipid oxidation in fish tissue: Enzymatic initiation via lipoxygenase. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 33, p.p. 680-683.
- **Ghedira, K., 2005.** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie., Vol. 4, p.p. 162-169
- **Gil M.I., Thomàs-Barberan F.A., Hess-Pierce B., Holcroft D.M. et Kader A.A., 2000.** Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol.48, p.p.4581-4589.
- **Girod-Quillain I. et Grundschober F., 1998.** Les arômes alimentaires: réalités et perspectives. Ind. Alim. Agr., p.p. 72-79.
- **Guenther E., 1972.** The essential oils. Ed. Robert Krieger publishing, New York. 128 P.
- **Guignard J.L., 1996.** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. 255 P.
- **Guiraud J.P., 2003.** Microbiologie Alimentaire. Ed. Dunod, Paris. 652 P.
- **Grassmann J. et Elstner E.F., 2003.** Properties and uses of essential oils. Technical University of Munich, P. 2177-2184.

- **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 and Fragrance Journal*, Vol. 14, p.p. 322-332.
- **Hadi M., 2004.** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro- oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Th. Doctorat, Université Louis Pasteur. 155 P.
- **Hale A. L., 2003.** Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis. Ed. Office of Graduate Studies of Texas A&M University. 260 P.
- **Hammer K. A. et Carson C. F., 2003.** Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 95, n. 4, p.p. 853-860.
- **Hammoum S. et Kerbouche L., 2007.** Activité antimicrobienne et composition chimique des huiles essentielles de germandrée et de thym. Mémoire d'Ingénieur, INA, Alger, 111 P.
- **Harborne J.B., 1989.** Methods in plant biochemistry, I: Plant phenolics. Academic Press.
- **Hayouni E.K., Abedrabba M., Bouix M. et Hamdi M., 2007.** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, Vol. 105, p.p. 1126–1134.
- **Hazzit M., 2008.** Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Th. Doctorat, USTHB, Alger, 204 P.
- **Hazzit M. et Baaliouamer A., 2009.** Variation of Essential Oil Yield and Composition of *Thymus pallescens* de Noé from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 21, p.p. 162-165.
- **Hazzit M., Baaliouamer A., Verissimo A.R., Faleiro M.L. et Miguel M.G., 2009.** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food chemistry*, Vol. 116, p.p. 714-721.

- **Heim E.K., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J., 2002.** Flavonoid antioxidants : chemistry , metabolism and structure-activity relationships. The Journal of Nutritional Biochemistry., Vol. 13, p.p. 572-584.
- **Hendrich A.B., 2006.** Flavonoid-membrane interactions : possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds. Acta pharmacologica Sinica., Vol. 27, p.p. 27-40.
- **Hermal C., 1993.** Activité bactériostatique de sept émulsions d'huiles essentielles et de deux associations d'émulsions d'huiles essentielles. Faculté de Pharmacie, Université de Montpellier, 87 P.
- **Hisham A., Pathare N., Al-Saidi S. et Al-Salmi A., 2006.** The composition and the antimicrobial activity of leaf essential oil of *Teucrium mascatenses* Boiss. from Oman. Journal of Essential Oil Research, Vol. 18, n. 4, p.p. 465-468.
- **Hsieh R.J. et Kinsella J.F., 1989.** Lipoxygenase generation of specific volatile flavour carbonyl compounds in fish tissues. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 37, p.p. 279-286.
- **Huang D.J., Lin C.D, Chen H.J. et Lin Y.H., 2004.** Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong 57') constituents Bot. Bull. Acad. Sin., Vol. 45, p.p. 179-186.
- **Hudaib M., Speroni E., Di Pietra A.M. et Cavrini V., 2002.** GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, Vol. 29, p.p. 691–700.
- **Hulin V., Mathot A. G., Mafart P. et Dufossé L., 1998.** Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. Sciences des aliments, Vol. 18, p.p. 563-582.
- **Hultin, H.O., 1992.** Lipid Oxidation in Fish Muscle. In: Advances in seafood biochemistry: Composition and quality. Flick, G.J. & Martin, R.E. (Eds.), Technomic Publishing Compagny Inc, Lancaster, p.p. 99-122.
- **Hultin, H.O., 1994.** Oxidation of lipids in seafoods. In: Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality . Shahidi, F. & Botta, J.R. (Eds), Blackie Academic & Professional, New York; p.p. 49-74.
- **Jalas J., 1971.** Note of thymus L. (Labiatae) in Europe.1. Supraspecific classification and nomenclature. Botanical Journal of the Linnean Society, Vol. 64, p.p. 199-215.

- **Jay J.M. et Rivers G.M., 1984.** Antimicrobial activity of some food flavouring compounds, *Journal Food Safety* , Vol. 6, p.p. 129-139.
- **Judde A., 2004.** Prevention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmetique. *Oleagineux Corps gras Lipides*, Vol. 11, p.p. 414-418.
- **Kabouche⁽¹⁾ A., Kabouche Z. et Bruneau C., 2005.** Analysis of the essential oil of *Thymus numidicus* (Poiret) from Algeria. *Flavour and Fragrance Journal*, Vol. 20, p.p. 235-236.
- **Kabouche⁽²⁾ Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki Z. et Benlabed K., 2005.** Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, Vol. 15, p.p. 129-133.
- **Kabouche A., Touafek O., Nacer A. et Kabouche Z., 2006.** Volatile oil constituents of *Teucrium atratum* Pomel from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 18, n. 2, p.p. 175-177.
- **Kanner, J., German, J.B. and Kinsella, J.E., 1987.** Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Food Science and Nutrition*, Vol. 25, p. 317.
- **Kazuhisa Y., 2001.** Oils and fats. *Reito*, Vol. 76, p.p. 405-409.
- **Kohen R. et Nyska A., 2002.** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, Vol. 30, p.p. 620-650.
- **Knowles J. R., Roller S., Murray D. B. et Naidu A. S., 2005.** Antimicrobial Action of Carvacrol at Different Stages of Dual-Species Biofilm Development by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica* Serovar *Typhimurium*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 71, p.p. 797-803.
- **Koskas J.P., Cillard J. et Cillard P., 1983.** Direct high performance liquid Chromatographic separation of hydroperoxyde isomers of linoleic acid. *Journal of Chromatography*, Vol. 258, p.p. 280-283.
- **Küçük M., Kolayli S., Karaoglu S., Ulusoy E., Baltaci C. et Candan F., 2007.** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, Vol.100, p.p. 526-534.
- **Kunle O. et Okogun J., 2003.** Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine*, Vol. 10, p.p. 59-61.
- **Lahlou M., 2004.** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, Vol. 18, p.p. 435-448

- **Lamaison J.L.C., et Carnet A., 1990.** Teneurs en principaux flavonoïdes des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la végétation. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, vol.65, p.p. 315-320.
- **Lambert R. J. W. et Skandamis P. N., 2001.** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 91, n. 3, p.p. 453-462.
- **Lapie S., et Maige A., 1914.** Flore forestière de l'Algérie. Ed. E.Orlhal, Paris. 71 P.
- **Lee S-J., Umamo K., Shibamoto T. et Lee K-G., 2005.** Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, Vol. 91, p.p.131–137.
- **Le Floc'k E., 1983.** Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Editions Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique.
- **Lehtinen P., Laakso S., 1998.** Effect of extraction conditions on the recovery and potency of antioxidants in O at fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 46, p.p. 4842–4845.
- **Lis-Balchin M. et Hart S. L., 2000.** Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils, originating in Australia and New Zealand. *Phytotherapy Research*, Vol. 14, p.p. 623-629.
- **Love, R.M., 1980.** The Chemical Biology of Fishes. Vol.2. Ed. Academic Press, London. 1977 P.
- **Ložienė K., Venskutonis P. R., Šipailienė A. et Labokas J., 2007.** Radical scavenging and antibacterial properties of the extracts from different *Thymus pulegioides* L. chemotypes. *Food Chemistry*, Vol. 103, p.p. 546-559.
- **Lugasi A., Hovari J., Sagi K. V. et Biro L. 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, Vol. 47, n. 1-4, p.p. 119-125.
- **Maccioni S., Baldini R., Tebano M., Cioni P. L. et Flamini G., 2007.** Essential oil of *Teucrium scorodonia* L. ssp. *scorodonia* from Italy. *Food Chemistry*, Vol. 44, p.p. 1393-1395.
- **Mailhebiau P., 1994.** La nouvelle aromathérapie : Biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne. 635 P.
- **Maire R., 1952.** Flore de l'Afrique du Nord. Vol I. Ed. Lechevalier, Paris. 366 P.

- **Marfak A., 2003.** Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de leur Réactivité avec les Radicaux Issus des Alcools : Formation de Depsides. Th. Doctorat, Université de Limoges. 187 P.
- **Marino M., Bersani C. et Comi G., 2001.** Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *Journal of Food Microbiology*, Vol. 67, p.p. 187-195.
- **Maydani M., 2000.** Effect of functional food ingredients: vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 71, p.p. 1665-1668.
- **Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C. et Fernandez X., 2010.** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 4, n.10, p.p. 959-964.
- **Meena M.R. et Sethi V., 1994.** Antimicrobial activity of the essential oils from spices. *Journal of Food Science and Technology, Mysore*, Vol. 31, p.p. 68-70.
- **Mességué M., 1975.** Mon herbier de santé. Ed. Robert Laffont, Paris. 333 P.
- **Mimica-Dukic N., Couladis M., Tzakou O., Jancic R. et Slavk V., 2004.** Essential Oil of *Calamintha sylvatica* Bromf. and *Calamintha vardarensis* Silic. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 16, n. 3, p.p. 219-222.
- **Misirli A., Küden A., Demir G. et Gülcan R., 2001.** Determination of phenolic compounds in some almond hybrids varying in resistance to *Pseudomonas amygdali*. In: 11ème Colloque du GREMPA sur le pistachier et l'amandier. Zaragoza. CIHEAM-IAMZ, p.p. 71-86.
- **Miyazawa T., Fujimoto K., Kinoshita M. et Usuki R., 1994.** Rapid estimation of peroxide content of soybean oil by measuring thermoluminescence. *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 71, p.p. 343-345.
- **Moleyar, V. et Narasimham, P., 1992.** Antibacterial activity of essential oils components. *Journal of Food Microbiology*, Vol. 16, p.p. 337-342.
- **Moll M. et Moll N. 1998.** Les additifs alimentaires et auxiliaires technologiques, Ed. Dunod, Paris. (Technique et Ingénierie, série Agro-alimentaire).
- **Morales R., 2002.** The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In *Thyme: the genus Thymus. Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles*. Stahl-Biskup E. et Saez F., Ed. Taylor & Francis, Vol. 17. London.

- **Morris J.A., Khettry A., et Seitz E.W., 1979.** Antimicrobial activity of aroma chemical and essential oils. *Journal of American Oil Chemist's Society*, Vol. 56, p.p. 595 – 603.
- **Morteza-semnani K. et Rostami B., 2006.** Essential oil composition of *Thymus kotschyanus* and *Thymus pubescens* from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 18, p.p. 272-274.
- **Naves Y.R., 1976.** *Technologie des Parfums naturels*. Ed. Masson, Paris. 105 P.
- **Negi, P. S., et Jayaprakasha, G. K., 2003.** Antioxidant and antibacterial activities of *Punica granatum* peel extracts. *Journal of Food Science*, Vol. 68, p.p. 1473-1477.
- **Nickavar B., Mojab F. et Dolat-Abadi R., 2005.** Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. *Food Chemistry*, n. 90, p.p. 609-611.
- **Odoul M., 2003.** Les huiles essentielles. *La lettre de l'Institut Français de Shiatsu*, n. 2, p.p. 1-12.
- **Oke F., Aslim B., Ozturk S. et Altundag S., 2009.** Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, Vol. 112, p.p. 874–879.
- **Omidbeygi M., Barzegar M., Hamidi Z. et Naghdibadi H., 2007.** Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, Vol. 18, p.p. 1518-1523.
- **Oussalah M., Caillet S., Saucier L. et Lacroix M., 2006.** Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Science*, Vol. 73, p.p. 236-244.
- **Oussalah M., Caillet S., Saucier L. et Lacroix M., 2007.** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, Vol. 18, p.p. 414-420.
- **Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M., 2008.** Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Science*, Vol 73, p.p. 236–244.
- **Özkan M. et Erkmen O., 2001.** Antimicrobial activity of essential oils of Turkish plant spices. *European Food Research Technology*, Vol. 212, p.p. 658–660.

- **Özkan G., Sağdıç O., Baydar N. G. et Baydar H., 2003.** Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 9, n. 2, p.p. 85-88.
- **Oyaizu M., 1986.** Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japan Journal of Nutrition*, Vol. 44, p.p. 307-315.
- **Paradiso A., Cecchini C., De Gara L. et D'Egidio M.G., 2006.** Functional, antioxidant and rheological properties of meal from immature durum wheat. *Journal of Cereal Science*, Vol. 43, n. 2, p.p. 216-222.
- **Paster N., Juven B., Shaaya E., Mena-Sherov M., Nitzan R. et Weisslowics D.U., 1990.** Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and food-borne bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 11, p.p. 33 – 37
- **Pereira S.I., Santos P.A.G., Barroso J.G., Figueiredo A.C., Pedro L.G., Salgueiro L.R., Deans S.G. et Schecer J.J.C., 2000.** Chemical polymorphism of the essential oils from populations of *Thymus caespititius* grown on the island S. Jorge (Azores). *Phytochemistry*, Vol. 55, p.p. 241-246.
- **Pérez-Fons L., Aranda F. J., Guillén J., Villalaín J. et Micol V., 2006.** Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) diterpenes affect lipid polymorphism and fluidity in phospholipid membranes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Vol. 453, N°. 2, p.p. 224–236.
- **Pibiri M. C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilations au moyen d'huiles essentielles. Th. Doctorat, école polytechnique fédérale, Lausanne, 161 P.
- **Pietta P.G., 2000.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, vol.63, p.p. 1035–1042.
- **Pokorny J., 1991.** Natural antioxidants for food use. *Trends in food science and technology*, Vol. 9, p.p. 223-227
- **Pstová J., Lasovsky J. et Vicar J., 2003.** Metal-Chelating Properties, Electrochemical Behavior, Scavenging And Cytoprotective Activities Of Six Natural Phenolics. *Biomedical Papers*, Vol. 147, n. 2, p.p. 147–153.
- **Quezel P. et Santa S., 1963.** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS, Paris.

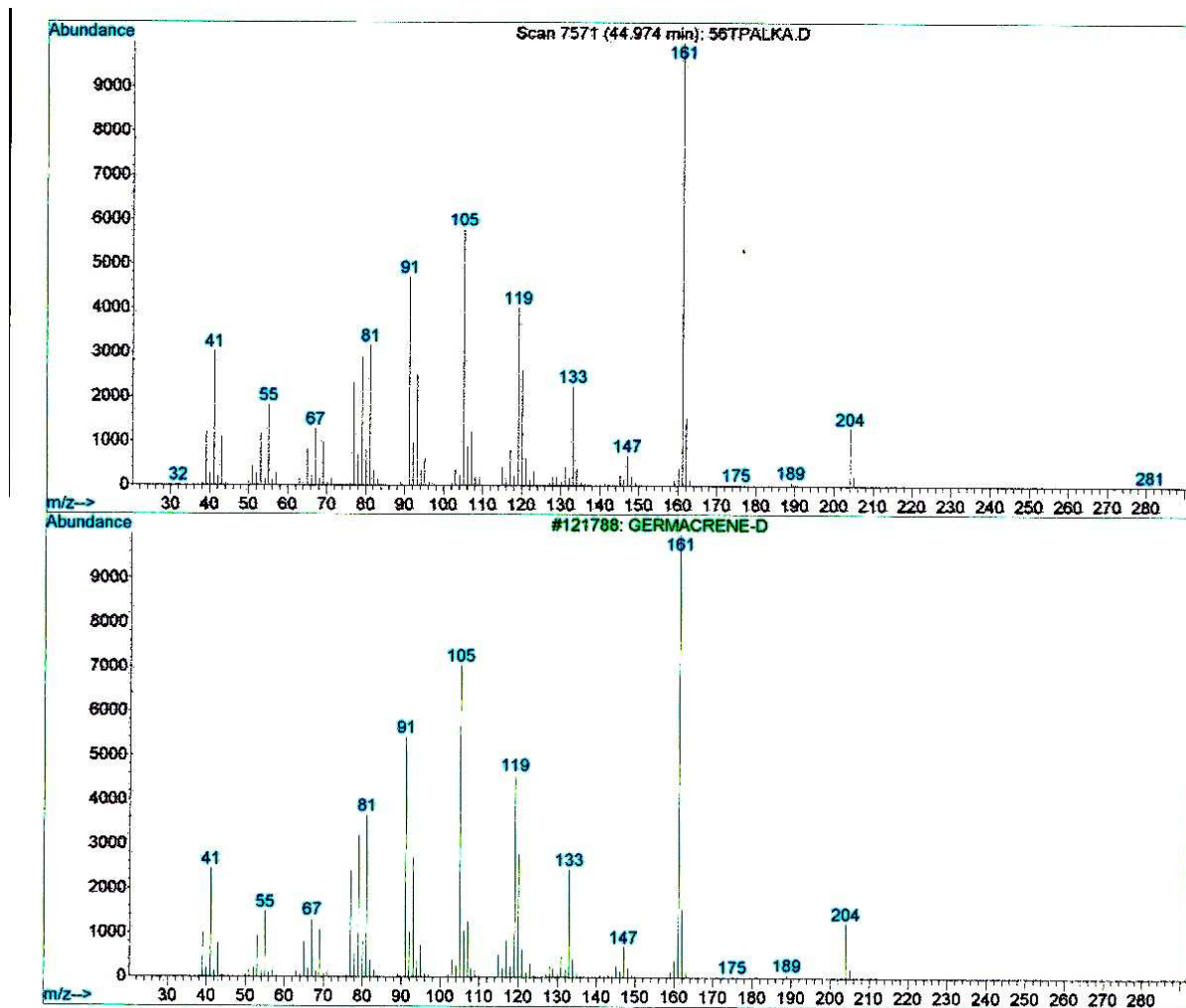
- **Rajaonarivony J.I.M., Gershenzon J. et Croteau R., 1992.** Characterization and mechanism of (4S)-Limonene synthase, A monoterpene cyclase from the glandular trichomes of Peppermint (*Mentha X Piperita*). Archives of Biochemistry and Biophysics, Vol. 296, p.p. 49–57.
- **Rees S. B. et Harborne J. B., 1985.** The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. Phytochemistry, Vol. 24, p.p. 2225 – 2231.
- **Richard H., 1992.** Epices et aromates. Ed. Lavoisier, Paris. 339 P. (Technique & Documentation).
- **Richard H. et Multon J.L., 1992.** Les arômes alimentaires. Ed. Lavoisier, Paris. 438 P. (Sciences et techniques agroalimentaires).
- **Roeding-Penman A. et Gordon M. H., 1998.** Antioxidant properties of Myricetin and Quercetin in oil and emulsions. Journal of American Oil Chemist's Society, Vol. 75, p.p. 169- 180.
- **Rossi P.G., Berti L., Panighi J., Luciani A., Maury J., Muselli A., De Rocca Serra D., Gonny M. et Bolla J.M., 2007.** Antibacterial Action of Essential Oils from Corsica. Journal of Essential Oil Research, Vol. 19, n. 2, p.p. 176-182.
- **Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. et Bruni R., 2005.** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chemistry, n. 91, p.p. 621-632.
- **Sachdev S. et Davies K.J.A., 2008.** Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. Free Radical Biology and Medicine, Vol. 44, p.p. 215-223
- **Sahin F., Güllüce M., Daferera D., Sökmen A., Sökmen M., Polissiou M., Agar G. et Özer H., 2004.** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. Food Control., Vol. 15, p.p. 549-557.
- **Saidia B. et Hammond E., 1989.** Quantification of Carbonyls produced by the decomposition of hydroperoxydes. Journal of American Oil Chemist's Society, Vol. 66, p.p. 1097-1102.
- **Sanchez-Moreno C. 2002.** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Science and Technology, Vol.8, n. 3, p.p. 121-137
- **Schelz Z., Molnar J. et Hohmann J., 2006.** Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. Fitoterapia, Vol. 77, p.p. 279–285.

- **Schwarz K. et Ternes W., 1992.** Antioxidative constituents of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*. Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung, Vol. 195, p.p. 99-103.
- **Sharma S., Sangwan N. S. et Sangwan R. S., 2003.** Developmental process of essentialoil glandular trichome collapsing in menthol mint. Current Science. Vol. 84, n. 4-25, p.p. 544-550.
- **Siddhuraju P., 2007.** Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated Tamarindus indica seed coat. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologic, Vol. 40, p.p. 982–990.
- **Singh G., Marimuthu P., De Heluani C.S. et Catalan Cesar A. N., 2006.** Antioxidant and Biocidal Activities of *Carum nigrum* (Seed) Essential Oil, Oleoresin, and Their Selected Components. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 54, p.p.174-181.
- **Singleton V.L., Ortofer R. et Lamuela-Raventos R.M., 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, Vol. 299 p.p. 152 – 178.
- **Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Hras A.R., Simonic M., and Knez Z., 2005.** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Food Chemistry, Vol. 89, p.p. 191–198.
- **Smith-Palmer A., Stewart J. et Fyfe L., 1998.** Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Journal of Food Microbiology, Vol. 26, p.p. 118-122.
- **Spichiger R. E., Savolainen V. V., Figeat M. et Jeanmonod D., 2004.** Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Ed. Presses polytechniques et universitaires romande, Lausanne. 413 P. (Biologie).
- **Steele C.L., Crock J., Bohlmann J. et Croteau R., 1998.** Synthases from grand fir (*Abies grandis*): Comparison of constitutive and wound-induced activities, and cDNA isolation, characterization, and bacterial expression of Delta-Selinene synthase and Gamma-Humulene synthase. Journal of Biological Chemistry, Vol. 273, p.p. 2078–2089.
- **Suhaj, M., 2006.** Spice antioxidants isolation and their antiradical activity. Journal of Food Composition and Analysis, Vol. 19, p.p. 531–537.

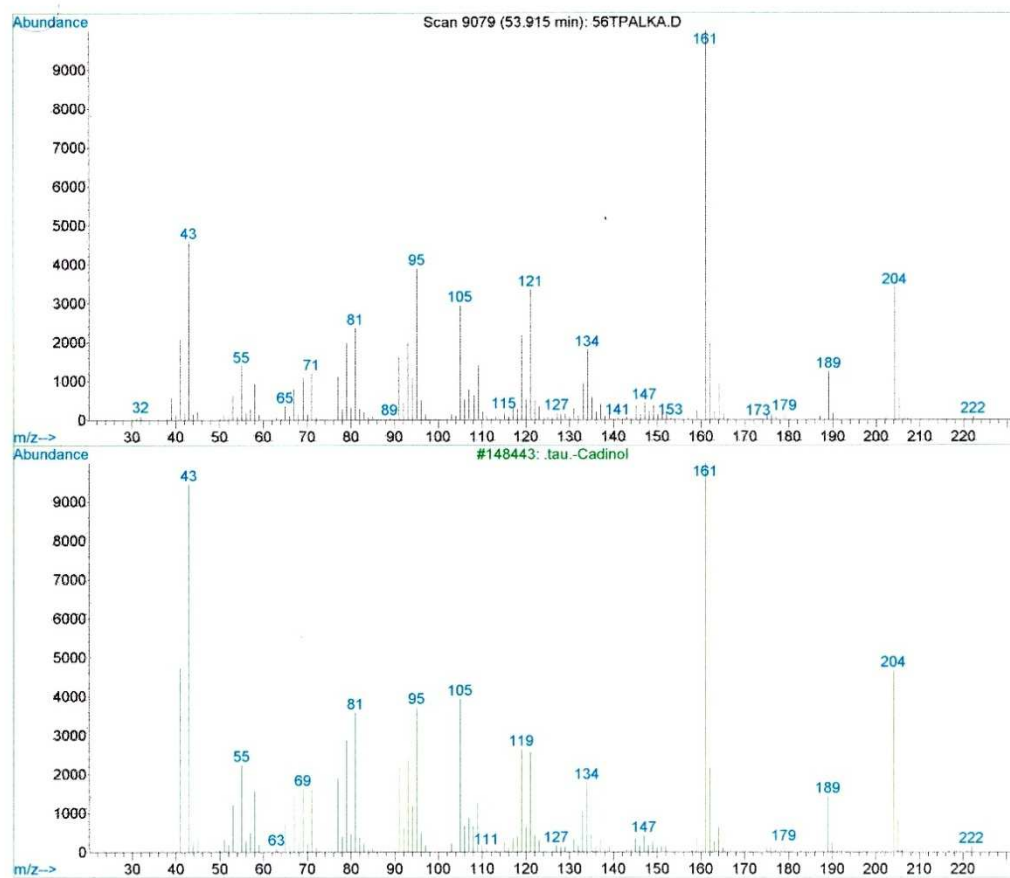
- **Sun J., Khtan B., Huang S-H., Whiteman M. et Zhu Y-Z., 2002.** Effects of natural products on ischemic heart diseases and cardiovascular system. *Acta Pharmacol*, Vol. 23, n. 12, p.p. 1142 -1151.
- **Tékaya-karoui A., Ben Jannet H., Mighri Z., 2007.** Essential Oil composition of Terminal Branches, Cones and Roots of *Tetraclinis articulata* from Tunisia. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, Vol. 10, n. 15, p.p. 2495-2499.
- **Tepe B., Sokmen M., Akpulat A. et Sokmen A., 2006.** Screening of the antioxidant potential of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chemistry*, Vol. 95, p.p. 200-204.
- **Teuscher E., Anton, R., Lobstein A. 2005.** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier, Ed. Tec & Doc, Paris.
- **Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L. et Bryne D. H., 2006.** Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, vol.19, p.p. 669–675.
- **Touayli J., 2002.** Valorisation des sous-produits du thuya de Bérbérie (*Tetraclinis articulata* Vahl) du Maroc. Mémoire 3^{ème} Cycle, Institut Agronomique et Vétérinaire. Hassan II, Rabat, Maroc. 90 P.
- **Torres de Pinedo A., Penalver P., Morales J.C., 2007.** Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: Structure–activity relationship. *Food Chemistry*, Vol. 103, p.p. 55–61.
- **Turner G., Gershenzon J., Nielson E.E., Froehlich J.E. et Croteau R., 1999.** Limonene Synthase, the Enzyme Responsible for Monoterpene Biosynthesis in Peppermint, Is Localized to Leucoplasts of Oil Gland Secretory Cells. *Plant Physiology*, Vol. 120, p.p. 879 – 886.
- **Tzakou O., Verykokidou E., Roussis V. et Chinou I., 1998.** Chemical composition and antibacterial properties of *Thymus longicaulis* subsp. *chaoubardii* oils: three chemotypes in the same population . *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 10, p.p. 97-99.
- **Ultee A., Kets E. P. W. et Smid E.J., 1999.** Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 65, p.p. 4606-4610.
- **Ultee A., Bennik M.H.J. et Moezelaar R., 2002.** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. *Journal of Applied Environmental Microbiology*, Vol. 68, p.p.1561–1568.

- **Valero M. et Salmeron M.C., 2003.** Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. International Journal of Food Microbiology, Vol. 85, p.p. 73-81.
- **Valnet J., 1980.** Aromathérapie : Traitement des maladies par les essences des plantes. Ed. Maloine, Paris. 542 P.
- **Vansant G., 2004.** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium «Antioxydants et alimentation ». Institut Danone, Bruxelles.
- **Vardar-Unlu G., Candan F., Sokmen A., Daferera D., Polissiou M., Sokmen M., Donmez E. et Tepe B., 2003.** Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey.Var. *pectinatus* (Lamiaceae). Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 51, p.p. 63–67.
- **Vermin G., 1982.** Arômes alimentaires : Développements récents. Ed. Apria, Paris. 308 P.
- **Wagner G.J., Wang E. et Shepherd R.W., 2004.** New Approaches for Studying and Exploiting an Old Protuberance, the Plant Trichome. Annals of Botany, Vol. 93, n. 1, p.p. 3 – 11
- **Walsh S. E. et Maillard J. Y., 2003.** Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. Journal of Applied Microbiology, Vol. 94, n. 2, p.p. 240-247.
- **Wang J. et Mazza G., 2002.** Effects of Anthocyanins and Other Phenolic Compounds on the Production of Tumor Necrosis Factor α in LPS/IFN- γ -Activated RAW Macrophages. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 50, p.p. 4183-4189.
- **Wojdy o A., Oszmian´ski J., Czemerys R., 2007.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chemistry, Vol. 105, p.p. 940–949.
- **Yang J.K., Choi M.S., Seo W.T., Rinker D.L., Han S.W., et Cheong G.W., 2007.** Chemical composition and antimicrobial activity of *Chamaecyparis obtusa* leaf essential oil. Fitoterapia, Vol. 78, p.p. 149-152
- **Ziyyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M., Benjelloun W., 1997.** Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. Journal of Ethnopharmacology, Vol., 58, n. 1, p.p. 45-54.

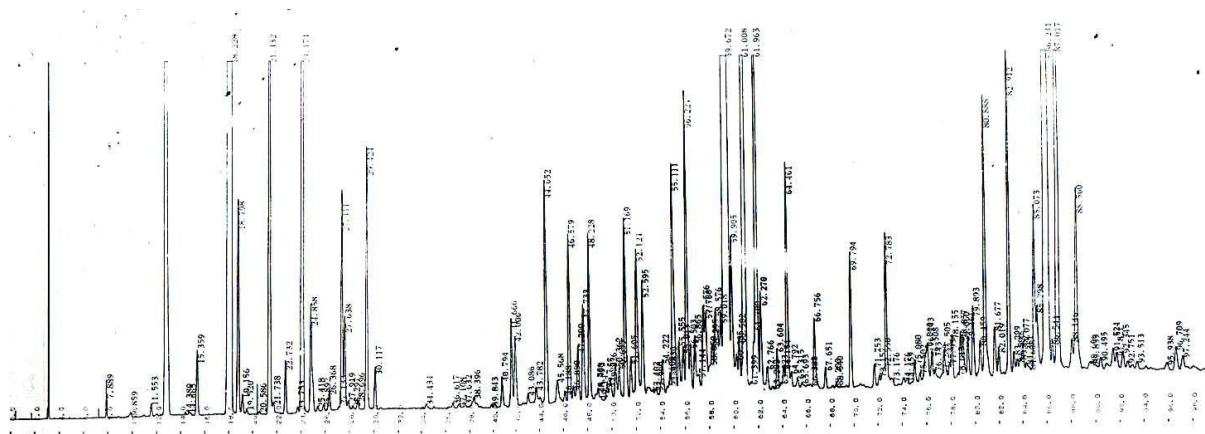
Annexes



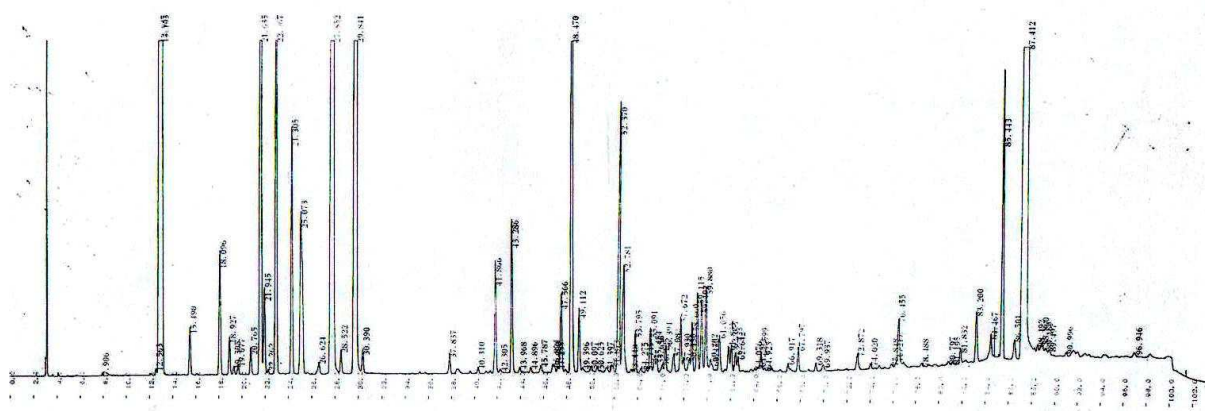
Annexe 01 : Spectre de masse du Germacrene D



Annexe 02 : Spectre de masse du t-Cadinol



Annexe 03: Chromatogramme de l'HE de *Teucrium polium ssp capitatum* obtenu par CPG



Annexe 04 : Chromatogramme de l'HE de *Thymus pallescens* obtenu par CPG

Résumé

Dans le but d'étudier la possibilité de substituer les conservateurs chimiques par des produits naturels, nous nous sommes intéressés à la composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles de trois espèces de la famille des lamiacées : *Teucrium polium ssp capitatum*, *Thymus pallescens* et *Satureja calamintha ssp nepeta*, et deux espèces de la famille des cupressacées : *Juniperus phoenicea* et *Tetraclinis articulata*, ainsi que les extraits issus des feuilles de ces dernières. L'analyse qualitative et semi-quantitative des huiles essentielles extraites par hydrodistillation a été réalisée par CPG et CG-SM et nous a permis d'identifier et de quantifier les constituants de ces huiles. En ce qui concerne les extraits obtenus par soxhlet, le dosage des composés phénoliques a montré que les deux extraits sont riches en polyphénols.

L'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits étudiés par les deux tests : l'inhibition du radical DPPH et le pouvoir réducteur a montré que les différentes huiles possèdent une activité antioxydante qui est en relation avec leurs compositions chimiques et que les extraits de genévrier et de thuya de Berbérie ont un pouvoir antioxydant meilleur que celui des huiles essentielles de mêmes espèces.

Les résultats relatifs à l'étude de l'activité antimicrobienne ont montré une action et un degré de sensibilité variables. L'ensemble des micro-organismes ont subi une action biostatique à des concentrations différentes.

Mots clés : huiles essentielles, extraits, *Teucrium polium ssp capitatum*, *Thymus pallescens*, *Satureja calamintha ssp nepeta*, *Juniperus phoenicea*, *Tetraclinis articulata*, CPG/CG-SM, polyphénols, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

ملخص

لهدف البحث عن إمكانية استبدال المواد المحافظة الكيميائية بمواد طبيعية، قمنا بدراسة التركيب الكيميائي والنشاط البيولوجي للزيوت الأساسية لثلاثة نباتات من عائلة Lamiaceae: *Teucrium polium ssp capitatum*, *Thymus pallescens* و *Satureja calamintha ssp nepeta* و نباتين من عائلة Cupressaceae: *Juniperus phoenicea* و *Tetraclinis articulata* إضافة إلى مستخلصات أوراق هاتين الأخيرتين. الدراسة النوعية و الشبه الكمية للزيوت الأساسية المستخلصة بالتقطير المائي تمت بواسطة CG-SM و CPG و مكنتنا من معرفة نوعية و كمية مكونات هذه الزيوت. أما فيما يتعلق بالمستخلصات المتحصل عليها بواسطة soxhlet أظهرت معايرة المركبات الفينولية أن كليهما غنيتان بالبوليفينول.

إن تقييم نشاط مضاد الأكسدة للزيوت الأساسية و المستخلصات المدروسة أظهر أن مختلف الزيوت تملك نشاط مضاد الأكسدة يتعلق بتركيبها الكيميائية وأن هذا النشاط أكثر فعالية في المستخلصات *T. articulata* و *J. phoenicea* منه في الزيوت من نفس النوعية. النتائج المتحصل عليها الخاصة بدراسة الفعالية ضد الأحياء الدقيقة، بينت وجود فعالية و درجة حساسية متغيرة. كل الأحياء الدقيقة تأثرت لكن بتركيزات مختلفة.

الكلمات الأساسية: الزيوت الأساسية، المستخلصات، *Satureja calamintha ssp nepeta*, *Teucrium polium ssp capitatum*, *Thymus pallescens*, *Juniperus phoenicea*, *Tetraclinis articulata* CPG/CG-SM، نشاط مضاد الأكسدة، الفعالية ضد الأحياء الدقيقة.

Abstract

In order to study the possibility of substituting chemical preservatives by natural products, we have study the chemical composition and biological activity of the essential oils of three species of the Lamiaceae family: *Teucrium polium ssp capitatum*, *Thymus pallescens* and *Satureja calamintha ssp nepeta*, and two species of the Cupressaceae family: *Juniperus phoenicea* and *Tetraclinis articulata* as well as the extract of their leaves. The qualitative and semi quantitative analysis of the essential oils extracted by hydrodistillation was performed by CPG and CG-SM and allowed us to identify and quantify the components of these oils. The determination of phenolic compounds of the extracts obtained by soxhlet showed that both are rich in polyphenols.

The evaluation of antioxidant activity of the essential oils and the extracts by two tests: inhibition of DPPH radical and reducing power showed that the different oils have an antioxidant activity which is in relation with its chemical composition and that the extracts of juniper and thuya of Berberly have a better antioxidant activity than the essential oils of the same spices.

The results related to the study of antimicrobial activity showed an action and a variable degree of sensitivity. All micro-organism have undergone a biostatic action at differents concentrations.

Key words: essential oils, extracts, *Teucrium polium ssp capitatum*, *Thymus pallescens*, *Satureja calamintha ssp nepeta*, *Juniperus phoenicea*, *Tetraclinis articulata* CPG/CG-SM, polyphenols, antioxidant activity, antimicrobial activity.